

猫豆多糖的分离与含量测定

邓霖芳¹,陈招钟²,陆叶²,刘江云^{2*}¹浙江中医药大学附属第三医院药剂科,杭州 310005;²苏州大学苏州医学院药学院,苏州 215123

摘要:对猫豆中的非淀粉总多糖(MPT)进行分离,建立其定性和定量分析方法。采用水提醇沉、分子排阻色谱纯化等方法分离猫豆中的多糖,采用1-苯基-3-甲基-5-吡啶酮衍生化和HPLC法测定其单糖组成。从猫豆中分离得到MPT中的主成分MP-1、MP-2和MP-3,其单糖组成分别为甘露糖、葡萄糖和半乳糖;MPT中该3种单糖含量依次为9.69、7.87、12.09 mg/g。采用超声水提取、3,5-二硝基水杨酸比色法测定猫豆中的总多糖含量,结果为141.4 mg/g。结果表明猫豆多糖主要包括甘露聚糖、半乳葡聚糖,所述分析方法适用于测定猫豆中的非淀粉多糖类成分的组成和含量。

关键词:猫豆;多糖;分离;单糖组成;含量

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)Suppl-0056-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.S.009

Separation and determination of polysaccharides in *Mucuna pruriens* var. *utilis*

DENG Lin-fang¹, CHEN Zhao-zhong², LU Ye², LIU Jiang-yun^{2*}¹The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China;²College of Pharmaceutical Sciences, Soochow University, Suzhou 215123, China

Abstract: A method for separation and determination of non-starch total polysaccharide in *Mucuna pruriens* var. *utilis* (MPT) was established. MPT was separated using water extraction followed by ethanol precipitation, size-exclusion column purification methods; monosaccharide composition of MPs was conducted by HPLC analysis of their PMP derivatives. Three major constituents, MP-1, MP-2 and MP-3 were separated from MPT, with mannose, glucose and galactose as their monosaccharide compositions, respectively; The content of 3 monosaccharides in MPT was determined to be 9.69, 7.87 and 12.09 mg/g, respectively. DNS colorimetry method was adopted to determine MPT amount in *Mucuna pruriens* var. *utilis*, which was assayed to be 141.4 mg/g. MPT was composed of both MP-1 and MP-2 in major, and the determination methods mentioned above could be applied for quality analysis of MPT in *Mucuna pruriens* var. *utilis*.

Key words: *Mucuna pruriens* var. *utilis*; polysaccharide; separation; monosaccharide composition; content

猫豆系民间草药,性温,味甘、微苦,有小毒,具温中益气、治疗腰脊酸痛的功效,我国主要分布于广西、贵州、云南等地^[1]。藜豆中富含6%~9%左旋多巴(LD),是提取左旋多巴(LD)的药用原料。有文献报道^[2,3],服用藜豆治疗帕金森病的药效与美多巴相当,并可减轻部分副作用,但机制尚不明确。本课题组研究表明^[1,4,5],猫豆中含有LD类似物,可通过抑制LD脱羧酶、提高LD生物利用度。近年来,帕金森病与肠道菌群失调的肠-脑轴病理相关

性受到重视^[6];膳食纤维(非淀粉多糖)作为常用的益生元,可能有助于改善帕金森病相关的胃肠道功能失调、便秘等并发症^[7]。鉴于猫豆中的多糖类成分研究未见报道,本文对猫豆中的非淀粉多糖类成分进行分离和定性定量分析,为其质量控制、资源深入开发利用提供参考。

1 材料

1.1 药材与对照品

猫豆(批号:20191001)采自广西百色,为豆科藜豆属植物龙爪藜豆(*Mucuna pruriens* var. *utilis* Burck)的干燥种子;葡萄糖、甘露糖、半乳糖对照品(纯度99%),购自上海阿拉丁科技生化科技股份有限公司。

收稿日期:2021-11-22 接受日期:2021-12-22

基金项目:浙江省药学会医院药学专项科研资助项目(2018ZY Y07);宜兴市现代农业科技项目(2020NY02);宁夏自治区重点研发计划(2020BFH02005)

