

# 蛹虫草多糖对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制研究

朱振元, 刘晓翠, 郭蓉, 赵亮, 方晓娜, 王振乾, 张静

(食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

**摘要:** 本文以蛹虫草子实体为原料, 通过建立  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂体外验证模型, 以麦芽糖作为反应底物, 阿卡波糖作为阳性对照, 利用体外酶促反应方法, 对通过水提、脱色、醇沉、除蛋白及色谱柱纯化得到的不同纯度的蛹虫草多糖的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性进行了验证。结果表明, 通过逐步的酶促反应实验, 确定蛹虫草中对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性具有较显著抑制作用的功能成分为多糖, 并且随着多糖纯度的不断提高其抑制率随之提高。通过对经色谱层析柱纯化后蛹虫草多糖进一步的酶促反应实验研究, 表明蛹虫草多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率随多糖浓度的提高而提高, 说明蛹虫草多糖的抑制效应存在一定的剂量依赖性, 纯化后的多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 4.22 mg/mL, 呈现出良好的降血糖功能, 为今后将蛹虫草开发为降血糖药物及保健品提供了一定的理论依据。

**关键词:** 蛹虫草; 多糖;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶; 抑制

文章编号: 1673-9078(2014)12-55-60

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.12.010

## Inhibitory of $\alpha$ -Glucosidase by Polysaccharides from *Cordyceps militaris*

ZHU Zhen-yuan, LIU Xiao-cui, GUO Rong, ZHAO Liang, FANG Xiao-na, WANG Zhen-qian, ZHANG Jing

(Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, College of Food Science and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** In this study, the fruiting body of *Cordyceps militaris* was used to validate its  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity *in vitro*. Using maltose as the reaction substrate and acarbose as a positive control, *in vitro* enzymatic reactions were carried out to validate the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of polysaccharides (with different purities) from *Cordyceps militaris*, which were purified by water extraction, decolorization, alcohol precipitation, deproteinization, and column chromatography. The results of stepwise enzymatic reaction showed that the functional component with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in *Cordyceps militaris* was polysaccharide, and the inhibitory rate gradually increased with increasing purity of the polysaccharide. The results of further enzymatic reactions using *Cordyceps militaris* polysaccharide purified by column chromatography showed that the rate of  $\alpha$ -glucosidase inhibition increased with increasing concentration of polysaccharide, which was demonstrated that the inhibitory activity of *Cordyceps militaris* polysaccharide was dose-dependent within a certain concentration range. The half-maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) value of purified polysaccharide was 4.22 mg/mL, showing a good hypoglycemic function. This study provides a theoretical basis for the future development of hypoglycemic drugs and health products using *Cordyceps*.

**Key words:** *Cordyceps militaris*; polysaccharides;  $\alpha$ -glucosidase; inhibition

目前, 糖尿病已经成为严重威胁人类健康的三大慢性疾病杀手之一, 患者只能以注射胰岛素和长期服用降血糖药物来维持正常的血糖水平。糖尿病治疗过程中需要控制饮食与药物治疗相结合, 目前公认的糖尿病临床用药主要有以二甲双胍为代表的双胍类药物、促胰岛素分泌剂、以及  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂等<sup>[1]</sup>。

$\alpha$ -葡萄糖苷酶是位于人体小肠粘膜细胞上, 能够

参与人体糖代谢, 是一种能够促使碳水化合物分解为易于人体吸收的单糖的酶类。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的作用机理是通过竞争性抑制小肠粘膜刷状缘上的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶, 起到缓解碳水化合物迅速分解为葡萄糖的作用, 从而达到调节糖尿病患者餐后血糖的作用<sup>[2]</sup>,  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂作为第 4 类公认的治疗糖尿病的药物, 是目前应用较广泛的一种口服降糖药物, 但由于此类药物一般均采用化学手段合成或微生物代谢产物中获得, 虽有良好的药效, 但长期服用会带来一定的副作用。因此开发天然来源的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂将成为今后糖尿病治疗的新思路。

