

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0146-07

蔓三七粗多糖的提取工艺和抗氧化活性研究

胡居吾^{1*}, 韩晓丹¹, 吴 磊¹, 谢 欣¹, 黄斌华²¹江西省科学院应用化学研究所,南昌 3300962; ²江西华紫仁农业开发有限公司,赣州 330000

摘要:用蒸馏水浸提蔓三七多糖,分别以提取温度、提取时间、料液比和微波功率为主要影响因素,采用正交试验设计进行提取工艺的优化;并通过体外试验评价其抗氧化能力。结果表明,提取时间>微波功率>提取温度>料液比,说明因素提取时间对指标的影响最大。最佳工艺组合为A₂B₃C₃D₂,即提取温度70℃、提取时间70 min、液固比1:14、微波功率600 W。依照优化条件进行重复试验,此时蔓三七粗多糖得率12.2%。在质量浓度1.0~5.0 mg/mL范围内,蔓三七多糖体外抗氧化活性呈现出量效关系趋势。5 mg/mL 蔓三七多糖总抗氧化能力为(11.76±0.45) U/mL,达到相同质量浓度的Vc总抗氧化活性的94%以上,各浓度蔓三七多糖对DPPH·、·OH清除能力均达到相同质量浓度的Vc 90%以上,蔓三七多糖对H₂O₂清除能力在5 mg/mL时达到相同质量浓度的Vc 60%以上。

关键词:蔓三七;粗多糖;提取工艺;抗氧化活性

中图分类号:S38;R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.027

Extraction and Antioxidant of Polysaccharide from Gynura Procumbens

HU Ju-wu^{1*}, HAN Xiao-dan¹, WU Lei¹, XIE Xin¹, HUANG Bin-hua²¹Institute of Applied Chemistry, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330029, China;²Jiangxi Huaziren Agricultural Development Co., Ltd., Ganzhou 330000, China

Abstract: Polysaccharides were extracted from Gynura procumbens with distilled water as solvent in this article. Extraction temperature, extraction time, solid-liquid ratio and microwave power were chosen as four main influence factors, and then extraction conditions were optimized by orthogonal test. The results indicated that the influence level of them was extraction time > microwave power > extraction temperatures > solid-liquid ratio, respectively. The optimal extraction conditions were proved to be extraction temperature of 70 ℃, extraction time of 70 min, solid-liquid ratio of 1:14 (g/mL) and microwave power of 600 W by the orthogonal test and its verification test. Under this condition, the yield of Gynura procumbens polysaccharides was 12.2%. In the range of 1.0-5.0 mg/mL, the antioxidant activities increased with an increase of mass concentration. At the mass concentration of 5 mg/mL, the total antioxidant activity was (11.76±0.45) U/mL and reached more than that of 94% Vc with the same mass concentration. The scavenging effects on DPPH free radical and OH free radical in different concentration reached more than those of 90% of Vc with the same mass concentration. The scavenging effect on H₂O₂ reached more than that of 60% Vc with the same mass concentration.

Key words: gynura procumbens; polysaccharides; extraction condition; antioxidant

蔓三七,又名平卧菊三七、蛇接骨、续命草、神仙草,味辛、微苦、性凉,为多年生草本药食两用植物。蔓三七茎叶营养丰富,富含粗多糖和绿原酸,同时还含有总黄酮、维生素A、维生素C、氨基酸,富含有机钙等成分。民间利用其通经活络,消肿止痛,消炎止咳,治疗跌打损伤,支气管肺炎、肺结核等^[1]。现代生物化学和医学研究证明,蔓三七具有通经活络,消

炎止咳,散淤消肿,活血生肌等功效^[2];能延缓衰老、激活免疫细胞、改善机体免疫功能、提高人体免疫力,增强人体的新陈代谢并对记忆障碍有一定改善作用^[3];具有降血压、降血糖和预防慢性肾病、抑制乙型肝炎的显著效果^[4];对预防和治疗心脑血管疾病、糖尿病等有一定的疗效^[5];还具有抗病毒、抗菌活性、抑制骨髓癌和志贺样毒素细胞的活性^[6]。

