

青海产三种特色果实多糖及其活性比较

张庆琳¹, 高慧琴¹, 凌丽君¹, 季崇敏^{2*}, 卢燕^{1*}, 陈道峰¹

¹复旦大学药学院生药学教研室, 上海 201203; ²青海博智生物科技有限公司, 西宁 810000

摘要:用水提醇沉法提取了青海产宁夏枸杞、黑枸杞、西伯利亚白刺三种特色果实的水溶性总多糖, 利用理化方法测定并比较了三种多糖的理化性质及其抗氧化活性和对腹腔巨噬细胞 NO 分泌功能的影响。三种植物多糖分子量范围为 130000 ~ 2350000; 单糖组成都含有甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖及阿拉伯糖, 但半乳糖醛酸、葡萄糖和阿拉伯糖的相对含量差异明显; 三者的糖醛酸含量及蛋白质含量也有明显差异。活性测定结果表明, 西伯利亚白刺多糖具有明显的 DPPH 清除能力, 其 IC₅₀ 值达到 0.19 mg/mL, 表现出较强的抗氧化活性, 而黑枸杞与宁夏枸杞多糖的活性较弱; 三种多糖均可显著增强小鼠腹腔巨噬细胞的 NO 分泌水平, 显示一定的免疫增强活性。

关键词: 宁夏枸杞; 黑枸杞; 西伯利亚白刺; 多糖; 抗氧化; 免疫增强

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.1.006

Crude Polysaccharides Extracted from Three Characteristic Plants in Qinghai Province and Their Activities

ZHANG Qing-lin¹, GAO Hui-qin¹, LING Li-jun¹, JI Chong-min^{2*}, LU Yan^{1*}, CHEN Dao-feng¹

¹School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China; ²Qinghai Bozhi Biotechnology Ltd., Xining 810000, China

Abstract: The crude polysaccharides were extracted from the fruits of *Lycium barum* L., *L. ruthenicum* Murr. and *Nitrariasibirica* Pall., collected from Qinghai, by water extraction and ethanol precipitation. The three polysaccharides had relative molecular weight distribution of 130000 to 2350000, and all were composed of mannose, rhamnose, glucuronic acid, galacturonic acid, glucose, galactose, xylose and arabinose. However, the polysaccharides were quite different on their contents of galacturonic acid, glucose and arabinose, as well as the contents of uronic acid and protein. DPPH assay indicated that the polysaccharides of *N. sibirica* had more potent DPPH radical scavenging activity than those of *L. ruthenicum* and *L. barbarum*, with the IC₅₀ value of 0.19 mg/mL. Besides, all the three crude polysaccharides dramatically promoted the NO secretion of macrophage, indicating that they had immuno-enhancing activity.

Key words: *Lycium chinense*; *Lycium ruthenicum*; *Nitraria sibirica*; polysaccharides; anti-oxidant; immuno-enhancing

宁夏枸杞、黑枸杞及西伯利亚白刺都是青海特色药用植物。宁夏枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 为传统中药, 性质温和, 具有清肝明目、抗氧化及神经保护^[1]等作用。近代研究表明, 多糖为宁夏枸杞的主要活性成分之一, 具有免疫调节、抗衰老、抗肿瘤、清除自由基、抗疲劳及抗糖尿病等活性^[2]。黑枸杞 (*Lycium ruthenicum* Murr.) 为枸杞同属植物, 果实具有抗氧化、抗心血管疾病、保肝及抗肿瘤等活性, 其主要成分为花青素^[3]。有意思的是黑枸杞多糖也

被报道有免疫增强活性^[4,5], 但与枸杞多糖的具体差异尚不明确。西伯利亚白刺 (*Nitraria sibirica* Pall.) 是蒺藜科白刺属植物常见种之一, 果实有健脾胃、滋补强壮、调经活血、催乳之功效, 因其外观性状和活性与黑枸杞相似, 但价格差异明显, 市场上常见黑枸杞中混杂白刺的现象。黑枸杞和白刺作为新的药用资源引起广泛关注, 但研究着重于生物碱、多肽、黄酮、萜类、有机酸等^[6-8]小分子化合物的生物活性及其结构表征, 而对大分子多糖的研究相对欠缺^[9]。故本研究从宁夏枸杞、黑枸杞和西伯利亚白刺三种果实多糖的理化性质、抗氧化活性及对小鼠腹腔巨噬细胞 NO 分泌功能的影响进行比较, 为黑枸杞和白刺的合理应用和鉴定提供依据。

