

光果甘草叶中性多糖结构表征及抗氧化活性研究

林恋竹, 焦铭

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文以光果甘草叶为原料, 提取得到水溶性多糖 GC C, 采用 DEAE-Sepharose Fast Flow 柱层析法对 GC C 进行分离纯化, 得到一种中性多糖 (GC I), 两种酸性多糖 (GC II 和 GC III), 选择 DPPH 自由基清除能力、氧自由基吸收能力 (ORAC) 强的中性多糖 GC I, 对其进行结构特征分析。采用高效凝胶渗透色谱法 (GPC)、红外光谱法 (FT-IR)、PMP 柱前衍生-高效液相色谱法 (HPLC)、甲基化-气相色谱质谱法 (GC-MS) 测定 GC I 的分子量、单糖组成以及糖苷键连接方式。GC I 含有两个分子量分布不同的多糖, 它们的平均分子量分别为 980 ku 及 20 ku; 红外光谱中 4000-500 cm^{-1} 波数范围内出现了多糖的特征峰; GC I 由 5 种单糖组成, 包括: 甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖; GC I 中 $\rightarrow 2$ -Araf-(1 \rightarrow , $\rightarrow 6$)-Galp-(1 \rightarrow 和 $\rightarrow 6$)-GlcP-(1 \rightarrow 残基含量最高。

关键词: 光果甘草; 多糖; 抗氧化; 结构

文章编号: 1673-9078(2016)1-106-110

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.017

Structural Characteristics and Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Glycyrrhiza glabra* L. Leaf

LIN Lian-zhu, JIAO Ming

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: A crude water-soluble polysaccharide (GC C) was obtained from *Glycyrrhiza glabra* L. Leaf by water extraction. DEAE-Sepharose fast flow column chromatography was used to separate and purify GC C to obtain one neutral polysaccharide (GC I) and two acidic polysaccharides (GC II and GC III). The strongest 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and oxygen radical absorbance capacity (ORAC) were detected in GC I, which was therefore selected for structural characterization. The molecular weight, monosaccharide composition, and glycosidic linkages of GC I were determined by high performance gel permeation chromatography (GPC), infrared spectroscopy (FT-IR), 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) precolumn derivatization-high performance liquid chromatography (HPLC), and methylation-gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). It was found that GC I consisted of two polysaccharides with average molecular weights of 980 kDa and 20 kDa. The FT-IR spectra showed the characteristic peaks of the polysaccharides were in the frequency range of 4000-500 cm^{-1} . Monosaccharide composition analysis indicated that GC I contained mannose, rhamnose, glucose, galactose, and arabinose, The residues of $\rightarrow 2$ -Araf-(1 \rightarrow , $\rightarrow 6$)-Galp-(1 \rightarrow and $\rightarrow 6$)-GlcP-(1 \rightarrow showed the highest amounts in GC I.

Key words: *Glycyrrhiza glabra* L.; polysaccharide; antioxidant; structure

甘草, 中草药之王, 主要分布于欧亚大陆, 在我国主要集中分布于以新疆、内蒙古、宁夏和甘肃为中心产区的三北地区。甘草作为我国最常用传统中药之一, 素有“十方九草”之称, 具有补脾益气, 清热解毒, 祛痰止咳, 缓急止痛, 调和诸药之功效。1977 年版的《中国药典》中, 正式将乌拉尔甘草、光果甘草和胀果甘草这三个品种作为药用甘草植物收载。其中, 光果甘草主要产于北疆地区, 资源丰富, 储备量较大。现代科学研究表明: 光果甘草提取物具有抗氧化、抗

收稿日期: 2015-04-14

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划项目 (2012BAD37B08-01)

作者简介: 林恋竹 (1985 年-), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事食品生物技术方面的研究

炎、抗病毒、保肝以及抗肿瘤活性^[1]。多糖是除核酸、蛋白质、脂类之外的第四类重要的生物大分子, 是继蛋白质和核酸之后人类探索生命奥秘的第三里程碑。甘草根多糖是甘草中主要的活性成分之一。甘草根多糖具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗氧化等生物活性, 受到越来越多科研工作者的关注^[2-4]。目前, 国内外研究主要集中于光果甘草地下部分活性成分提取、分离纯化及生理活性评价, 而对于光果甘草地上部分的研究较少。每年有大量的光果甘草用于生产加工, 然而只有其地下部分被加工利用, 地上部分一直被用作畜牧饲料, 造成了这一重要资源的浪费。