蛹虫草又名北冬虫夏草, 属于子囊菌亚门麦角菌科虫草属。研究报道证实蛹虫草具有抗菌消炎、提高

收稿日期: 2014-06-04

基金项目: 国家农业科技成果转化资金项目 (2011GB2A100009); 天津市高等学校科技发展基金计划项目 (20090604), 天津科技大学科学研究基金资助项目 (20120106)

作者简介: 朱振元, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 生物资源与功能食品

机体免疫力、抗肿瘤、降血脂、降血糖等多种功效<sup>[1]</sup>, 对其各种功效也都有相应的研究报道, 但关于其降血糖功能方面的研究报道并不多。目前关于蛹虫草降血糖方面的研究主要有徐蕾蕾、王静凤等证实蛹虫草多糖能提高糖尿病大鼠机体及胰腺组织的抗氧化能力, 修复受损的胰岛 $\beta$ 细胞, 从而起到降低血糖的作用<sup>[2]</sup>; 孙纳新自蛹虫草中筛选出具有降血糖活性的胞外多糖, 该多糖的成功筛选可能为 I 型糖尿病的治疗或辅助治疗提供了新的选择药物<sup>[3]</sup>, 他们的研究主要集中于动物体内实验上, 关于蛹虫草多糖能否通过抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性这一途径来调节血糖的研究尚未见报道。

本文从 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的角度, 通过建立 $\alpha$ -葡萄糖苷酶体外验证实验, 分析探究其对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用并最终确定其中起到降血糖作用的活性成分, 以期为今后蛹虫草降血糖功效的研究提供相应的理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验原料

蛹虫草子实体, 购于天津东方中滨农业科技有限公司;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶(酵母源), 购于美国 Sigma 公司; 阿卡波糖, 购于美国 Sigma 公司, Sephadex G-100, 美国 Sigma 公司; DEAE-Sephadex A-25, 美国 Sigma 公司; 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器设备

DF-III集热式磁力加热搅拌水浴锅, 天津欧诺仪器有限公司; Multiskan Spectrum 酶标仪, 美国 Thermo 公司; LHS-150SC 恒温恒湿箱, 上海一恒科技有限公司; RE-52AA 旋转蒸发仪, ESJ205-4 电子天平等。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 蛹虫草多糖的提取制备

采用水浸提法提取虫草多糖。提取条件为: 料液比 1:20, 温度 80 °C, 时间 2 h。收集提取液, 并将残渣再提取 2 次。3 次提取液合并, 浓缩后冷冻干燥<sup>[6]</sup>。将干燥后的样品配置成浓度为 20 mg/mL 的溶液, 然后依次进行大孔吸附树脂 AB-8 脱色处理, 80%乙醇沉淀, Sevage 法除蛋白, 过 Sephadex G-100 色谱柱进行纯化, 最后得到精制蛹虫草多糖。采用苯酚-硫酸法测定多糖含量。

#### 1.3.2 苯酚硫酸法测定多糖含量

##### 1.3.2.1 葡萄糖标准曲线绘制

精确称取 105 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖 100 mg, 加入少量水在小烧杯中溶解, 转移至 100 mL 容量瓶中, 用蒸馏水定容, 震荡摇匀后从中吸取 10 mL, 定容至 100 mL 摇匀备用。分别精密吸取上述标准葡萄糖溶液 0、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mL 于试管中, 用蒸馏水补足至 2 mL, 加入 6% 的苯酚溶液 1 mL, 浓硫酸 5 mL, 震荡摇匀, 沸水浴中加热 15 min, 490 nm 处测定吸光度, 以葡萄糖含量 C 为横坐标, OD 值 A 为纵坐标, 绘制标准曲线。