另一方面,其具有极好的营养价值,蔓三七是一种药食兼可的独特植物,它和现在人们食用的木耳菜同属。食味柔滑,清香可口。可清炒、凉拌、汆汤,茎叶切碎作饺子、包子的馅颇具香味,煮泡饭的味道

收稿日期:2017-11-08 接受日期:2018-01-25

基金项目:江西省重点科技支撑项目(2017ACF60009);江西省科学院重点基金(2016-YZDZ-03)

*通讯作者 E-mail:hjw_u@126.com

尤佳。其叶也可生吃,或取鲜叶开水冲泡当茶饮,如把叶子晒干泡水更是别有一番风味。可广泛利用于食品医药工业、日用化工等领域,是一种极具潜力和高经济价值的药食两用植物。

本研究采用微波辅助提取蔓三七中粗多糖的工艺,以蒸馏水为提取溶剂,以提取温度、提取时间、料液比和微波功率为主要因素,运用正交试验对相关工艺参数进行优化,确定最佳的提取工艺条件,并对蔓三七中粗多糖的抗氧化活性进行研究,旨在为蔓三七中粗多糖的利用和开发提供试验数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蔓三七,江西华紫仁农业开发有限公司,烘干、粉碎后过20目筛备用。

无水乙醇(分析纯),天津市大茂化学试剂厂。浓硫酸、苯酚、葡萄糖、氢氧化钠、酒石酸钾钠、3-5-二硝基水杨酸钠,均购自绵阳市信捷商贸有限公司为分析纯。总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所。1,1-二苯基-2-三硝基苯阱(DPPH),美国Sigma公司;双氧水、三氯甲烷、正丁醇、苯酚、抗坏血酸、水杨酸钠、硫酸亚铁、磷酸氢二钠和磷酸二氢钠等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

微波催化合成/萃取仪,北京祥鹄科技发展有限公司;METTLER-TOLEDO AL104型电子天平,瑞士梅特勒-托利多公司;Milli-Q型超纯水制备系统,美国Millipore公司;HH-60型数显恒温搅拌循环水箱,常州国华仪器有限公司;101A-2型电热鼓风干燥箱,上海实验仪器厂有限公司;SHZ-D(III)型循环水式真空泵,巩义市子华仪器有限责任公司;RE-52AA型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;DZF-6090Z型真空干燥箱,上海跃进医疗器械有限公司;日立U-3900/3900H分光光度计;UV-2800A型紫外可见分光光度计,尤尼柯上海仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 蔓三七粗多糖提取工艺流程

取蔓三七烘干、粉碎、过筛,按照一定料液比加入蒸馏水,于一定温度水浴,按照一定微波时间和功率进行提取,然后将残渣及上清液采用抽滤方式分离。滤渣部分继续用同样方法浸提,上清液合并浓缩后缓慢加入4倍体积的无水乙醇沉淀粗多糖,于4℃低温静置24 h,再以4800 rpm离心10 min,收集

下层粗多糖沉淀,最后用无水乙醇洗涤2次,得蔓三七粗多糖,测定不同提取条件下的蔓三七粗多糖得率。

1.3.2 总糖含量测定

采用苯酚-硫酸法测定溶液在490 nm处的吸光度^[7]。

对照品溶液的制备:取无水葡萄糖加纯水制成每1 mL含0.2 mg的溶液,作为对照品溶液;

标准曲线的制备:量取对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置具塞试管中,加纯水补至2.0 mL,各管精密加入5%苯酚溶液1 mL,摇匀,迅速精密加入浓硫酸5 mL,摇匀,静置10 min,冷却至室温,置40℃水浴中保温15 min,取出,迅速冷却至室温,以相应试剂为空白对照,在490 nm波长处测定吸光度,以葡萄糖浓度作为横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