本课题组研究发现光果甘草叶提取物具有抗氧化、降低亚硝酸盐、增强记忆等多种生理活性^[5]。因

此, 本文拟在前期工作基础上, 从光果甘草叶中提取分离活性多糖, 采用高效凝胶渗透色谱法 (Gel Permeation Chromatography, GPC)、红外光谱法 (Fourier transform-Infrared Spectroscopy, FT-IR)、PMP 柱前衍生-高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)、甲基化-气相色谱质谱法 (Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC-MS) 对甘草叶多糖的一级结构进行初探, 为综合利用光果甘草开发保健食品提供理论和方法的指导。

1 材料与方法

1.1 原料

光果甘草叶, 由新疆天山制药工业有限公司巴楚分公司提供。

1.2 试剂

DPPH、Trolox、AAPH 均为分析纯, 乙腈、甲醇均为色谱级, 购于德国 Merck 公司, D-木糖、D-半乳糖醛酸、D-果糖、D-葡萄糖、D-阿拉伯糖、D-葡萄糖醛酸、D-半乳糖、甘露糖、L-岩藻糖、L-鼠李糖均为标准品, 纯度 >98%, 购于美国 Sigma 公司。

1.3 实验设备

凝胶渗透色谱仪 1525、高效液相色谱仪 e2695: 美国 Waters 公司; 气相色谱-质谱联用仪 Trace DSQ-II: 美国 Thermo 公司; 冷冻干燥器: 德国 Christ 公司; 酶标仪: 美国 Thermo 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 光果甘草的分离纯化

取 500 g 干燥过的光果甘草叶, 粉碎过 80 目筛, 加入 80% 乙醇回流提取 2 h (料液比 1:8, m/V), 过滤, 弃去上清液, 干燥滤渣, 滤渣加入蒸馏水浸提 (120 °C, 料液比 1:15, m/V) 2 h, 过滤, 取上清液, 将滤渣重复提取 2 次, 合并上清液, 浓缩, 加入 Sevag 试剂 (正丁醇:三氯甲烷 1:5, V/V) 除蛋白。加入乙醇, 醇沉 12 h 后离心, 沉淀加水复溶后, 采用 HP-20 大孔树脂除色素, 冷冻干燥, 得光果甘草叶粗多糖 (GC C)。称取 50 mg GC C 溶解于 1 mL 超纯水中, 上样于 DEAE Sepharose fast flow 层析柱 (2.5×20 cm)。用浓度分别为 0、0.1、0.2、0.3 M NaCl 溶液各 500 mL 进行梯度洗脱, 每 5 mL 收集 1 管。用苯酚-硫酸法测定收集液中的多糖的含量, 根据吸光值 A 绘制洗脱曲线。合并洗脱液, 浓缩, 透析脱去盐分后, 冷冻干燥得到

三个组分 GC I、GC II、GC III。

1.4.2 总糖含量测定

依照苯酚-硫酸法^[6]测定总糖含量。吸取 1 mL 样品溶液, 加入 0.5 mL 6% 苯酚溶液, 迅速加入 2.5 mL 浓硫酸, 振荡使之混匀, 静置反应 20 min 后, 在 490 nm 波长处测定其吸光值。以葡萄糖做标准曲线, 计算样品总糖含量。

1.4.3 DPPH 自由基清除能力评价

采用 Lin 等人的方法^[7], 取 2 mL 样品溶液, 加入 2 mL 0.2 mM DPPH 自由基溶液, 混匀, 避光反应 30 min 后, 在 517 nm 波长处测得吸光值, 为 $A_{\text{样品}}$ 。将蒸馏水替代样品, 测得的吸光值为 A_0 , 将乙醇替代 DPPH 自由基溶液, 测得的吸光度值为 $A_{\text{对照}}$ 。DPPH 自由基清除能力 = $[1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}) / A_0] \times 100$ 。以 Trolox 做标准曲线, 计算样品 DPPH 值 ($\mu\text{mol trolox equiv/g}$)。