##### 1.3.2.2 样品多糖含量的测定

精密吸取处理过的样品溶液 1.0 mL 于试管中, 根据葡萄糖标准曲线的绘制方法测定样品吸光度。

根据以下公式进行计算:

$$\text{多糖含量}/\% = \frac{C \times D}{M} \times 100\%$$

式中: C-样品溶液中葡萄糖含量, mg; D-样品溶液稀释倍数; M-样品的质量, mg。

##### 1.3.3 多糖的 Sephadex G-100 纯化

所得粗多糖复溶后, 用 Sephadex G-100 层析柱进行纯化, 用蒸馏水洗脱, 流速 1 mL/min, 每 120 s 收集一管, 然后从每管中取 50  $\mu$ L 糖溶液, 加水补至 1 mL, 用苯酚硫酸法在 490 nm 处测定吸光度值, 以试管号为横坐标, 吸光度 OD 值为纵坐标, 绘制洗脱曲线, 收集所需部分, 冷冻干燥, 得蛹虫草纯多糖<sup>[7]</sup>。

##### 1.3.4 高效凝胶渗透色谱法检测样品多糖纯度

准确称取纯多糖 1 mg 溶于 1.0 mL 三蒸水中, 取 20  $\mu$ L 注入高效液相色谱仪进行分析, 分析仪器和条件如下:

色谱仪: Agilent 1200 型高效液相色谱仪; 色谱柱: TSK-GEL G4000PWxl; 检测器: 示差检测器(RID); 流动相: 三蒸水; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 30 °C; RID 温度: 35 °C; 进样量 20  $\mu$ L。

##### 1.3.5 样品单糖组成成分分析

###### 1.3.5.1 多糖的降解

取 5 mg 多糖样品放入具塞试管中, 加入 2 mol/L 的三氟乙酸(TFA) 1 mL, 在 110 °C 油浴下水解 3 h, 冷却后用 N<sub>2</sub> 吹干残余的三氟乙酸, 加少量甲醇, 用 N<sub>2</sub> 吹干, 反复 3 次以除尽三氟乙酸(TFA)

###### 1.3.5.2 薄层层析

展开剂为: 正丁醇:乙酸乙酯:异丙醇:醋酸:水:吡啶 = 35:100:60:35:30:30 (V/V)。

显色剂: 二苯胺 5 g, 苯胺 10 mL, 50 ml 85% 磷酸混合溶解, 加丙酮至 500 mL。

标品: 阿拉伯糖、葡萄糖、木糖、半乳糖、鼠李

糖、甘露糖

取标品和降解样品各少许,分别加入 0.5 mL 蒸馏水,点于硅胶薄层板展开;取出吹干,浸入显色剂,在 100 °C 烘至斑点显色清晰。

### 1.3.5.3 气相色谱法分析单糖组成

内标物的制备:称取肌醇 3 g,盐酸羟胺 4.5 g、醋酸酐 45 mL 和吡啶 3 mL,在 90 °C 水浴中加热 2 h,不断搅拌。待反应液冷却至室温后,倒入冰水中,使肌醇六乙酸酯析出。过滤,将析出的沉淀用水 20 mL 分多次洗涤过滤物,将其置于烘箱中 100 °C 烘干备用。

糖腈乙酸酯衍生物的制备:精密称取全水解样品和单糖标品各 2 mg 于具塞试管中,加盐酸羟胺 10 mg 和内标 2 mg,加入吡啶 0.5 mL,振荡混匀,放入 90 °C 水域中加热反应 30 min,取出冷却后,加入醋酸酐 0.5 mL,在 90 °C 水域下继续反应 30 min 进行乙酰化。反应停止后,反应产物在 70 °C 水域中用 N<sub>2</sub> 吹干,加入 1 mL 二氯甲烷重新溶解,取样 0.5 μL 进行气相色谱分析。

气相色谱条件:

色谱柱: DB-17(30 m×0.32 mm×0.5 m); 检测器: 氢火焰离子化检测器(FID); 载气: N<sub>2</sub>; 流速: 1 mL/min; 进样口温度: 280 °C; 柱温: 190 °C; 检测器温度: 280 °C。