1.3.3 还原糖含量测定

采用3,5-二硝基水杨酸比色法在540 nm处测定其吸光度^[8]。

3,5-二硝基水杨酸(DNS)溶液的配制:取酒石酸钾钠182 g,溶于500 mL纯水中,加热溶液但温度不超过50℃,并依次加入6.3 g 3,5-二硝基水杨酸,21 g 氢氧化钠,5.0 苯酚和5.0 g 无水亚硫酸钠,搅拌至完全溶解,冷却至室温后转移到1000 mL的棕色容量瓶中,并用纯水定容至刻度。

对照品溶液的制备:取无水葡萄糖加纯水制成每1 mL含0.2 mg的溶液,作为对照品溶液。

标准曲线的制备:取对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置具塞试管中,加纯水补至1.0 mL,各管分别加入1.0 mL DNS溶液,混匀后于沸水中加热5 min,冷却至室温,每管再加入8.0 mL纯水,摇匀。以相应的试剂为空白对照,在540 nm波长处测定吸光度,以葡萄糖浓度作为横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。

1.3.4 蔓三七粗多糖得率的计算

$$X(\%) = [(X_1 - X_2)/M] \times 100$$

式中:

X 为蔓三七粗多糖得率;

X_1 为总糖含量(g);

X_2 为还原糖含量(g);

M 为蔓三七质量(g)。

1.3.5 蔓三七多糖的抗氧化活性测定

1.3.5.1 总抗氧化能力的测定

采用总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒测定杜香叶多糖总抗氧化能力。分别准确配制不同浓度的蔓三七多糖(最佳提取条件下获得,下同)和抗坏血酸(Vc)溶液样品,按照T-AOC测定试剂盒说明书进行操作。

混匀,放置10 min,在520 nm测定管样品吸光度($A_{\text{测定}}$)和对照管吸光度($A_{\text{对照}}$),根据下列公式计算蔓三七多糖及Vc的总抗氧化能力($\eta_{\text{总}}$):

$$\eta_{\text{总}} = (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}) \times N \times n / (0.01 \times 30)$$

式中:

N—反应体系稀释倍数(反应液总量/取样量);
n—样品测试前稀释倍数。

在37 °C时,每分钟每毫升样品使反应体系的吸光度值每增加0.01时,为一个总抗氧化能力单位。

1.3.5.2 DPPH自由基清除能力的测定

分别取不同浓度的蔓三七多糖和抗坏血酸(Vc)溶液2 mL加入等体积的DPPH乙醇溶液,混匀后室温放置30 min后,测定其在517 nm处的吸光度(A_1)。同时测定不加DPPH的多糖溶液与乙醇混合后的吸光度(A_2),不加样品的DPPH乙醇溶液作为空白对照的吸光度(A_0)。根据公式计算蔓三七多糖及Vc的DPPH自由基清除率(η_{DPPH}):

$$\eta_{\text{DPPH}} = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$$

1.3.5.3 OH自由基清除能力的测定

取2 mmol/L水杨酸钠-乙醇溶液0.5 mL,加入0.5 mL 9 mmol/L硫酸亚铁溶液,分别加入1.5 mL不同浓度多糖和抗坏血酸(Vc)溶液,最后加入0.5 mL 6 mmol/L双氧水。37 °C反应1 h,在510 nm下测定吸光度(A_x)。同时测定用蒸馏水代替硫酸亚铁溶液的吸光度(A_y),蒸馏水代替样品溶液作为空白对照的吸光度(A_0)。根据下列公式计算蔓三七多糖及Vc的OH自由基清除率(η_{OH}):

$$\eta_{\text{OH}} = [1 - (A_x - A_y)/A_0] \times 100\%$$

1.3.5.4 H₂O₂清除能力的测定

取2.8 mL由50 mmol/L pH值7.4的磷酸缓冲液配制的5 mmol/L的H₂O₂溶液,分别加入1.0 mL不同浓度多糖和抗坏血酸(Vc)溶液,用蒸馏水补足至10.0 mL。25 °C放置10 min后,在230 nm处测定吸光度(A_m)。同时测定不加H₂O₂溶液的样品溶液的吸光度(A_n),不加样品的H₂O₂溶液吸光度(A_0)。根据下列公式计算蔓三七多糖及Vc的H₂O₂清除率($\eta_{\text{H}_2\text{O}_2}$):