收稿日期: 2016-09-20 接受日期: 2016-11-01

基金项目: 科技部十二五“重大新药创制”重大科技专项 (2012ZX09301001-003)

* 通讯作者 Tel: 86-21-51980157; E-mail: luyan@fudan.edu.cn; jcmzh@126.com

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

AB135-S 型电子天平(梅特勒-托利多仪器公司);YP6001N 型电子天平(上海精科仪器有限公司);MULTISKAN MK3 型酶标仪(Thermo 公司);US10300AH 超声波清洗器(北京优晟联合科技有限公司);JHBE-50T 型闪式提取器(河南智晶生物科技股份有限公司);DIY-200C 型中药粉碎机(上海比朗仪器有限公司);N-1100 型旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司);安捷伦 1200 型 HPLC。

牛血清蛋白(上海爱紫特生物科技有限公司);三氯醋酸(上海凌峰化学试剂有限公司);考马斯亮蓝(Fluka 公司);木瓜蛋白酶(上海源聚生物科技有限公司);1,1-二苯基-2-苦肼自由基(DPPH)、水溶性维生素 C(VC, L-抗坏血酸)、葡聚糖标准品均购自 Sigma-Aldrich 公司。D-葡萄糖(D-Glc);D-半乳糖(D-Gal)、D-甘露糖(D-Man)、D-核糖(D-Rib)、D-半乳糖醛酸(D-GalA);L-阿拉伯糖(L-Ara);1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮(PMP)均购自阿拉丁试剂上海有限公司;LPS(细菌脂多糖)、PB(多粘菌素 B)、D-葡萄糖醛酸(D-GucA)、D-木糖(D-Xyl)购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 实验材料

植物材料于 2015 年 8 月购自青海省西宁市,经复旦大学药学院生药学教研室卢燕副教授鉴定,分别为西伯利亚白刺 *Nitraria sibirica* Pall.、黑枸杞 *Lycium ruthenicum* Murr. 及宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥果实。

2 实验方法

2.1 总多糖样品的制备^[10]

称取一定质量的三种植物样品,分别经粉碎机粉碎后,加入 10 倍体积 95% 乙醇进行闪式提取 3 次,过滤得药渣加入 30 倍体积去离子水 90 °C 加热 2 h,重复 3 次后,收集水提液并浓缩,加乙醇至 80% (v/v) 获得沉淀。沉淀复溶至一定体积后,加三氯乙酸至 15%,离心除去蛋白后调节上清液 pH 至中性,浓缩后冻干得粗多糖样品粉末,以待进一步分析。

2.2 粗多糖的理化性质测定

2.2.1 糖含量测定^[11]

标准溶液的配制:精密称取阿拉伯糖对照品 4.0 mg,加水溶解,定容至 25.0 mL。

回归方程的建立:分别吸取 0.50、0.25、0.15、0.10、0.05、0.02 mL 标准溶液于磨口试管中,加蒸馏水至 0.5 mL,然后加入 5% 苯酚溶液 0.5 mL 及浓硫酸 2.5 mL,剧烈振荡 5 min 后,静置 15 min,在 490 nm 下用分光光度计测其吸收值,同时使用 0.5 mL 的蒸馏水进行相同操作后作为空白对照。

样品溶液的测定:精密称取干燥至恒重的总多糖样品 2.7 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加水至刻度。吸取样品液 0.2 mL 体积于磨口试管中,按以上操作步骤测其吸收值,通过回归方程求其含量。

2.2.2 分子量分布^[12]

精密称取分子量为 12000、450000、1100000 和 2000000 的葡聚糖对照品各 4.0 mg,加 1 mL 去离子水溶解。GPC 条件:TSK GMPW_{XL} 3000 配预柱,1 mL/min 流速,纯水作为流动相,蒸发光散射检测器检测样品信号。

2.2.3 糖醛酸含量测定^[13]