### 1.3.6 α-葡萄糖苷酶反应体系的建立

根据相关文献<sup>[8]</sup>报道的方法加以改进,最终确定以 96 孔微板作为反应载体,每孔中加入 0.2 μM α-葡萄糖苷酶 10 μL (酵母源), 30 mmol/L 麦芽糖 5 μL 作为底物,待测样品 5 μL,放入 37 °C 恒温箱温孵 30 min, SDS 溶液终止反应,采用葡萄糖氧化酶法在 405 nm 下测定其吸光度 A,其中包括 2.8 μL 葡萄糖氧化酶, 2 μL 过氧化物酶(辣根), 1.2 μL 显色剂,放入 25 °C 恒温箱中温孵 20 min 后,加入硫酸终止液 40 μL 终止反应,最后根据葡萄糖的生成量计算 α-葡萄糖苷酶的活性,每个样品设置 4 个复孔,取平均值,同时设定阿卡波糖作为阳性对照及空白对照组<sup>[9]</sup>。

样品对 α-葡萄糖苷酶活性抑制率公式如下:

$$\text{抑制率}(\%) = (A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

式中: A<sub>空白</sub> 为空白对照孔的吸光度值; A<sub>对照</sub> 为无抑制剂孔的吸光度值; A<sub>样品</sub> 为样品孔的吸光度值。

### 1.3.7 IC<sub>50</sub> 根据以下公式进行计算<sup>[10]</sup>:

$$\lg \text{IC}_{50} = X_m - I [P - (3 - P_m - P_n) / 4]$$

式中: X<sub>m</sub>-lg 最大剂量; I-lg(最大剂量/相邻剂量); P-阳性反应率之和; P<sub>m</sub>-最大阳性反应率; P<sub>n</sub>-最小阳性反应率。

### 1.3.8 不同处理方式得到的蛹虫草多糖对 α-葡

萄糖苷酶活性抑制研究

#### 1.3.8.1 不同浓度蛹虫草粗品对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用

将经 AB-8 层析柱脱色后得到的蛹虫草粗品配置成浓度为 0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9 mg/mL 的待测样品。分别计算不同浓度下蛹虫草粗品对 α-葡萄糖苷酶的抑制率。

#### 1.3.8.2 不同纯度蛹虫草多糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用

将经 AB-8 层析柱脱色后蛹虫草粗品,醇沉后得到的粗多糖,除去蛋白得到的多糖以及经葡聚糖凝胶色谱柱纯化得到的多糖纯品均配置成浓度为 2 mg/mL 的待测样品,计算相同浓度下不同纯度的蛹虫草多糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制率<sup>[11]</sup>。

#### 1.3.8.3 不同浓度蛹虫草多糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用及 IC<sub>50</sub> 测定。

将经葡聚糖凝胶色谱柱纯化得到的多糖纯品分别配置成相对糖含量为 0.23、0.45、0.90、1.81、2.71、3.62、4.52、5.42、6.33、7.23 mg/mL 的待测样品。计算纯化后的蛹虫草多糖在不同浓度的情况下对 α-葡萄糖苷酶的抑制率及 IC<sub>50</sub> 值<sup>[12]</sup>(即酶抑制活性为 50% 时所需要的抑制剂浓度)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 葡萄糖标准曲线