$$\eta_{\text{H}_2\text{O}_2} = [1 - (A_m - A_n)/A_0] \times 100\%$$

1.3.6 数据处理

实验数据以x ± s表示,采用Origin 8.0软件作图,SPSS 13.0软件进行方差分析,P < 0.05表示组间有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 总糖及还原糖标准曲线

根据不同方法及不同浓度的葡萄糖标准溶液及其对应的吸光度,得到苯酚-硫酸法的回归方程为y = 7.55x - 0.078,R² = 0.9994,表明总糖在0.040 ~ 0.186 mg/mL质量浓度范围内与吸光度呈良好的线性关系。3,5-二硝基水杨酸法的回归方程为y = 1.4615x + 0.0035,R² = 0.9998,表明还原糖在0.204 ~ 1.000 mg/mL质量浓度范围内与吸光度呈良好的线性关系(见图1和图2)。

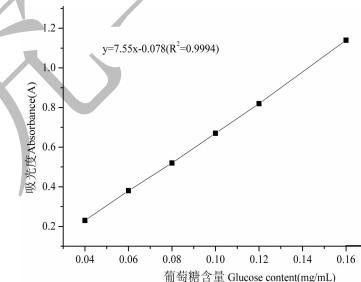


图1 总糖测定标准曲线

Fig. 1 Standard curve for total sugar determination

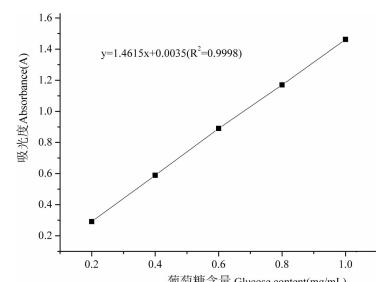


图2 还原糖测定标准曲线

Fig. 2 Standard curve for reducing sugar determination

2.2 单因素试验

2.2.1 提取温度对蔓三七粗多糖得率的影响

分别称取50.0 g蔓三七粉末3份,固定微波时间50 min和微波功率500 W,料液比1:10(g/mL),提取1次,提取温度分别选择40、50、60、70、80 °C,考察了不同提取温度对蔓三七粗多糖得率的影响(见图3)。

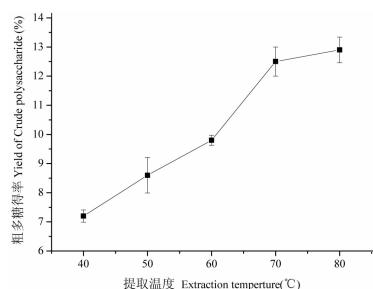


图3 提取温度对蔓三七粗多糖得率的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on the yield of *Gynura procumbens* polysaccharides

图3表明,在试验温度范围内,随提取温度的升高,粗多糖得率也显著升高。当水浴温度达到70℃时,粗多糖得率为12.5%,当水浴温度达到80℃时,粗多糖得率为12.9%。因此,当提取温度超过70℃后,继续提高温度,粗多糖的得率会有所提高,但是,也会在高温下有被降解的可能,故,提取温度采用70℃作为单因素试验的最适提取温度。

2.2.2 微波时间对蔓三七粗多糖得率的影响

分别称取50.0 g 蔓三七粉末3份,固定提取温度70℃和微波功率500 W,料液比1:10(g/mL),提取1次,微波时间分别选择30、40、50、60、70 min,考察了不同微波时间对蔓三七粗多糖得率的影响,见图4。