标准溶液的配制:精密称取半乳糖醛酸 1.9 mg,加水溶解,定容至 25 mL。

标准曲线制备:量取标准溶液 0、0.04、0.08、0.12、0.24、0.40 mL 于磨口试管中,加蒸馏水至 0.50 mL,在冰浴中预冷,加入 3.0 mL 四硼酸钠-硫酸试剂(0.0125 M 四硼酸钠的硫酸溶液),振荡混合,在沸腾水浴中加热 5 min。以冰浴冷却至室温后,以微量加液器加 50 μL 0.15% 间羟联苯溶液(以 0.5% 氢氧化钠配制,在冰箱中保存,一个月稳定)。摇匀后,在 520 nm 下用分光光度计测其吸收值,用蒸馏水管作空白对照,绘制标准曲线。

样品溶液的测定:精密称取总多糖样品 1.2 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加水至刻度。吸取样品液 0.5 mL 体积于磨口试管中,按以上操作步骤测其吸收值,通过回归方程求其含量。为避免样品中非己醛糖酸成分与四硼酸钠硫酸试剂反应的干扰,可作一样品对照。即以 50 μL 0.5% 氢氧化钠代替间羟联苯试剂。测得光吸收值从样品吸收值中扣除。

2.2.4 蛋白含量测定^[14]

考马斯亮蓝 G-250 溶液配制:称取 50 mg 考马斯亮蓝 G-250,溶于 25 mL 90% 乙醇中,加入 85% (W/V) 的磷酸 50 mL,最后用蒸馏水定容到 500 mL。

标准溶液的配制:取 25 mg 牛血清白蛋白,溶于 25 mL 蒸馏水中,即为 1.0 mg/mL 标准溶液。

回归方程的建立:取 1.0 mg/mL 的牛血清白蛋白

白原液用水对倍稀释得 0.5000、0.2500、0.1250、0.0625、0.0312 mg/mL 的牛血清白蛋白溶液。从各试管中分别吸取溶液 0.1 mL 放入 10 mL 具塞试管中,以 0.1 mL 水作为空白,加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 蛋白试剂,盖塞、混匀,放置 5 min 后测 595 nm 下吸光度,制作标准曲线。

样品溶液的测定:称取 BC-PS1 1.8 mg, BC-PS2 1.4 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加水至刻度。吸取样品液 0.1 mL 体积于磨口试管中,按以上操作步骤测其吸收值,通过回归方程求其含量。

2.2.5 单糖组成 HPLC 分析^[15]

酸水解:称取 6 mg 粗多糖样品,加入 2 mL 2M 三氟乙酸,氮封后 110 °C 加热 5 h。待样品冷却后离心,取上清液,旋干后加入甲醇洗涤三次,保存于 4 °C 冰箱至进行下一步 PMP 衍生化。

PMP 衍生化:酸水解产物加入 2 mL 去离子水复溶后,取 1 mL 至 8 mL 反应小瓶中,加入 1 mL 0.3M NaOH 及 1 mL 0.5M PMP 甲醇溶液,混匀后氮封,70 °C 加热衍生化反应 2 h。反应后冷却至室温,样液中加入 1 mL 0.3M HCl 中和后,3 mL 三氯甲烷萃取三次,去除大部分未反应的 PMP 衍生化试剂后,取上层水溶液进样 HPLC。色谱条件为:Agilent C18-Extend 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 0.7 mL/min,磷酸缓冲溶液与乙腈作为流动相,245 nm 检测。

2.3 对 DPPH 清除作用^[16]

DPPH 无水乙醇溶液的配制:精密称取了 4 mg 的 DPPH 粉末,置于 50 mL 的容量瓶中,再加入无水乙醇至刻度,配制成 80 μg/mL 的 DPPH 乙醇溶液,摇匀,4 °C 冷藏避光,备用。

待测样品及对照物溶液的配制:精密称取适量待测样品及对照品,用水或无水乙醇溶解并稀释配成 5 个不同浓度的溶液,4 °C 冷藏避光,备用。Vc 为水溶性样品的对照物。

抗氧化测定方法:将不同浓度待测样品及对照品溶液,各取 100 μL 加入 80 μg/mL 的 DPPH 无水乙醇溶液 100 μL,分别作为测定组和对照组,加盖,振摇,避光放置 30 min 后于 517 nm 下测定吸光度值。另取 100 μL 样品溶液和 100 μL 无水乙醇的混合液,作为空白组,其余操作与测定组相同。按下式计算 DPPH 清除率:

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = \left\{ 1 - \frac{(A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})}{A_{\text{control}}} \right\} \times 100\%$$