*通信作者 Tel:86-512-65882089; E-mail:liujiangyun@suda.edu.cn

1.2 仪器与试剂

LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱系统(美国安捷伦公司);Tecan Infinite M1000 Pro 酶标仪(瑞士帝肯公司);SB-5200DTDN 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);MP2002 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);ME215S 型电子天平(德国 Starorious 公司)。HW-40F、HW-55F 填料(日本 Tosoh 公司);5% 苯酚、3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂(上海源叶生物科技有限公司);1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)、三氟乙酸、乙醇等试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,瑞典 Oceanpak 公司);水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 猫豆多糖的分离和检测

猫豆粗粉 50 g,用 1.0 L 乙醇超声提取 1 h,剩余药渣加入 1.0 L 水超声提取 1 h、重复提取 1 次,合并水提液,减压浓缩至 350 mL,在搅拌下加入乙醇至 50% 乙醇终浓度,4 °C 冰箱静置过夜,抽滤,得

猫豆多糖组分 1(MP 1.1);滤液浓缩至 100 mL,同法加入乙醇至 75% 乙醇终浓度,静置,抽滤,得猫豆多糖组分 2(MP 2.1)。MP 1.1 用 100 mL 水溶解,Sevage 法除蛋白,减压浓缩至干,用 4 mL 水溶解,经 HW-40F 色谱柱、水为洗脱剂纯化,苯酚-硫酸检识、高效分子排阻色谱法(high performance size-exclusion chromatography, HPSEC)检测合并相同流分,减压干燥,得猫豆多糖 MP-1(6.2 mg)。MP 2.1 用 40 mL 水溶解,同法除蛋白和 HW-40F 色谱柱纯化,得猫豆多糖 MP-2(2.7 mg)、MP 2.2;MP 2.2 再用 HW-55F 色谱柱纯化,得猫豆多糖 MP-3(3.5 mg)。

参考前期报道的 HPSEC 法^[8],对猫豆多糖样品进行检测。色谱条件:岛津 LC-20A 液相系统,TSK-GEL G3000 PW_{XL} 色谱柱(7.8 mm × 300 mm, 10 μm);纯水为流动相,流速 0.5 mL/min,柱温 30 °C,进样量 20 μL,示差折光检测器。样品 MP-1 ~ MP-3 的检测结果见图 1。按葡聚糖标准曲线计算,主成分 MP-1、MP-2、MP-3 的相对分子质量依次为 293.6、167.2、4.3 kD。