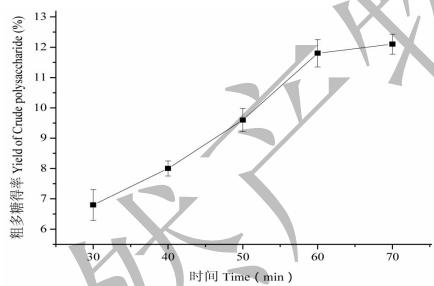


图4 微波时间对蔓三七粗多糖得率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on the yield of *Gynura procumbens* polysaccharides

由图4可见,提取时间过短,蔓三七粗多糖浸出不完全,蔓三七中的蔓三七粗多糖转移率低,易造成浪费。随着蔓三七粗多糖提取时间的延长,蔓三七粗多糖大分子就有充分的时间从蔓三七中扩散到水溶液中。随微波时间的延长,粗多糖得率逐渐增大。当提取时间为60 min时,多糖得率为11.8%;提取时间为70 min时,多糖得率为12.1%,无显著增加。因此从实际生产效益和保护微波发生器的角度出

发,选择60 min作为单因素试验的最适提取时间。

2.2.3 料液比对蔓三七粗多糖得率的影响

分别称取50.0 g 蔓三七粉末3份,固定微波时间60 min和微波功率500 W,提取温度70℃,提取1次,选择不同料液比1:6、1:8、1:10、1:12、1:14(g/mL)对蔓三七粗多糖进行浸提,考察了不同料液比对蔓三七粗多糖得率的影响(见图5)。

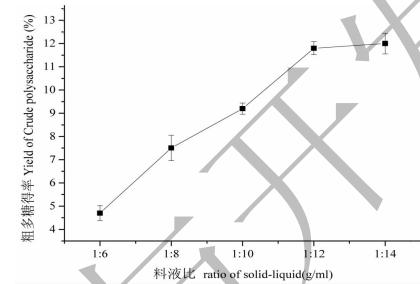


图5 料液比对蔓三七粗多糖得率的影响

Fig. 5 Effect of solid-liquid ratio on the yield of *Gynura procumbens* polysaccharides

中药浸出成分的扩散速度符合Ficks第一扩散定律 [$dM/dt = -D \cdot S (dC/dX)$],式中 dM/dt 为扩散速度(一定时间内物质扩散的量), dt 为扩散时间, S 为扩散面积, D 为扩散系数, dC/dX 为浓度梯度^[9]。在蔓三七粗多糖的提取过程中,蔓三七中的粗多糖的 dC/dX 不断减小,而药液中蔓三七粗多糖浓度逐渐升高,直至蔓三七中的粗多糖浓度与药液中蔓三七粗多糖浓度达平衡状;但如果水的用量过多,会造成蔓三七粗多糖的生产成本升高,也给蔓三七粗多糖提取液的浓缩造成了困难。故控制水的用量很关键。由图5可知,当料液比增大时,粗多糖得率随着增加,当料液比达到1:12时,蔓三七粗多糖得率达到11.8%,但当料液比达到1:14时,蔓三七粗多糖得率得率的变化不大,因此,从节省能源和后续的浓缩方面考虑,选择料液比为1:12作为最适比例。

2.2.4 微波功率对蔓三七粗多糖得率的影响

分别称取50.0 g 蔓三七粉末3份,固定微波时间60 min,料液比1:12(g/mL),提取温度70℃,提取1次,微波功率分别选择400、500、600、700、800 W,考察了不同微波功率对蔓三七粗多糖得率的影响,见图6。

图6可见,微波功率在600 W以内时,随着功率增大,蔓三七粗多糖得率呈上升趋势。当功率继续增大时提取率变化不明显。微波功率增大,促进

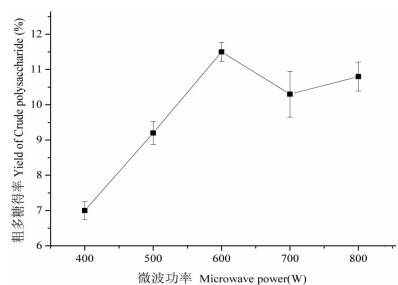


图 6 微波功率对蔓三七粗多糖得率的影响

Fig. 6 Effect of microwave power on the yield of *Gynura procumbens* polysaccharides

