

党参多糖提取纯化工艺优化及其组成研究

李启艳¹, 胡德福¹, 张雪梅², 朱日然^{3*}

1. 山东省食品药品检验研究院 山东 济南 250101

2. 山东中医药大学, 山东 济南 266071

3. 山东省中医药大学附属医院, 山东 济南 250012

摘要: 目的 通过对党参多糖 (CPP) 的提取纯化工艺优化及其单糖组成和相对分子质量 (M) 分布进行研究, 为进一步分离 CPP 提供依据。方法 采用硫酸-苯酚法测定多糖的量, 采用正交设计确定最佳提取工艺; 对提取的粗多糖进行脱蛋白、脱色、透析、冷冻干燥处理, 得到精制粗多糖, 并采用 HPLC 和高效凝胶色谱 (HPGPC) 法, 对多糖水解后的单糖组成和相对分子质量分布进行测定。结果 CPP 的最佳提取工艺为提取温度 85 °C, 料液比 1 : 12, 提取次数 2 次, 提取时间 1.5 h。在上述条件下, CPP 的提取率可达到 22.57%。水解单糖组成为葡萄糖醛酸、氨基半乳糖、木糖和少量甘露糖, 多糖重均相对分子质量 (M_w) 为 21 498。结论 为 CPP 的分级和活性研究提供了理论基础。

关键词: 党参多糖; 提取分离; 单糖组成; 相对分子质量分布; 高效凝胶色谱

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2016)15 - 2663 - 05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.013

Optimization of extraction process of *Codonopsis pilosula* polysaccharides and study on its composition

LI Qi-yan¹, HU De-fu¹, ZHANG Xue-mei², ZHU Ri-ran³

1. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 266071, China

3. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250012, China

Abstract: Objective To optimize the extraction process of polysaccharide from *Codonopsis pilosula* and determine the monosaccharide composition and molecular weight distribution, in order to provide the basis for further separation of *C. pilosula* polysaccharide. **Methods** The content of polysaccharide in *C. pilosula* was determined by phenol sulfuric acid method, the extraction process of polysaccharide was optimized by orthogonal test. *C. pilosula* polysaccharides were prepared from crude polysaccharides by deproteinization, decoloration, dialysis, and lyophilization, then monosaccharide composition and mean molecular mass of *C. pilosula* polysaccharides were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) and high performance gel permeation chromatography (HPGPC). **Results** The extraction temperature was 85 °C, the extraction time was 1.5 h per time, twice, and solid to liquid ratio was 1 : 12. Under these conditions, the yield of polysaccharides was 22.57%. The polysaccharides were consisted by glucuronic acid, aminogalactose, xylose, and small quantities of mannose, the average molecular mass was 21 498. **Conclusion** This study provides a theoretical basis for the classification and activity of polysaccharide from *C. pilosula*.

Key words: *Codonopsis pilosula* polysaccharide; extraction and separation; monosaccharide composition; molecular weight distribution; high performance gel chromatography

党参 *Codonopsis Radix* 为桔梗科植物党参
Codonopsis pilosula (Farnch.) Nannf, 素花党参

Codonopsis pilosula Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 或川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥

收稿日期: 2016-02-12

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2013-227)

作者简介: 李启艳, 女, 副主任中药师, 从事中药物质基础研究。E-mail: 15253118118@163.com

*通信作者 朱日然, 男, 副主任中药师, 从事中药质量控制研究。E-mail: zhuriran@163.com

根,其主要功效为补中益气、健脾益肺,主治脾肺虚弱、气短心悸、内热消渴^[1-2]等症。党参多糖(CPP)为党参的主要成分之一,临床药理实验表明,CPP具有清除自由基、调节机体免疫力、抗衰老和造血的功能,临床上广泛用于调血脂、降血糖、抗衰老等^[3-6]。目前国内和国外对 CPP 的研究集中在多糖提取工艺的优化^[7-10],对多糖进一步的分离纯化以及活性研究还需要更深入的探索。本实验主要结合多糖得率和多糖的量,以多糖的提取率为指标,对 CPP 的提取工艺进行优化,得到提取效率较高的工艺,然后通过多糖相对分子质量(M)测定方法的研究,得到粗多糖的单糖组成和 M 分布情况,为 CPP 的进一步分级研究奠定基础。