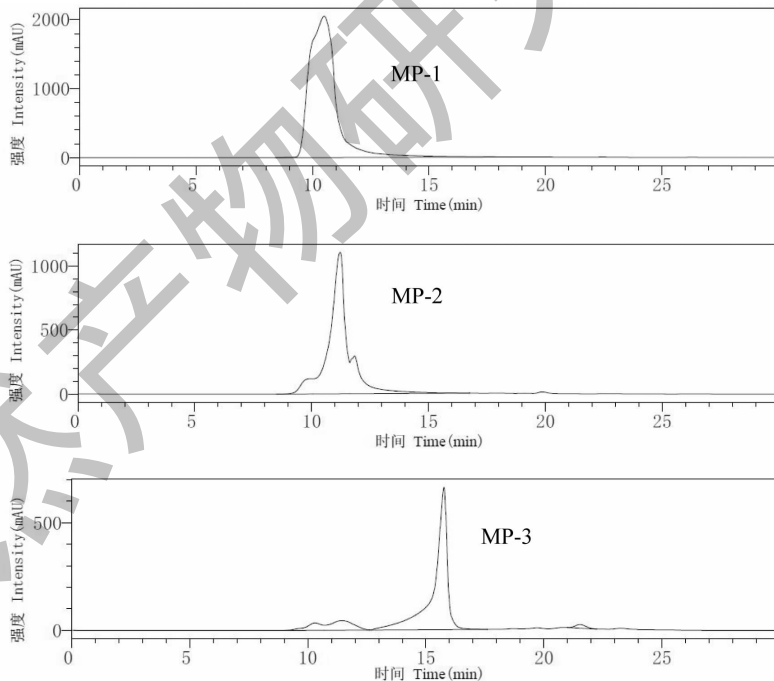


图 1 猫豆多糖样品的 HPSECs

Fig. 1 HPSECs of MPs samples

2.2 猫豆多糖中的单糖组成和含量测定

2.2.1 猫豆多糖供试品的提取

取猫豆粉末(过 40 目筛)约 5 g,用 100 mL 水超声提取 1 h,抽滤,滤液在搅拌下加入无水乙醇至

75% 乙醇终浓度,4 °C 冰箱静置过夜,收集沉淀,干燥,即得猫豆多糖(MPT,273.5 mg)。

2.2.2 供试品溶液

取 MP-1 ~ MP-3 约 2.0 mg,MPT 约 10 mg,分别

加入 2 mL 2 mol/L 三氟乙酸,于 120 °C 烘箱密封水解 2 h,减压浓缩、反复加入甲醇多次浓缩至除去三氟乙酸,加水复溶并定容至 2 mL 量瓶,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液

精密称取甘露糖 10.42 mg、葡萄糖 10.36 mg、半乳糖 10.68 mg,置于 10 mL 容量瓶,用水配制为对照品储备溶液。精密量取各对照品储备溶液 5 mL,置于同一 50 mL 容量瓶中,加水定容,即得 3 种单糖混合的对照品溶液。分别精密吸取混合对照品溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL 至 10 mL 容量瓶,用水配制为系列稀释的对照品溶液,备用。

2.2.4 衍生化样品溶液

分别精密量取“2.2.2”项下供试品溶液、“2.2.3”项下对照品溶液 1.0 mL,分别加入 0.5 mol/L 的 PMP 甲醇溶液 0.5 mL、0.3 mol/L 的 NaOH 溶液 0.5 mL,混匀,于 70 °C 水浴反应 100 min,冷却至室温,加入 0.3 mol/L 的 HCl 溶液 0.5 mL 中和,再加入 2.0 mL 氯仿进行萃取,水层重复萃取 3 次,滤过,即得。

2.2.5 色谱条件

参考相关文献^[9],选用 Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱系统;Cosmosil C₁₈ MS-II (4.6 × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;磷酸盐缓冲液-乙腈 (83:17, V/V) 流动相;流速 1.0 mL/min;检测波长 254 nm;柱