蔓三七细胞内物质释放、扩散及溶解,从而提高蔓三七粗多糖得率,当功率达到一定时,细胞内物质充分溶出后,就不再增加了。因此选择微波功率在 600 W 时作为最适微波功率。

2.3 正交试验设计

在单因素试验基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进行蔓三七粗多糖提取工艺的优化。以提取温度(A)、提取时间(B)、料液比(C)和微波功率(D)为主要因素,每组试验平行操作 3 次,取其平均值作为最终得率。其影响因素及水平设计见表 1。正交试验直观分析结果见表 2。

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 Factors and levels table of orthogonal test

水平 level	因素 Factor			
	A 提取温度 A Extraction temperature (°C)	B 提取时间 B Extraction time (min)	C 料液比 C Solid-liquid ratio (g/mL)	D 微波功率 D Microwave power (W)
1	65	50	1: 10	500
2	70	60	1: 12	600
3	75	70	1: 14	700

表 2 正交实验设计及结果

Table 2 Design matrix and experimental results

编号 No.	A	B	C	D	得率 Yield (%)
1	1	1	1	1	7.8
2	1	2	2	2	8.5
3	1	3	3	3	10.2
4	2	1	2	3	9.1
5	2	2	3	1	8.7
6	2	3	1	2	11.4
7	3	1	3	2	9.7
8	3	2	1	3	8.3
9	3	3	2	1	10.2
K_1	26.5	26.6	27.5	26.7	
K_2	29.2	25.5	27.8	29.6	
K_3	28.2	31.8	28.6	27.6	
k_1	8.8	8.7	9.2	8.9	
k_2	9.7	8.5	9.3	9.9	
k_3	9.4	10.6	9.5	9.2	
R	0.9	2.1	0.2	1.0	

从表 2 比较 4 个因素的极差 R 值, $RB > RD > RA > RC$, 即提取时间 > 微波功率 > 提取温度 > 料液比, 说明因素 B 对指标的影响最大。根据 K 值实验结果可见, 最佳工艺组合为 $A_2B_3C_3D_2$, 即提取温度 70 ℃、提取时间 70 min、液固比 1:14、微波功率 600 W。依照优化条件进行重复试验, 此时蔓三七粗多糖得率 12.2%。

2.4 蔓三七多糖的抗氧化活性

2.4.1 总抗氧化能力

不同质量浓度蔓三七粗多糖总抗氧化能力见图 7。由图 7 可见, 蔓三七多糖总抗氧化能力与 Vc 的总抗氧化能力接近, 并且随着溶液浓度增大, 抗氧化能力增强。蔓三七多糖溶液浓度为 5 mg/mL 时, 总抗氧化能力为 (11.76 ± 0.45) U/mL, 达到相同溶液浓度的 Vc 总抗氧化能力 (12.01 ± 0.50) U/mL 的 94% 以上。可以看出, 蔓三七多糖总抗氧化能力较强。

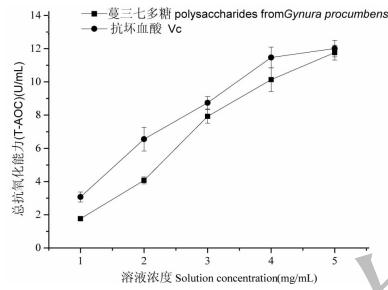


图 7 蔓三七多糖总抗氧化能力

Fig. 7 Total antioxidant capability of polysaccharide

2.4.2 对 DPPH 自由基清除能力

不同质量浓度蔓三七多糖对 DPPH 自由基清除能力见图 8。由图 8 可见, 蔓三七多糖与 Vc 的 DPPH 自由基清除能力均随着质量浓度增大具有增强趋势。各浓度蔓三七多糖 DPPH 自由基清除能力均达到相同质量浓度的 Vc 93% 以上, 说明蔓三七多糖对 DPPH 自由基清除能力较强。