1.4.4 氧自由基吸收能力 (Oxygen Radical Absorption Capacity, ORAC) 评价

参考 Huang 等人的方法^[8], 用 pH 7.4 的 75 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液配制浓度为 39.9 μM 的荧光素钠储备液, 避光, 于 4 °C 保藏。用 pH 7.4 的 75 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液稀释荧光素钠储备液, 即得使用液 (0.159 μM)。AAPH 用 pH 7.4 的 75 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液配制成 38.25 mM, 每次使用的 AAPH 均为新鲜配制, 使用前, 放置于冰水中。预先将酶标仪欲温至 37 °C, 保持反应体系温度恒定为 37 °C。设定激发波长为 485 nm, 发射波长为 530 nm。在 96 孔板中, 每孔加入 25 μL 样品溶液或 Trolox 溶液, 或 pH 7.4 的 75 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液 (空白对照), 加入 75 μL 荧光素钠使用液, 将孔板放入酶标仪中, 37 °C 孵育 10 min。加入 100 μL AAPH 后, 开始计时反应并读数 (f_0), 每分钟读一次数 (f_1, f_2, \dots, f_n), 共计反应 120 分钟, 将每次读数连成曲线。每个样品设置 3 个复孔。AUC 表示曲线下的面积。

$$\text{AUC} = 0.5 (f_0 + f_n) + (f_1 + f_2 + \dots + f_i + \dots + f_{n-1})$$

$$\text{Net AUC} = \text{AUC}_{\text{sample}} - \text{AUC}_{\text{blank}}$$

Trolox 浓度与其 Net AUC 成正比, 将样品 Net AUC 代入, 换算得到 ORAC 值 ($\mu\text{mol trolox equiv/g}$)。

1.4.5 甘草叶多糖分子量分布

精密称取葡聚糖标准品, 分子量分别为 5.2、11.6、23.8、48.6、148、273、410、668 及 1400 ku, 配成 1 mg/mL 的葡聚糖标准溶液。色谱柱: G5000PWXL 与 G3000PWXL 凝胶柱串联使用; 柱温: 35 °C; 流动相: 0.02 M 的磷酸二氢钾溶液; 检测器: 示差折光检测器; 流速: 0.6 mL/min; 进样量: 20 μL 。用标准葡聚糖分子量的对数值 ($\log M_w$) 对淋洗时间作淋洗曲线, 获

得葡聚糖分子量分布的标准曲线。称取 2.0 mg GC I, 配成 2 mg/mL 的样品溶液, 过 0.22 μm 滤膜, 进样后, 依照上述色谱分离条件得到 GC I 的洗脱曲线, 依照标准曲线得出样品分子量分布。

1.4.6 甘草叶多糖的红外光谱分析

取 2 mg GC I 放入研钵中, 加入干燥过的溴化钾粉末, 研磨充分后, 用压片机压成薄片。将制成的薄片放入傅立叶变换红外光谱仪中进行分析。扫描的范围从 4000 cm^{-1} 到 500 cm^{-1} 。

1.4.7 甘草叶多糖的单糖组成分析

考 Cheng 等人的方法^[9]。吸取 200 μL 单糖标品 (1 mg/mL) 或混合标品溶液于具塞试管中, 加入 200 μL 0.6 M NaOH 溶液, 混匀。吸取 100 μL 上述混合液于具塞试管中, 加入 100 μL 0.5 M 1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮 (PMP) 甲醇溶液, 混匀。70 $^{\circ}\text{C}$ 衍生化反应 100 min, 冷却至室温。加入 100 μL 0.3 M HCl; 补水至 2 mL, 加入 2 mL 氯仿, 混匀, 静置分层, 弃去氯仿相, 取水相过 0.22 μm 微孔滤膜, 待 HPLC 进样分析。取 200 μL 10 mg/mL GC I 溶液于具塞试管中, 加入 200 μL 4 M 三氟乙酸, 121 $^{\circ}\text{C}$ 水解 120 min; 取出冷却, 加入 400 μL 甲醇使之溶解, 减压旋蒸至干; 加入 100 μL 0.6 M NaOH 溶液使残留物彻底溶解, 再加入 PMP 进行衍生化, 待 HPLC 进样分析。色谱柱: Venusil MP-C18, 2.1 \times 30 mm, 5 μm ; 流动相: 0.02 M 磷酸盐缓冲液 (pH 6.7) - 乙腈 (83:17, V:V); 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 250 nm; 流动相流速: 1 mL/min; 进样体积: 20 μL 。