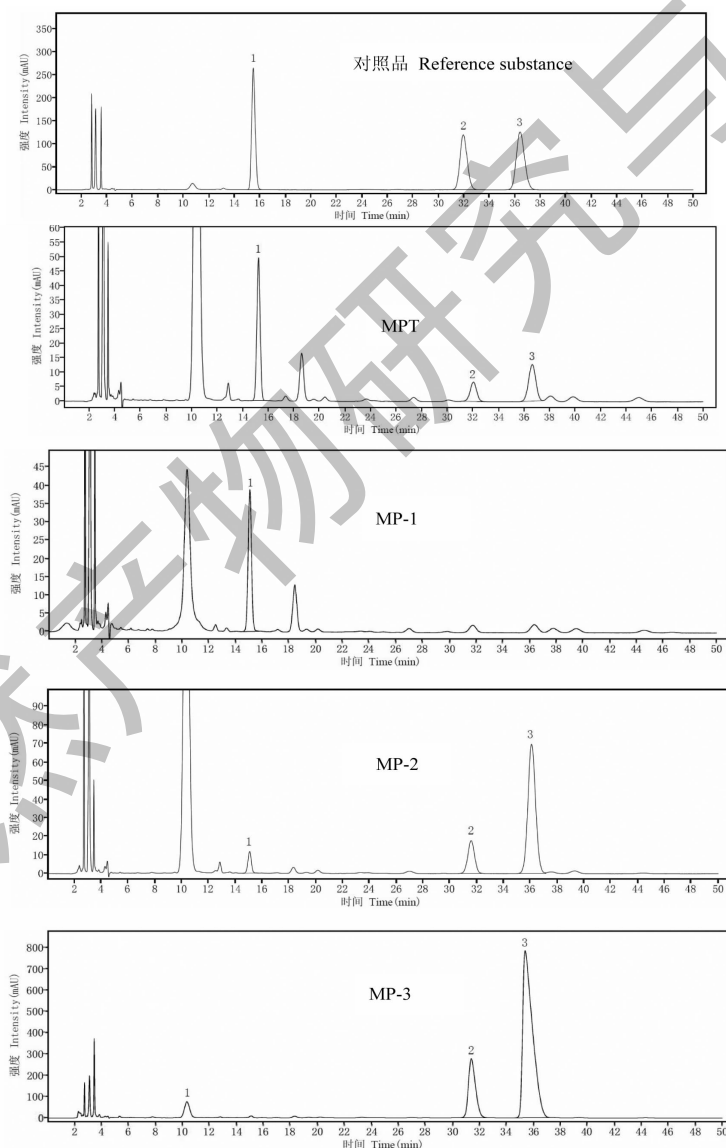


图 2 猫豆多糖的单糖组成分析高效液相色谱

Fig. 2 HPLCs of monosaccharide compositions of MPs

注:1 甘露糖;2 葡萄糖;3 半乳糖。Note:1 Mannose;2 Glucose;3 Galactose.

温 30 ℃;进样量 20 μL。在此色谱条件下,各成分峰均能达到良好分离,理论板数以甘露糖计大于 5 000。各样品的 HPLC 见图 2。

2.2.6 线性关系考察

精密吸取“2.2.3”项下系列对照品溶液 1 mL,按“2.2.4”项下方法制备衍生化的对照品溶液,按

“2.2.5”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以 3 种单糖的质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行回归分析。结果表明,甘露糖、葡萄糖、半乳糖在各自质量浓度范围内线性关系均良好(相关系数 r 均大于 0.999 0)(见表 1)。

表 1 三种单糖成分的线性关系

Table 1 Linear relationships of 3 monosaccharides

单糖 Monosaccharide	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range (μg/mL)
甘露糖 Mannose	$y = 173.20x - 84.05$	0.999 7	4.17 ~ 41.68
葡萄糖 Glucose	$y = 99.47x - 79.96$	0.999 4	4.14 ~ 41.44
半乳糖 Galactose	$y = 119.02x - 111.64$	0.999 2	4.27 ~ 42.72

2.2.7 精密度试验

取“2.2.6”项下衍生化对照品溶液,按“2.2.5”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。测得甘露糖、葡萄糖、半乳糖峰面积的 RSD 分别为 0.54%、1.14%、0.85% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验

取“2.2.4”项下的同一衍生化供试品溶液,分别于室温条件下放置 0.2、4、6、8、12 h 时,按“2.2.5”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。测得甘露糖、葡萄糖、半乳糖峰面积的 RSD 分别为 0.76%、1.27%、1.49% ($n = 6$),表明供试品溶液在室温放置 12 h 内稳定性良好。

2.2.9 重复性试验

分别精密称取 MPT 10 mg,共 6 份,依次按“2.2.2”“2.2.4”项下制备衍生化供试品溶液,再按

“2.2.5”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,根据回归方程计算各样品中单糖含量。测得 MPT 样品中甘露糖、葡萄糖、半乳糖的平均含量分别为 9.69、7.87、12.09 mg/g, RSD 依次为 2.05%、1.78%、2.19% ($n = 6$),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验

分别精密称取 5.0 mg MPT 供试品共 6 份,分别精密加入配置好的相应对照品溶液 1.0 mL,加入 1 mL 8 mol/L 三氟乙酸,再按“2.2.2”“2.2.4”项下制备衍生化供试品溶液,按“2.2.5”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,根据回归方程计算各待测成分的含量并计算其加样回收率(见表 2)。MPT 中甘露糖、葡萄糖、半乳糖的平均加样回收率分别为 97.96%、97.66%、98.71%, RSD 分别为 2.15%、1.98%、2.32% ($n = 6$),表明本方法加样回收率良好。