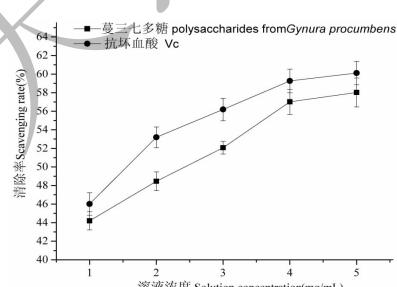


图 8 蔓三七多糖对 DPPH 自由基清除能力

Fig. 8 The scavenging effect on DPPH free radical of polysaccharide

2.4.3 对 OH 自由基清除能力

不同质量浓度蔓三七多糖对 OH 自由基清除能力见图 9。由图 9 可见, 蔓三七多糖与 Vc 对 OH 自由基清除能力均随着质量浓度增大具有增强趋势。5 mg/mL 时蔓三七多糖对 OH 自由基清除率为 $68.10 \pm 1.66\%$ 。各浓度蔓三七多糖对 OH 自由基清除能力均达到相同质量浓度的 Vc 90% 以上, 说明蔓三七多糖对 OH 自由基清除能力较强。

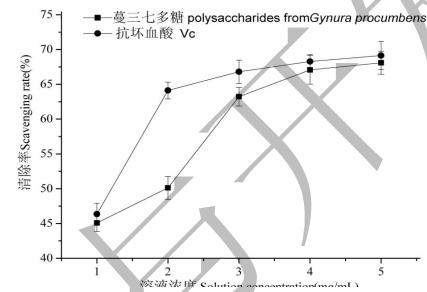


图 9 蔓三七多糖对 OH 自由基清除能力

Fig. 9 The scavenging effect on OH free radical of polysaccharide

2.4.4 对 H_2O_2 清除能力

不同质量浓度蔓三七多糖对 H_2O_2 清除能力见图 10。由图 10 可见, 蔓三七多糖与 Vc 对 H_2O_2 清除能力均随着质量浓度增大具有增强趋势。蔓三七多糖质量浓度为 5 mg/mL 时, 对 H_2O_2 清除能力基本达到最大, 清除率为 $45.44\% \pm 1.50\%$, 达到 Vc $(81.07 \pm 1.66\%)$ 的 60% 以上。

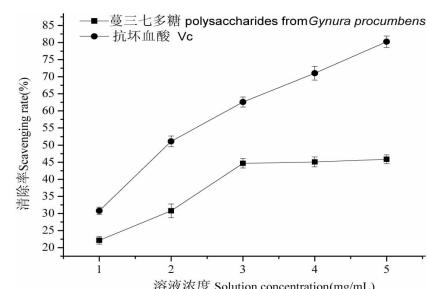


图 10 蔓三七多糖对 H_2O_2 自由基清除能力

Fig. 10 The scavenging effect on H_2O_2 free radical of polysaccharide

3 结论

3.1 本实验采用苯酚-硫酸法和 3,5-二硝基水杨酸法测定并计算蔓三七粗多糖的得率, 通过单因素实验找到提取温度、提取时间、料液比、微波功率的最佳提取参数, 再利用正交实验进行了优化。由正交

实验结果可知,在影响蔓三七粗多糖提取的四个因素中,其影响大小依次为提取时间、微波功率、提取温度、料液比,其中提取时间对实验结果有显著影响。最终确定的提取条件为提取温度70℃、提取时间70 min、液固比1:14、微波功率600 W。在此提取条件下,蔓三七粗多糖得率12.2%。

3.2 通过试剂盒法、化学实验法评价了蔓三七粗多糖的体外抗氧化能力。结果表明:在质量浓度1~5 mg/mL范围内,随着质量浓度增加,抗氧化能力增强。

3.3 研究表明,蔓三七粗多糖具有一定的抗氧化活性,可对其资源进一步开发,作为一种新型的天然抗氧化剂应用于保健食品、化妆品和生物制药等行业,蔓三七有望成为新的有效的抗氧化资源。