式中, A_{sample} : 样品溶液(100 μL) + DPPH 溶液的混合液的吸光度值(100 μL); A_{blank} : 样品溶液(100 μL) + 无水乙醇的混合液的吸光度值(100 μL); A_{control} : 样品溶剂(100 μL) + DPPH 溶液的混合液的吸光度值(100 μL)。

以 DPPH 清除率(%) Y 对样品溶液质量浓度 X,绘制清除率曲线,得到清除率与浓度的线性方程,再计算求得 IC_{50} 。

2.4 对腹腔巨噬细胞 NO 分泌水平的检测^[17]

Balb/c 小鼠实验前 4 d 腹腔注射 5% 硫乙醇酸盐培养基,4 d 后收集小鼠腹腔巨噬细胞,将细胞浓度调整为 5×10^5 /mL 种入 96 孔板中,200 μL/孔,置于细胞培养箱中贴壁培养 2 h(37 °C, 5% CO₂)。按照以下分组加样:(1)空白对照组;(2)多糖单独处理组;(3)经 PB 处理的多糖组;(4)LPS 处理组(LPS 终浓度为 1 μg/mL);(5)多糖与 LPS 联合处理组;(6)经 PB 处理的多糖与 LPS 联合处理组;(7)阳性药地塞米松与 LPS 联合处理组(DEX)。每组四复孔,置于培养箱中培养 24 h。收集上清,采用 Griess 法测定 NO 的水平,取上清液 50 mL 加入 50 μL Griess 试剂,混匀后室温放置 10 min,使其充分反应,以 100 μL Griess 试剂为调零孔,540 nm 检测光吸收值。以亚硝酸钠溶液为标准溶液建立 NO 标准曲线(测量范围 0 ~ 200 μM),确定各实验组细胞培养上清中的 NO 水平。

3 结果与讨论

3.1 粗多糖的理化性质测定

3.1.1 糖含量测定

为初步考察粗多糖样品中总多糖的含量,标准品溶液配制后以硫酸-苯酚法测定吸光度,绘制标准曲线得回归方程为: $y = 3.93438x + 0.08497$ ($r^2 = 0.99934$)。粗多糖含量测定结果表明,宁夏枸杞、黑枸杞和西伯利亚白刺多糖的总多糖含量分别为: 56.20%、55.60% 及 53.30%,其多糖总含量相近。

3.1.2 分子量分布

以葡聚糖作标准品测定三种粗多糖样品分子量分布范围。实验结果表明,黑枸杞与宁夏枸杞皆含有两个不同分子量范围的成分,分别为 201 万、17 万与 235 万、28 万。白刺则含有三个不同分子量范围的成分,为 172 万、24 万和 13 万。黑枸杞与枸杞的分子量分布较为相似,白刺分子量范围则相对较小。

3.1.3 糖醛酸含量测定

粗多糖样品糖醛酸含量测定表明,三种粗多糖样品中,宁夏枸杞粗多糖样品含有的糖醛酸最少,为4.06%,白刺粗多糖样品糖醛酸含量最多,为15.84%,黑枸杞与白刺的糖醛酸含量较为相似,为14.86%。黑枸杞与宁夏枸杞为同属植物,其样品粗多糖含量、蛋白质含量、分子量分布皆较为相似,但糖醛酸含量差异较大。该结果与HPLC方法分析粗多糖样品单糖组成的结果相符(见3.1.5),宁夏枸杞中含有的半乳糖醛酸明显少于其他两种粗多糖样品。故认为较低的糖醛酸含量可作为化学成分层次上区别宁夏枸杞与黑枸杞和西伯利亚白刺的指标。

3.1.4 蛋白含量测定

使用考马斯亮蓝法、以牛血清蛋白作对照品,绘制标准曲线得 $y = 0.48804x + 0.75162$ ($r^2 = 0.98953$),同法测定粗多糖样品吸光度,计算蛋白质含量。实验结果表明,经三氟乙酸法除蛋白后,黑枸