表 2 回收率测定结果($n = 6$)

Table 2 Results of recovery rate($n = 6$)

成分 Component	样品量 Sample weight (μg)	加入量 Added amount (μg)	测得量 Measured amount (μg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
甘露糖 Mannose	47.85	50.07	98.31	100.78	97.96	2.15
	50.58	50.07	98.73	96.17		
	48.43	50.07	98.38	99.76		
	52.64	50.07	102.14	98.86		
	51.79	50.07	99.83	95.95		
葡萄糖 Glucose	49.86	50.07	98.06	96.27	97.66	1.98
	38.87	41.45	78.98	96.77		
	41.13	41.45	81.64	97.73		

续表 2(Continued Tab. 2)

成分 Component	样品量 Sample weight (μg)	加入量 Added amount (μg)	测得量 Measured amount (μg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
葡萄糖 Glucose	38.40	41.45	80.35	101.21	97.66	1.98
	42.66	41.45	82.41	95.90		
	42.05	41.45	81.94	96.24		
半乳糖 Galactose	39.61	41.45	80.28	98.12	98.71	2.32
	60.27	64.08	122.27	96.75		
	63.13	64.08	126.73	99.25		
	59.38	64.08	120.96	96.10		
	65.52	64.08	130.78	101.84		
	65.81	64.08	130.36	100.73		
	60.94	64.08	123.47	97.58		

2.2.11 猫豆多糖中单糖含量的测定

MPT 样品的测定,参见“2.2.9”重复性试验结果。此外,MP-1 经测定,其单糖组成主要为甘露糖,以及另一未知单糖(t_R 18.0 min);MP-2、MP-3 的单糖组成相似,均由葡萄糖、半乳糖组成(见图 2)。

2.3 DNS 法测定猫豆多糖的含量

2.3.1 供试品溶液 S1

取猫豆粉末(过 40 目筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入水 50 mL,密塞,称定重量,超声(功率 300 W,频率 40 kHz)处理 1 h,放冷至室温,再称定重量,用水补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.2 供试品溶液 S2

精密量取 1 mL 供试品溶液 S1,置具塞试管中,精密加 2 mL 水、2 mL 4 mol/L HCl 溶液,于沸水浴中封口反应 1 h,加入 2 mL 4 mol/L NaOH 溶液中和,转移到 10 mL 容量瓶中,配制为供试品溶液 S2。另取蒸馏水,同法配制为空白溶液。

2.3.3 对照品溶液

精密称取在 105 °C 下干燥至恒重的无水葡萄糖 10.75 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,即得。

2.3.4 样品的测定

参考相关文献进行^[10]。精密量取供试品溶液 S1、S2 各 1.0 mL,分别置于具塞试管中,各加入 DNS 试剂 2.0 mL,混匀,沸水浴反应 5 min,流水冷却至室温,转移至 10 mL 容量瓶,配制为样品溶液。吸取 200 μL 置于酶标板中,在 540 nm 波长处分别测定吸光度(A)。根据葡萄糖回归方程,分别由供试品溶液 S1、S2 测定值计算出样品中还原糖(与单糖含

量相近)、总糖的含量,其中总糖含量需进行稀释后的比例换算,计算公式为:

$$\text{总糖} = \text{水解后还原糖浓度} \times \text{稀释倍数} \times 0.9$$

多糖含量为总糖与还原糖含量的差值。

2.3.5 标准曲线的建立

精密量取“2.3.3”项下对照品溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 置于试管中,加水补足至 0.5 mL,分别精密加入 DNS 试液 1.0 mL,摇匀,沸水浴中加热 5 min,取出,迅速用流水冷却至室温,转移至 10 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。以相应试剂为空白,吸取 200 μL 置于酶标板中,在 540 nm 波长处测定吸光度,以吸光度(A)为纵坐标,葡萄糖浓度(C)为横坐标,绘制标准曲线。回归方程: $A = 0.0147C + 0.0055$,相关系数 $r = 0.9972$ 。结果表明,在 10.75 ~ 53.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好。具体数据见表 3。