1.4.8 甘草叶多糖的糖苷键连接方式分析

参考 Lin 等人的方法^[10]。精确称取 5.0 mg GC I, 加入 5 mL 二甲基亚砜, 超声 30 min, 加入 200 mg NaOH, 继续超声 30 min, 加入 2.5 mL 碘甲烷, 密封静置于避光处, 反应 12 h。加入 2 mL 蒸馏水终止反应。加入 5 mL 三氯甲烷进行萃取, 取三氯甲烷相。蒸馏水洗三氯甲烷相, 弃去水相。将三氯甲烷相转移到磨口烧瓶中, 55 $^{\circ}\text{C}$ 减压蒸干后, 加入 2 mL 甲醇后, 减压旋干, 加入 4 mL 4 M 三氟乙酸, 110 $^{\circ}\text{C}$ 水解 2 h。减压旋干。加入甲醇, 减压旋干, 加入 4 mL 蒸馏水, 逐滴加入 10% NaOH (m/m) 溶液, 调 pH 至 10, 加入 100 mg 硼氢化钠, 室温下反应 6 h。逐滴加入冰乙酸, 调 pH 至 5.5, 减压旋干, 加入 2 mL 甲醇, 溶解后转移到刻度试管里, 氮吹。加入 2 mL 吡啶以及 2 mL 乙酸酐, 混匀, 密封, 90 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min。加入 2 mL 蒸馏水中止反应。加入 2 mL 二氯甲烷萃取反应液, 取二氯甲烷相。加入无水硫酸钠干燥二氯甲烷相, 过 0.22 μm 滤膜后待气质联

用分析。色谱柱: TR-5MS 弹性毛细管柱; 载气为: 99.999% 高纯度氮气; 升温程序: 初始柱温为 150 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速度将柱温升至 180 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 再用 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温速度升至 260 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 流速: 1 mL/min; 进样量: 1 μL ; 分流比: 10:1; 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 质谱条件: 传输线温度为 280 $^{\circ}\text{C}$; 离子源温度为 250 $^{\circ}\text{C}$; 电子能量为 70 eV; 质量扫描范围为 m/z 33~500 amu。

1.4.9 数据分析

采用 SPSS 17.0 统计分析软件的 ANOVA 方法对实验数据进行差异显著性检验分析, 以 $p < 0.05$ 为差异显著, 数据表示为平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)。

2 结果与讨论

2.1 洗脱曲线的绘制

粗多糖 GC C 经 DEAE-Sepharose fast flow 层析柱的洗脱曲线如图 1 所示, 主要的洗脱组分集中在水洗脱液、0.1 M NaCl 洗脱液、0.2 M NaCl 洗脱液中。通过反复上样, 分离得到一种中性多糖 (GC I, 水洗脱组分), 两种酸性多糖 (GC II, 0.1 M NaCl 洗脱组分; GC III, 0.2 M NaCl 洗脱组分)。实验结果与 Shimizu N 等^[11]对光果甘草的研究一致。

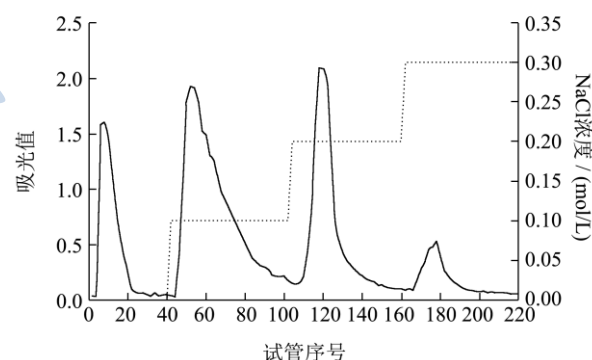


图1 甘草叶粗多糖 GC C 洗脱曲线

Fig.1 Elution curve of GC C by DEAE Sepharose fast flow chromatography

2.2 甘草叶多糖总糖含量及抗氧化活性

本论文研究了甘草叶多糖 GC I、GC II、GC III 及 GC C 的 DPPH 自由基清除能力及氧自由基吸收能力 (ORAC), 结果如表 1 所示。所有样品的 DPPH 自由基清除能力从强到弱, 依次为: GC I > GC C > GC II > GC III。此外, 所有样品的氧自由基吸收能力排序为: GC C > GC I > GC II > GC III。本论文结合两种抗氧化方法, 得出 GC I 的 DPPH 自由基清除能力最强, GC C 的氧自由基吸收能力最强。GC C 总糖含量较低,