根据方法 1.3.2.1 建立葡萄糖标准曲线: Y=0.008x-0.042, R<sup>2</sup>=0.999, x 葡萄糖含量, Y 为吸光度值。

### 2.2 洗脱曲线

利用 Sephadex G-100 的排阻效应,对蛹虫草子实体粗多糖进行分离纯化。洗脱曲线如图 1 所示,收集峰的峰顶部溶液,浓缩并冷冻干燥。

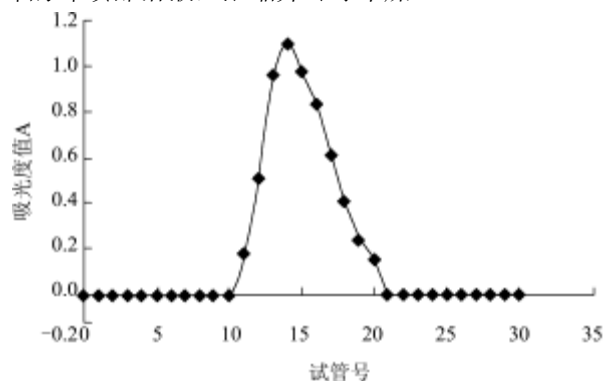


图 1 Sephadex G-100 纯化洗脱曲线

Fig.1 Elution profile on Sephadex G-100

### 2.3 高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 法检测纯度

从图 2 可以看出,样品的液相图仅有一个对称峰,说明样品为分子量完全均一的纯多糖。

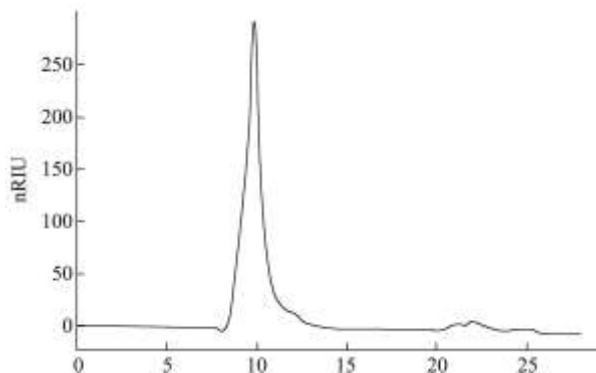


图 2 纯化后多糖的高效凝胶渗透色谱图

Fig.2 HPGPC profile of polysaccharide after purification

### 2.4 蛹虫草多糖含量的测定

蛹虫草经水提、AB-8 脱色、醇沉、除蛋白、葡聚糖凝胶色谱柱处理后分别得到脱色后的蛹虫草粗品、醇沉后粗多糖、去蛋白多糖以及多糖纯品,测得各样品糖含量分别为 (45.80±0.03)%、(65.00±0.02)%、(74.04±0.01)%、(90.39±0.02)%,由此可得出随多糖纯度的提高各多糖糖含量逐级提高,纯品多糖含量达到 90.39%,而粗品多糖含量只有 45.80±0.03%。

### 2.5 单糖成分分析

#### 2.5.1 薄层层析

根据 1.3.5.1 方法降解纯多糖,点样、展开及显色后,斑点明显,如图 3,1 阿拉伯糖、2 半乳糖、3 甘露糖、4 核糖、5 葡萄糖、6 木糖,从图中可看到,样品为均一的一个点,说明降解完全,进一步可看出样品与甘露糖、阿拉伯糖、葡萄糖的位置接近。为了确定样品的单糖成分,对其进行了气相分析。