表 3 线性范围考察

Table 3 Investigation of linear range

浓度 Concentration($\mu\text{g}/\text{mL}$)	吸光度 Absorbance	校正吸光度 Corrected absorbance
0	0.067 8	0
10.75	0.229 6	0.161 8
21.50	0.375 1	0.307 3
32.25	0.567 6	0.499 8
43.00	0.731 7	0.663 9
53.75	0.830 8	0.763 0

2.3.6 精密度试验

精密量取供试品溶液 S1、S2 各 1.0 mL,分别置于试管中,按“2.3.4”项下操作后连续测定其吸光

度6次,结果还原糖 RSD 为 1.11%,总糖 RSD 为 1.10%,表明仪器性能良好。

2.3.7 稳定性试验

精密量取供试品溶液 S1、S2 各 1.0 mL,分别置于试管中,按“2.3.4”项下操作后,于 0、0.5、1.0、1.5、2 h 测定吸光度。结果还原糖 RSD 为 1.15%,总糖 RSD 为 1.12%。结果表明本品在 2 h 内稳定性良好。

2.3.8 重复性试验

精密称取猫豆粉 6 份,每份约 0.5 g,按照“2.3.2”和“2.3.3”项的方法制备还原糖和总糖溶

液,最后按“2.3.4”项下操作。结果还原糖平均含量为 2.07%,RSD 为 2.01% ($n = 6$);总糖平均含量为 15.67%,RSD 为 2.77% ($n = 6$)。结果说明该测定方法重复性好。

2.3.9 加样回收率试验

称取已知含量猫豆粉末约 0.25 g,精密称定,共 6 份,分别精密加入与已知含量相近的相应对照品溶液,按“2.3.2”和“2.3.3”项下供试品溶液方法制备,再按“2.3.4”项下操作测定吸光度。结果,总糖平均回收率为 98.97%,RSD 为 3.54% ($n = 6$),表明本法回收率良好。具体数据见表 4。

表 4 加样回收率实验结果 ($n = 6$)

Table 4 Results of recovery tests ($n = 6$)

成分 Component	样品量 Sample weight (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
葡萄糖 Glucose	39.27	40.37	78.71	97.70	98.97	3.54
	38.77	40.37	77.18	95.15		
	39.38	40.37	77.96	95.57		
	39.48	40.37	81.36	103.80		
	38.75	40.37	77.82	96.79		
	38.97	40.37	81.29	104.84		

2.3.10 样品中多糖的含量测定

按“2.3.2”和“2.3.3”项下方法制备还原糖和总糖溶液,按“2.3.4”项下方法连续测定 3 次吸光

度,用外标法计算样品多糖和还原糖含量(以葡萄糖计),结果见表 5。经测定,猫豆药材中多糖含量为 141.4 mg/g。

表 5 猫豆多糖含量测定结果

Table 5 Content of *M. pruriens* var. *utilis* polysaccharides

样品 Sample	S2 总糖含量 Total sugar content (%)	S1 还原糖含量 Reducing sugar content (%)	多糖含量 Polysaccharide content (%)
1	16.33	2.12	14.21
2	15.76	1.98	13.78
3	16.57	2.14	14.43
平均值 Average value	16.22	2.08	14.14

3 讨论与结论

本研究采用水提醇沉、分子排阻色谱法对猫豆多糖进行分离纯化,从中获得 3 种主要组分,包括 1 个甘露聚糖、2 个半乳葡聚糖,这与蚕豆豆荚多糖的单糖组成相似^[7];甘露聚糖中推测含有另一未知单糖,其具体种类有待进一步研究。进一步利用 PMP 柱前衍生化-HPLC 法对猫豆多糖的单糖组成进行含量测试^[8,9],采用 DNS 法测定总多糖含量^[10],研究

结果表明,本文首次研究建立的测定方法具有专属性强、准确度高、快速灵敏等优点,适用于猫豆样品中多糖含量的测定。

本研究曾对超声提取、回流提取进行比较,发现二者的多糖提取率相近,但单糖组成有显著差异;其中回流提取法总多糖中的葡萄糖含量(226.41 mg/g)显著大于甘露糖(6.09 mg/g)等其他单糖,推测常温超声提取时主要提取出非淀粉的杂多糖,而高