可能含有黄酮类化合物等其他杂质，导致其 ORAC 值较高。因此，选择纯度最高、具有良好抗氧化活性的中性多糖 GC I，探究其结构特征。

表 1 甘草叶多糖总糖含量及抗氧化活性

Table 1 Contents of total sugar and antioxidant activities of GC C, GC I, GC II, and GC III

样品	总糖含量/%	ORAC 值/(μmol trolox equiv/g)	DPPH 值/(μmol trolox equiv/g)
GC C	53.01 \pm 2.42 ^c	64.06 \pm 0.50 ^a	8.87 \pm 0.16 ^b
GC I	87.46 \pm 3.80 ^a	53.46 \pm 0.54 ^b	10.78 \pm 0.13 ^a
GC II	74.47 \pm 2.02 ^b	21.99 \pm 0.65 ^c	5.66 \pm 0.11 ^c
GC III	52.59 \pm 3.56 ^c	15.73 \pm 1.35 ^d	4.77 \pm 0.09 ^d

注：同列中标注不同角标者具有显著性差异 ($p < 0.05$)。

2.3 分子量分布

本文通过高效凝胶渗透色谱法测定了 GC I 的分子量分布，如图 2 所示。结果表明：GC I 含有两个分子量分布不同的多糖，它们的平均分子量分别为 980 ku 及 20 ku。

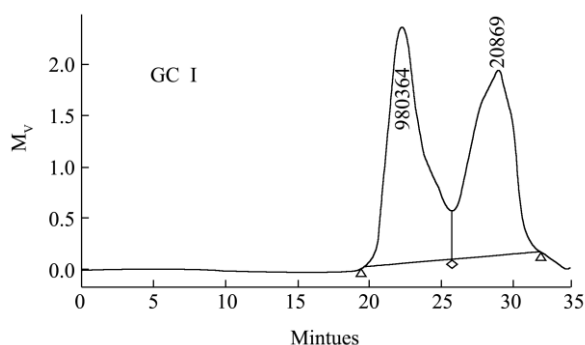


图 2 GC I 的分子量分布

Fig.2 Molecular weight distribution of GC I

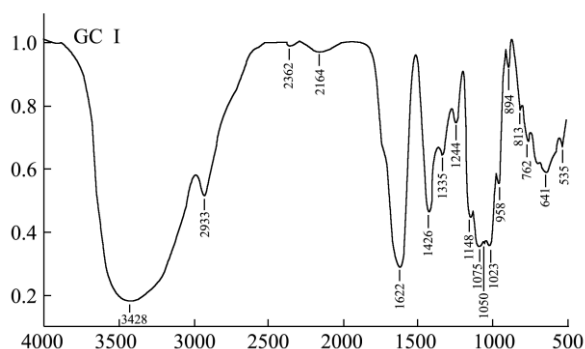


图 3 GC I 的红外光谱图

Fig.3 Infrared spectrogram of GC I

2.4 红外光谱分析

GC I 的红外光谱如图 3 所示，在 4000~500 cm^{-1} 的波数范围内出现了具有多糖的特征峰：在 3428 cm^{-1}

处有一个明显的吸收峰，对应的是 O-H 键之间的伸缩振动；在 2933 cm^{-1} 处的吸收峰是 C-H 伸缩振动；在 1622 及 1426 cm^{-1} 处的吸收峰对应的是去质子化的羧基；在 1148 cm^{-1} 处的吸收峰是 C-O-C 的特征峰；在 1023 cm^{-1} 处的吸收峰为 C-O 的特征峰；在 813 cm^{-1} 处的吸收峰为 α -糖苷键的特征吸收峰；在 762 cm^{-1} 处的吸收峰是对称环振动。

2.5 单糖组成及糖苷键连接方式

本文采用 PMP 柱前衍生-高效液相色谱法测定 GC I 的单糖组成，结果如表 2 所示。结果表明：GC I 含有 5 种单糖，包括甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖。根据这 5 种单糖摩尔比，可知中性多糖 GC I 主要含有葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖。根据表 2 可知，GC I 中 $\rightarrow 2$ -Araf- (1 \rightarrow 、 $\rightarrow 6$)-Galp- (1 \rightarrow 和 $\rightarrow 6$)-Glc- (1 \rightarrow 残基含量最高。实验结果与 Shimizu N^[11]、Cong Y^[12]等的实验结果一致。