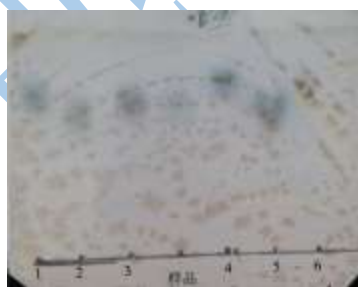


图 3 多糖酸降解后的薄层层析图

Fig.3 TLC of the polysaccharide after acid degradation

#### 2.5.2 气相分析

图 4 为标准单糖气相色谱图,图 5 为样品气相色谱图。

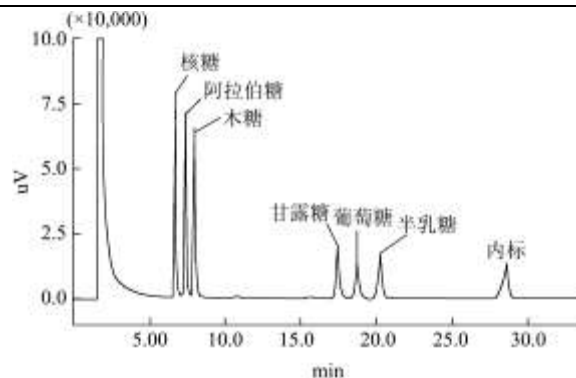


图 4 标准单糖气相色谱图

Fig.4 Gas chromatogram of standard monosaccharides

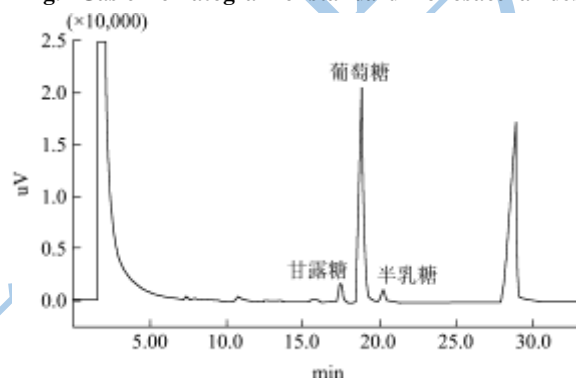


图 5 样品单糖气相色谱图

Fig.5 Gas chromatogram of sample

从图 5 可以看出,蛹虫草子实体多糖主要由甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成,摩尔比为甘露糖:葡萄糖:半乳糖=3.22:39.90:2.39。其中葡萄糖为主要成分。

### 2.6 蛹虫草粗品浓度对 α-葡萄糖苷酶活性的影响

影响

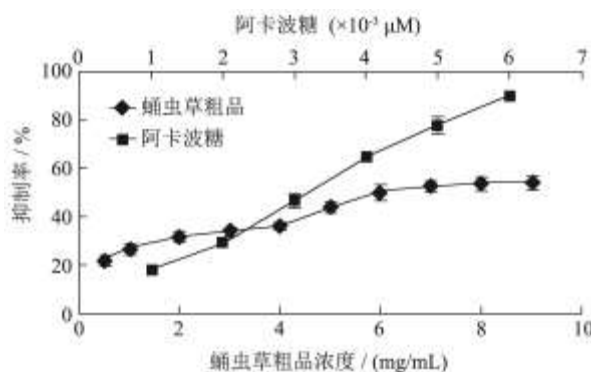


图 6 蛹虫草粗品浓度对 α-葡萄糖苷酶活性的影响

Fig.6 Impact of crude *Cordyceps militaris* concentrations on α-glucosidase activity

随着蛹虫草粗品浓度的不断提高,其对 α-葡萄糖苷酶活性的抑制率随之提高,当浓度达到 6 mg/mL 时抑制率达到较高水平,之后其抑制作用趋于平缓,我们可初步判断蛹虫草对 α-葡萄糖苷酶活性具有一定的

抑制作用,但对其中起到抑制作用的有效成分尚不能确定。

### 2.7 蛹虫草多糖纯度对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的影响

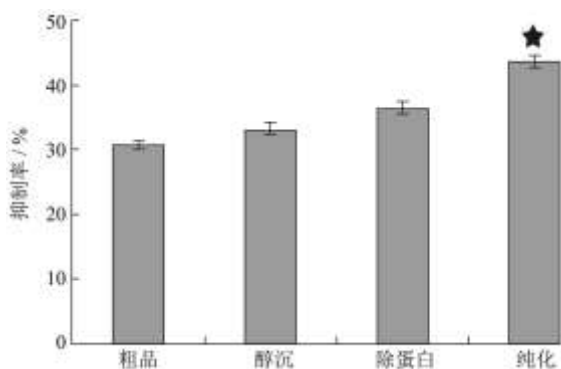


图7 不同纯度蛹虫草多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig.7 Impact of *Cordyceps militaris* polysaccharides with different purities on  $\alpha$ -glucosidase activity