杞与宁夏枸杞样品中剩余的结合蛋白较少,分别为2.29%与3.70%,然西伯利亚白刺粗多糖样品的结合蛋白含量较高,为20.47%。

3.1.5 单糖组成 HPLC 分析

三种粗多糖样品的单糖组成结果(见图1、表1)表明,三种多糖均由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖及阿拉伯糖8种单糖组成,但相对含量差异明显。黑枸杞与宁夏枸杞多糖的共同特点是阿拉伯糖含量最高,分别达到34.04%与42.44%,其次为半乳糖,都超过25%;而两者最明显的差异在于宁夏枸杞多糖中的半乳糖醛酸含量明显低于黑枸杞多糖,仅为1.74%,也是三种多糖中含半乳糖醛酸最少的。西伯利亚白刺多糖的最大特点在于葡萄糖含量最高,为28.71%,明显高于黑枸杞和宁夏枸杞多糖中的葡萄糖含量,可作为区别白刺与黑枸杞的指标单糖成分。

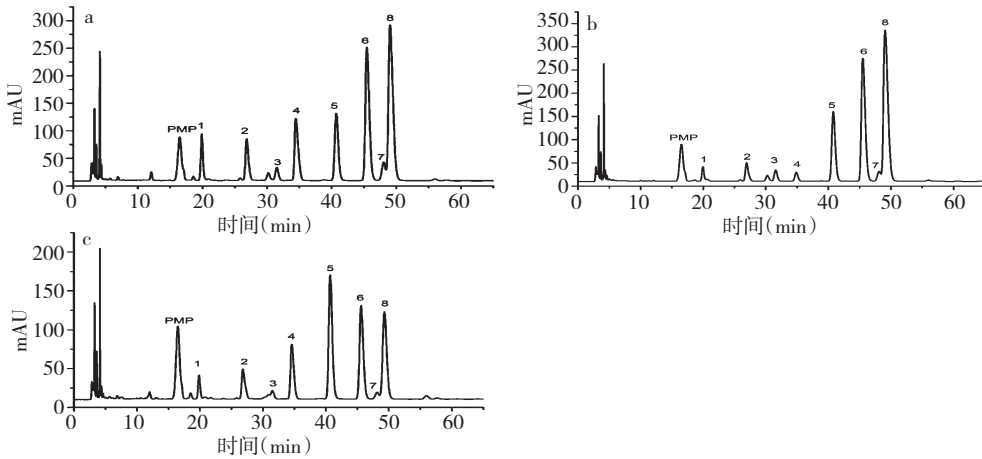


图1 三种植物多糖单糖组成的 HPLC 色谱图

Fig. 1 Monosaccharide composition of three polysaccharides tested through HPLC

注:a~c分别为黑枸杞、宁夏枸杞与西伯利亚白刺多糖的单糖组成;1-8:甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖

Note:a-c;monocharride composition of *L. ruthenicum*, *L. barbarum* and *N. sibirica*, respectively. 1-8: Mannose, Rhamnose, Glucuronic acid, Galacturonic acid, Glucose, Galactose, Xylose and Arabinose.

表1 三种青海特色果实多糖单糖组成相对含量

Table 1 The contents of monosaccharide components of three polysaccharides

单糖 Monosaccharides	宁夏枸杞 <i>L. barbarum</i> (%)	黑枸杞 <i>L. ruthenicum</i> (%)	西伯利亚白刺 <i>N. sibirica</i> (%)
甘露糖 Mannose	1.70	4.68	2.90
鼠李糖 Rhamnose	3.43	6.14	6.29
葡萄糖醛酸 Glucuronic acid	2.02	1.87	0.94
半乳糖醛酸 Galacturonic acid	1.74	11.09	11.94

单糖 Monosaccharides	宁夏枸杞 <i>L. barbarum</i> (%)	黑枸杞 <i>L. ruthenicum</i> (%)	西伯利亚白刺 <i>N. sibirica</i> (%)
葡萄糖 Glucose	15.54	11.82	28.71
半乳糖 Galactose	29.90	25.57	23.25
木糖 Xylose	1.92	3.04	1.50
阿拉伯糖 Arabinose	42.44	34.04	23.29

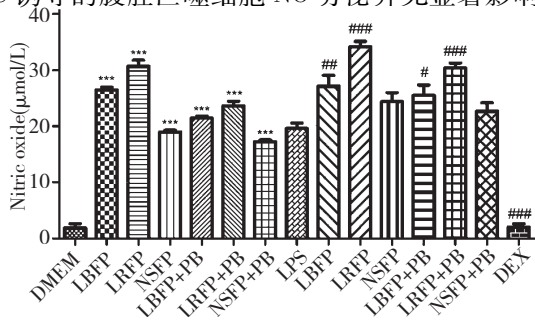
3.2 对 DPPH 清除作用

DPPH 清除能力试验是重要的抗氧化活性检测试验方法之一^[18],结果表明,宁夏枸杞、黑枸杞和白刺多糖的 IC₅₀ 值分别为 0.99、1.22 及 0.19 mg/mL (对照品 Vc 的 IC₅₀ 值为 0.025 mg/mL),均显示一定的抗氧化活性,其中以西伯利亚白刺多糖活性最强,宁夏枸杞和黑枸杞多糖的活性较弱。