参考文献

- 1 Yin YH(尹玉辉). Medicinal and food plant—gynura procumbens[J]. *Rural Know-All*(农村百事通), 2012, 14: 42-43.
- 2 Zhang XF, Tab BK. Effects of an ethanolic extract of Gynura procumbens on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Singap Med J*, 2000, 41: 9-13.
- 3 Hoe SZ, Lee CN, Mok SL, Kamaruddin MY, et al. Gynura procumbens Merr. Decreases blood pressure in rats by vaso-

(上接第19页)

- 10 Iqbal K, Del C. Alonso A, Chen S, et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies [J]. *Bba-Mol Basis Dis*, 2005, 1739: 198-210.
- 11 Goate A, Chartierharlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimers-disease[J]. *Nature*, 1991, 349: 704.
- 12 Levy E, Carman IJ, Fernandezmadrid, Power, I, Lieberburg, et al. Mutation of the Alzheimers-disease amyloid gene in hereditary cerebral-hemorrhage, Dutch type[J]. *Science*, 1990, 248: 1124.
- 13 Haass C, Koo EH, Mellon A, et al. Targeting of cell-surface beta-amyloid precursor protein to lysosomes: alternative processing into amyloid-bearing fragments [J]. *Nature*, 1992, 357: 500.
- 14 Shoji M, Golde TE, Ghiso J, et al. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing [J]. *Science*, 1992, 258: 126.
- 15 Naslund J, Haroutunian V, Mohs R, et al. Correlation between

dilatation of calcium channels [J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2011, 66: 143-150.

- 4 Hassan Z, Yam MF, Ahmad M, et al. Antidiabetic properties and mechanism of action of Gynura procumbens water extract in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Molecules*, 2010, 15: 9008-9023.
- 5 Akowuh G, Sadikun A, Ahmad M. Flavonoid identification and hypoglycaemic studies of the butanol fraction from Gynura procumbens[J]. *Pharm Biol*, 2008, 40: 405-410.
- 6 Iskander MN, Song Y, Goupar IM, et al. Antiinflammatory screening of the medicinal plant Gynura procumbens [J]. *Plant Food Hum Nutr*, 2002, 57: 233-244.
- 7 Li SF(李顺峰), Liu XH(刘兴华), Zhang L(张丽华). Optimization of extraction of polysaccharides from Hypsizigus marmoreus fruit-body[J]. *Trans Csae*(农业工程学报), 2008, 2: 281-284.
- 8 Zhao K(赵凯), Xue PJ(许鹏举), Gu GY(谷广烨). Study on determination of reducing sugar content using 3,5-dinitrosalicylic acid method[J]. *Food Sci*(食品科学), 2008, 8: 534-536.
- 9 Zhou ZQ(周泽琴), Hu LJ(胡梁及), Cai YQ(蔡延渠). Problem analysis of water extraction process for Chinese traditional medicine in 2010 edition of Chinese pharmacopoeia [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2015, 14: 230-234.

elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline[J]. *JAMA*, 2000, 283: 1571.

- 16 Zhao WQ, Townsend M, Insulin resistance and amyloidogenesis as common molecular foundation for type 2 diabetes and Alzheimer's disease[J]. *Bba-mol Basis Dis*, 2009, 5: 482-496.
- 17 Son SM, Song H, Byun J, et al. Accumulation of autophagosomes contributes to enhanced amyloidogenic APP processing under insulin-resistant conditions [J]. *Autophagy*, 2012, 8: 1842-1844.
- 18 Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, et al. The Alzheimer's disease-associated amyloid β -protein is an antimicrobial peptide[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): e9505.
- 19 Kumar DK, Choi SH, Washicosky KJ, et al. Amyloid- β peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer's disease [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8 (340): 340ra372.
- 20 Kumar DK, Moir RD. The emerging role of innate immunity in Alzheimer's disease[J]. *Neuropsychopharmacol*, 2017, 42: 362-362.