注:以蛹虫草粗品为对照组, \* $p < 0.05$ , 具有显著性差异。

将经 AB-8 层析柱脱色得到的蛹虫草粗品、醇沉得到的粗多糖、除蛋白后得到的多糖以及葡聚糖凝胶色谱柱纯化得到的多糖纯品配置为相同浓度 (2 mg/mL) 的待测样品,从图 7 中我们可看出,随着多糖含量的提高其对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制率不断增强,此步实验说明蛹虫草中对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性起抑制作用的有效成分为多糖,并非其他成分,据此我们利用纯化后的多糖进一步研究其浓度对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制作用,分析其浓度效应关系。

### 2.8 蛹虫草多糖浓度对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的影响

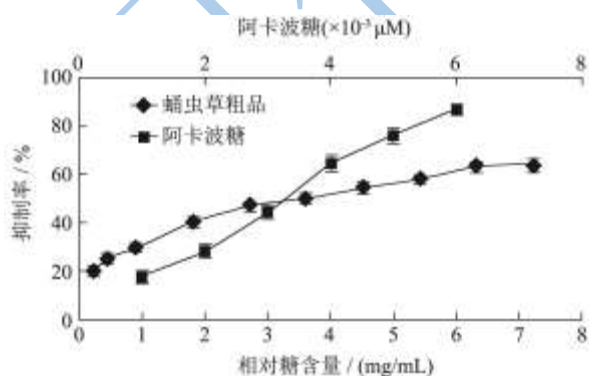


图8 多糖浓度对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig.8 Impact of different concentrations of *Cordyceps militaris* polysaccharide on  $\alpha$ -glucosidase activity

由图 8 可看出,随着蛹虫草多糖相对含量的不断

提高,其对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制率随之提高,当多糖浓度达到 5.42 mg/mL 之后抑制率趋于稳定不再有明显提高,说明蛹虫草多糖对酶的抑制活性在一定浓度范围内呈现出明显的剂量效应关系,其  $IC_{50}$  值为 4.22 mg/mL, 具有明显的酶抑制活性。

### 3 结论

3.1 本实验通过逐步的体外实验研究证明,蛹虫草中对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性具有较显著抑制作用的功能成分为多糖,逐步排除了其他成分的干扰,然后对多糖纯品进行进一步的酶反应实验,结果表明随着蛹虫草多糖含量的提高,其抑制率逐渐提高,并呈现出一定的浓度依赖性,半数抑制浓度  $IC_{50}$  为 4.22 mg/mL, 具有显著的酶抑制效果,说明蛹虫草多糖与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶形成竞争抑制效应可能是蛹虫草降低血糖的途径之一。

3.2 蛹虫草在我国属于药食同源类食用菌类,其降血糖作用可能达不到西药直接、迅速、显著的疗效,但若将其作为治疗或辅助治疗糖尿病的药物或保健品可能会起到强身健体,缓解并发症,且长期服用毒副作用小,与西药起到优势互补的作用。为今后开发以虫草多糖为主的药食两用型  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂提供了理论依据,但本实验对蛹虫草多糖的结构以及其具体的降血糖机制没有深入探讨研究,此方面还有待进一步的实验验证。

### 参考文献

[1] 林玉桓,王树林,王颖,等.34种中药对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制作用[J].大连轻工业学院学报,2004,23(4):270-272  
LIN Yu-huan, WANG Xu-lin, WANG Ying et al. Inhibition of 34 kinds of Chinese Herbal Medicines on  $\alpha$ -Glucosidase Activity [J]. Journal of Dalian Institute of Light Industry, 2004, 23(4): 270-272

[2] 尚禹东,张郑瑶,丁云录,等.银杏叶提取物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用及其降血糖作用机制[J].吉林大学学报,2011, 37(3):427-432  
SHANG Yu-dong, ZHANG Zheng-yao, DING Yun-lu, et al. Inhibitory effect of ginkgo biloba extract on alpha-glucosidase and its hypoglycemic mechanism [J]. Journal of Jilin University ( Medicine Edition), 2011, 37(3): 427-432