温回流提取时淀粉类多糖含量显著增加,因而本文选用高选择性的超声提取法用于非淀粉多糖分析。DNS 法用于测定还原性糖,本文通过酸水解前后的供试品中的还原性糖测定差值,作为猫豆中总多糖的含量测定,该法测定结果与衍生化-HPLC 法中的单糖组成分析结果比较基本一致,表明与猫豆中的非淀粉多糖含量相近,结果可行。

参考文献

- Wen H, Tan BB, Dou M, et al. Progress on pharmacological effects of *Mucuna pruriens* [J]. China Pharm (中国药房), 2018, 29: 568-571.
- Cilia R, Laguna J, Cassani E, et al. *Mucuna pruriens* in Parkinson disease: a double-blind, randomized, controlled, crossover study [J]. Neurology, 2017, 89: 432-438.
- Lieu CA, Kunselman AR, Manyam BV, et al. A water extract of *Mucuna pruriens* provides long-term amelioration of parkinsonism with reduced risk for dyskinesias [J]. Parkinsonism Relat D, 2010, 16: 458-465.
- Deng LF, Tan BB, Dou M, et al. Simultaneous determination of L-dopa and its derivatives in seeds of *Mucuna pruriens* var. *utilis* by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2016, 33: 845-848.
- Deng LF, Tan BB, Hao LL, et al. Inhibition activities of levodopa derivatives against dopa decarboxylase [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 2016, 51: 1186-1190.
- Vizcarra JA, Wilson-Pepe HE, Espay AJ. The power in numbers: gut microbiota in Parkinson's disease [J]. Movement Disord, 2015, 30: 296-298.
- Perez-Pardo P, Kliet T, Dodiya HB, et al. The gut-brain axis in Parkinson's disease: Possibilities for food-based therapies [J]. European J Pharmacol, 2017, 817(12): 86-95.
- Feng SZ, Lu YF, Liu NY, et al. Effect of monosaccharide composition on antioxidant activity of algal polysaccharides [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 29: 1198-1201.
- Luo M, Chen DJ, Ji XH. The composition and antioxidant activity of rice germ polysaccharide [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2021, 32: 1448-1452.
- Wang PT, Zhao ZJ, Zhou RL, et al. Determination of polysaccharide in *Antrodia cinnamomea* by 3,5-dinitrosalicylic acid colorimetry [J]. Food Res Dev (食品研究与开发), 2016, 37(9): 163-167.
- Zhao C, Sun J, Fang C, et al. 1,8-Cineol attenuates LPS-induced acute pulmonary inflammation in mice [J]. Inflammation, 2013, 37: 566-572.
- Yang CZ, Li LH, He BJ, et al. Studies on the She medicine Zhilanqing from eastern Fujian with GC/MS [J]. China Med Herald (中国医药导报), 2013, 10(7): 126-128.
- Juergens UR, Siber M, Schmidt-Schilling L, et al. Anti-inflammatory effects of euclyptol (1,8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes *ex vivo* [J]. Eur J Med Res, 1998, 3(9): 407.
- Huo M, Cui X, Xue J, et al. Anti-inflammatory effects of linalool in RAW 264.7 macrophages and lipopolysaccharide-induced lung injury model [J]. J Surg Res, 2013, 180(1): e47-e54.
- Wu Q, Yu L, Qiu J, et al. Linalool attenuates lung inflammation induced by *Pasteurella multocida* via activating Nrf-2 signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2014, 21: 456-463.
- Yu LH. Evaluation of curative effect of prescription of traditional Chinese medicine sequential therapy in the treatment of ulcerative colitis and the mechanism of D-limonene [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine (南京中医药大学), 2017.
- Nam SY, Chung CK, Seo JH, et al. The therapeutic efficacy of α -pinene in an experimental mouse model of allergic rhinitis [J]. Int Immunopharmacol, 2014, 23: 273-282.

(上接第 38 页)