3.3 对腹腔巨噬细胞 NO 分泌的影响

NO 是由巨噬细胞分泌的一种具有生物活性的细胞信使因子^[19],巨噬细胞受到刺激活化时,释放的大量 NO 具有细胞毒作用,可杀伤微生物(细菌、真菌、病毒)、寄生虫和肿瘤细胞等,亦可诱发炎症反应保护机体抵御外界不利因素的侵害^[20]。

实验数据表明,宁夏枸杞、黑枸杞与西伯利亚白刺多糖与经 PB 处理后的相应多糖单处理均能显著上调正常巨噬细胞 NO 分泌水平、增强巨噬细胞 NO 分泌功能,具有显著的免疫增强活性。同时,宁夏枸杞、黑枸杞多糖会显著上调 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞 NO 分泌,显示出促炎作用;而西伯利亚白刺对 LPS 诱导的腹腔巨噬细胞 NO 分泌并无显著影响。



* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ vs DMEM group; # $P < 0.05$; ## $P < 0.01$; ### $P < 0.001$ vs LPS ($n=4$)

图2 三种多糖对巨噬细胞分泌 NO 的影响

Fig. 2 The effects of the three polysaccharide on secretion of NO by macrophage

注:LBFP:宁夏枸杞多糖,LRFP:黑枸杞多糖,NSFP:西伯利亚白刺多糖

Note: LBFP, LRFP, NSFP: the polysaccharides extracted from *L. Chinese*, *L. ruthenicum* and *N. sibirica*, respectively.

因此虽三者均具有较强的免疫增强活性,但宁夏枸杞、黑枸杞多糖可能加重细菌感染时巨噬细胞引起的炎症,应慎用。

4 结论

本研究通过对青海产西伯利亚白刺、黑枸杞、宁夏枸杞多糖的理化性质及活性比较,明确了三种多糖的鉴别特征和活性差异。西伯利亚白刺多糖分子量较小,葡萄糖和蛋白含量较高;宁夏枸杞和黑枸杞多糖含有较多的阿拉伯糖,而宁夏枸杞多糖的半乳糖醛酸含量很低。活性上,西伯利亚白刺多糖的 DPPH 清除活性明显强于宁夏枸杞和黑枸杞多糖;三种多糖都有较好的免疫增强活性,虽黑枸杞与宁夏枸杞多糖的免疫增强活性略强,但同时有明显的促炎作用。显然,黑枸杞多糖与宁夏枸杞多糖具有较高的相似性,而常作为黑枸杞混用的西伯利亚白刺,其本身就具有很好的药用价值。

Ni WH^[21]等曾证实青藏高原产黑枸杞、宁夏枸杞及唐古特白刺的多糖具有抗疲劳活性,单糖组成的种类与本文完全相符,但由于酸水解方法及植物选择上的差异,单糖组成研究结果表明三种植物多糖的主要成分为葡萄糖,含量高达 70.6% ~ 86.8%。因此,很有必要广泛收集不同产地黑枸杞、宁夏枸杞和不同品种白刺样品,系统评价其多糖质量差异,并提出易混品种间的专属性鉴别指标。

参考文献

- Zhang Q, Chen W, Zhao J, et al. Functional constituents and antioxidant activities of eight Chinese native goji genotypes. *Food Chem*, 2016, 200: 230-236.
- Jin M, Huang Q, Zhao K, et al. Biological activities and potential health benefit effects of polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L. *Int J Biol Macromol*, 2013, 54: 16-23.
- Hu N, Zheng J, Li WC, et al. Isolation, stability, and antioxidant activity of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray and *Nitraria tangutorum* Bobr of Qinghai-Tibetan plateau.