[3] 赵荣艳,段毅,郜俊红.蛹虫草的研究和产品开发进展 [J].安徽农业科学,2001,34(24):6528-659  
ZHAO Rong-yan, DUAN Yi, GAO Jun-hong. Cordyceps research and product development progress [J]. Journal of

- Agricultural Sciences, 2001,34 (24) :6528-659
- [4] 徐蕾蕾,王静凤,唐筱,等.蛹虫草降血糖作用及其机制研究[J].中国药理学通报,2011,27(9):1331-1332  
XU Lei-Lei, WANG Jing-feng, TANG Xiao, et al. Hypoglycemia effect and the mechanism of *Cordyceps militaris* [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2011, 27(9): 1331-1332
- [5] Naxin Sun, Guiwen Yang, Heng Zhao, et al. Multidose streptozotocin induction of diabetes in BALB/c mice induces a dominant oxidative macrophage and a conversion of TH1 to TH2 phenotypes during disease progression. [J]. Mediators of Inflammation. 2005, 4: 202-209
- [6] 颜辉,朱冬吉,吴杰.超声波辅助提取蛹虫草多糖的研究[J].江苏农业科学,2009,(1):255-257  
YAN Hui, ZHU DONG-ji, WU Jie. Ultrasonic assisted extraction *Cordyceps* Polysaccharide [J]. Journal of Jiangsu Agricultural Sciences, 2009, 1: 255-257
- [7] 陈小丽,巫光宏,等.蛹虫草子实体多糖的分离纯化[J].生物技术,2011,21,(4):70-74  
CHEN Xiao-li, WU Guang-hong, GU Qing-xia, et al. Separation of polysaccharides from fruiting body of cultured *cordyceps militaris* [J]. Journal of Biotechnology, 2011, 21, (4): 70-74
- [8] 张冉,刘泉,申竹芳,杜冠华.应用 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂高通量筛选模型筛选降血糖中药[J].中国药学杂志, 2007, 42(10): 740-743  
ZHANG Ran, Liu Quan, SHEN Zhu-fang, et al. High throughput screening of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors: application to hypoglycemic traditional chinese medicine [J]. Journal of China Pharm, 2007, 42(10): 740-743
- [9] Zhen-yuan Zhu, Jing-yi Zhang, et al. Comparative evaluation of polysaccharides isolated from astragalus, oyster mushroom and yacon as inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase [J]. Chinese Journal of Natural Medicines
- [10] 王珊珊,刘明,刘英,等.MTT法测定多柔比星和氟尿嘧啶及顺铂对肝癌耐药细胞Bel-27402/ADM的 $IC_{50}$ 值[J].医学导报,2010,29(5):579-581  
WANG Shan-shan, LIU Ming, LIU Ying, et al. Determination of  $IC_{50}$  values of doxorubicin, fluorouracil and cisplatin on human multidrug resistant hepatoma carcinoma cells Bel-7402/ADM by MTT [J]. Journal of Herald of Medicine, 2010, 29(5): 579-581
- [11] 贤景春,梁政超,龙眼核提取物的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性体外实验的研究[J].食品科技,2010,35(7):225-227  
XIAN Jing-chun, LIANG Zheng-chao. Study on in vitro anti- $\alpha$ -glucosidase activity of longan seed extracts [J]. Journal of Food science and technology, 2010, 35(7): 225-227
- [12] 陈玉胜,张李阳,黄芪水提取物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制及其降血糖作用[J].南京晓庄学院,2012,3:72-75  
CHEN Yu-sheng, ZHANG Li-yang. Inhibitory activity on  $\alpha$ -glucosidase and the hypoglycemic effect of aqueous extract from *Astragalus Membranaceus* [J]. Journal of NANJING XIAOZHUANG UNIVERSITY, 2012, 3: 72-75