表 2 甘草叶多糖 GC I 单糖组成及糖苷键连接方式

Table 2 Monosaccharide composition and glycosidic linkages of GC I

GC I	
化学组成	GC I
单糖组成(摩尔比%)	
甘露糖 (Man)	8.1
鼠李糖 (Rha)	7.8
葡萄糖 (Glc)	13.7
半乳糖 (Gal)	31.7
阿拉伯糖 (Ara)	38.7
糖苷键种类(摩尔)	
Araf- (1 \rightarrow)	8.7
$\rightarrow 2$ -Araf- (1 \rightarrow)	30.0
$\rightarrow 3$ -Rhap- (1 \rightarrow)	7.8
$\rightarrow 2$ -Manp- (1 \rightarrow)	5.1
$\rightarrow 6$ -Glc- (1 \rightarrow)	13.7
$\rightarrow 3$ -Galp- (1 \rightarrow)	8.6
$\rightarrow 6$ -Galp- (1 \rightarrow)	17.0
Galp- (1 \rightarrow)	6.1
$\rightarrow 2,4$ -Manp- (1 \rightarrow)	3.0

3 结论

从光果甘草叶中提取得到水溶性粗多糖(GC C)，采用 DEAE-Sepharose Fast Flow 柱层析法对 GC C 进行分离纯化，得到一种中性多糖和两种酸性多糖，其中中性多糖抗氧化性最强。甘草叶中性多糖中主要由葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成，中性多糖中 $\rightarrow 2$ -Araf- (1 \rightarrow 、 $\rightarrow 6$)-Galp- (1 \rightarrow 和 $\rightarrow 6$)-Glc- (1 \rightarrow

残基含量最高。

参考文献

- [1] Seo J, Lee Y, Kim H, et al. Dehydroglyasperin C isolated from licorice caused Nrf2-mediated induction of detoxifying enzymes [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58(3): 1603-1608
- [2] Dong Y, Zhao M, Zhao T, et al. Bioactive profiles, antioxidant activities, nitrite scavenging capacities and protective effects on H₂O₂-injured PC12 cells of *Glycyrrhiza glabra* L. leaf and root extracts [J]. *Molecules*, 2014, 19(7): 9101-9113
- [3] Dong Y, Sun-Waterhouse D, Zhao M, et al. Absorption and desorption behaviour of the flavonoids from *Glycyrrhiza glabra* L. leaf on macroporous adsorption resins [J]. *Food Chemistry*, 2015, 168:538-545
- [4] Liang R. Optimization of extraction process of *Glycyrrhiza glabra* polysaccharides by response surface methodology [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008(11), 74(4): 858-861
- [5] 董怡,林恋竹,赵谋明.光果甘草叶总黄酮测定方法[J].食品科学,2013,6:195-198
DONG Yi, LIN Lian-zhu, ZHAO Mou-ming, Determination of Total Flavonoids in Leaves of *Glycyrrhiza glabra* L. by Spectrophotometry [J]. *Food Science*, 2013, 6: 195-198
- [6] Dubois M, Gilles K, Hamilton J, et al. A colorimetric method for the determination of sugars [J]. *Nature*, 1951, 168(4265): 167
- [7] Chung S, Kim Y, Takaya Y, et al. Novel flavonol glycoside, 7-O-methyl mearnsitrin, from *Sageretia theezans* and its antioxidant effect [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(15): 4664-4668
- [8] Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, et al. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(16): 4437-4444
- [9] Cheng B, Chan J, Chan B, et al. Structural characterization and immunomodulatory effect of a polysaccharide HCP-2 from *Houttuynia cordata* [J]. *Carbohydr. Polym.*, 2014, 103(4): 244-249
- [10] Lin L, Zhuang M, Zou L, et al. Structural characteristics of water-soluble polysaccharides from *Rabdosia serra*(MAXIM.) HARA leaf and stem and their antioxidant capacities [J]. *Food Chemistry*, 2012, 135: 730-737
- [11] Shimizu N, Tomoda M, Satoh M, et al. Characterization of a polysaccharide having activity on the reticuloendothelial system from the stolon of *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1991, 39(8): 2082-2086
- [12] Cong Y, Kasimu R, Dai H, et al. A neutral polysaccharide from *Glycyrrhiza inflata* [J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2009, 45(1): 11-13