- Sep Sci Technol*, 2014, 49:2897-2906.
- 4 Gong Y, Wu J, Li ST. Immuno-enhancement effects of *Lycium ruthenicum* Murr. polysaccharide on cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8:20631-20637.
 - 5 Peng Q, Liu H, Lei HJ, et al. Relationship between structure and immunological activity of an arabinogalactan from *Lycium ruthenicum*. *Food Chem*, 2016, 194:595-600.
 - 6 Chen H, Olatunji OJ, Zhou Y. Anti-oxidative, anti-secretory and anti-inflammatory activities of the extract from the root bark of *Lycium chinense* (Cortex Lycii) against gastric ulcer in mice. *J Nat Med*, 2016, 70:610-619.
 - 7 Zhe G, Ying-Chun W, Yan-Xu C. Determination of flavonoids and anthocyanins in *nitraria tangutorum* by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Protein Peptide Lett*, 2016, 23:424-432.
 - 8 Wu T, Lv H, Wang F, et al. Characterization of polyphenols from *Lycium ruthenicum* fruit by UPLC-Q-TOF/MSE and their antioxidant activity in Caco-2 cells. *J Agric Food Chem*, 2016, 64:2280-2288.
 - 9 Xie JH, Tang W, Jin ML, et al. Recent advances in bioactive polysaccharides from *Lycium barbarum* L., *Zizyphus jujuba* Mill., *Plantago* spp., and *Morus* spp.: Structures and functionalities. *Food Hydrocolloids*, 2016, 60:148-160.
 - 10 Xu YY, Zhang YY, Ou YY, et al. *Houttuynia cordata* Thunb. polysaccharides ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice. *J Ethnopharmacol*, 2015, 173:81-90.
 - 11 Zhang J (张娟娟), Lu Y (卢燕), Chen D (陈道峰). Preparation procedures of anti-complementary polysaccharides from *Houttuynia cordata*. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2012, 37:2071-2075.
 - 12 Luzio GA. Use of an evaporative light scattering detector coupled to MALLS for determination of polysaccharide molecular weights. *J Liquid Chromatogr Related Technol*, 2006, 29:185-201.
 - 13 Xia YG, Liang J, Yang BY, et al. A new method for quantitative determination of two uronic acids by CZE with direct UV detection. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25:1030-1037.
 - 14 Snyder JC, Desborough SL. Rapid estimation of potato tuber total protein content with coomassie brilliant blue G-250. *Theoretic Appl Genetics*, 1978, 52:135-139.
 - 15 Wu X, Jiang W, Lu J, et al. Analysis of the monosaccharide composition of water-soluble polysaccharides from *Sargassum fusiforme* by high performance liquid chromatography/electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Chem*, 2014, 145:976-983.
 - 16 Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol*, 1995, 28(1):25-30.
 - 17 Lai X, Ye Y, Sun C, et al. Icaritin exhibits anti-inflammatory effects in the mouse peritoneal macrophages and peritonitis model. *Int Immunopharmacol*, 2013, 16(1):41-49.
 - 18 Pyrzynska K, Pekal A. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Anal Methods*, 2013, 5:4288-4295.
 - 19 Castro-Alves VC, do Nascimento JRO. Polysaccharides from raw and cooked chayote modulate macrophage function. *Food Res Int*, 2016, 81:171-179.
 - 20 Shchepetkin IA. Activation of macrophages by plant polysaccharides. *Antibiotikii Khimioterapiya*, 2004, 49(1):35-42.
 - 21 Ni W, Gao T, Wang H, et al. Anti-fatigue activity of polysaccharides from the fruits of four Tibetan plateau indigenous medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150:529-535.

(上接第 81 页)

- 2 Srikrishna A, Ramasastry S. Enantiospecific first total synthesis of (+)-2 β -hydroxysolanascone, the aglycone of the phytoalexin isolated from flue-cured tobacco leaves. *Tetrahedron Lett*, 2006, 47:335-339.
- 3 Hua DH, Zhang F, Chen J, et al. Condensation of lactams with 2-aminoacetylaldehyde diethyl acetal. A one-pot synthesis of bicyclic imidazoles. *J Org Chem*, 1994, 59:5084-5087.
- 4 Nishida T, Pilotti A, Enzell CR. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of nicotine metabolites and related compounds. *Org Magn Reson*, 1980, 13:434-437.
- 5 Glenn DF, Edwards WB. Synthesis and mass spectrometry of some structurally related nicotinoids. *J Org Chem*, 1978, 43:2860-2870.