1 仪器与材料

CP225D 电子天平,德国 sartorius 公司;FZ102 微型植物粉碎机,天津市泰斯特仪器有限公司;1260 高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司;2695 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司,示差折光检测器,GPC 色谱工作站;Mill-Q 超纯水制备系统,德国 Merck 公司;TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

党参,购自济南漱玉平民大药房,经山东中医药大学田景振教授鉴定为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Farnch.) Nannf 的干燥根;D-氨基半乳糖(批号 1015126,质量分数 $\geq 98\%$)、D-核糖(批号 140668,质量分数 $\geq 98\%$)对照品,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;D-甘露糖(批号 140651-201402,质量分数 $\geq 98\%$)、L-鼠李糖(批号 111683-201401,质量分数 $\geq 98\%$)、D-葡萄糖醛酸(批号 140648-201402,质量分数 $\geq 98\%$)、D-半乳糖醛酸(批号 111646-201201,质量分数 $\geq 98\%$)、D-葡萄糖(批号 110833-201205,质量分数 $\geq 98\%$)、D-半乳糖(批号 100226-201204,质量分数 $\geq 98\%$)、D-阿拉伯糖(批号 111506-200001,质量分数 $\geq 98\%$)、D-木糖(批号 111508-200404,质量分数 $\geq 98\%$)、系列 M 右旋糖酐对照品,D-2(批号 140639-201203, M 5 250)、D-4(批号 140641-201203, M 13 050)、D-5(批号 140640-201203, M 36 800)、D-7(批号 140644-201203, M 135 350),购自中国食品药品检定研究院;其他试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试材料的处理

根据预试验结果,取党参药材,在 60 °C 真空

干燥至恒定质量后粉碎,过 65 目筛,得党参药材干粉。取党参药材干粉 500 g,置圆底烧瓶中,加入 3 倍体积的石油醚(30~60 °C,脱脂液),加热回流 5 h,倾去提取液,再次加入 3 倍体积的石油醚(30~60 °C),回流提取 5 h,重复操作 3 次,至样品提取液澄清为止。弃去提取液,取滤渣,置通风橱中挥干溶剂,置于 60 °C 电热恒温干燥箱中烘干,得除去油脂的党参粉末。将脱脂后的党参粉末置圆底烧瓶中,加入 3 倍体积的 95%乙醇溶液,回流提取 6 h,弃去提取液,循环重复 3 次,取滤渣,置于 60 °C 电热恒温干燥箱干燥,得除去低聚糖的党参粉末。

2.2 党参多糖定量测定

参考文献方法^[11-12],以葡聚糖(M 10 000)为对照品,采用苯酚-浓硫酸比色法测定多糖的量。

多糖提取率=粗多糖的质量/党参生药的质量

2.3 单因素试验

取党参药材干燥至恒定质量后,粉碎过筛,经石油醚,95%乙醇提取,去除脂溶性成分和低聚糖,挥干溶剂后,采用水提醇沉法提取 CPP。固定其他条件不变,分别考察料液比、提取温度、提取时间、提取次数对多糖提取率的影响。

2.3.1 料液比对 CPP 提取率的影响 固定提取温度 85 °C、提取时间为 1 h,提取次数 1 次,改变料液比(1:5、1:8、1:10、1:12、1:15、1:20)提取 CPP,进行料液比单因素试验。结果 CPP 提取率分别为(8.7 \pm 1.0)%、(13.9 \pm 1.5)%、(18.5 \pm 1.7)%、(17.9 \pm 2.3)%、(16.4 \pm 1.8)%、(15.5 \pm 1.2)%($n=3$)。料液比从 1:5 增加到 1:10 时,多糖得率呈明显上升趋势,从 1:10 增加到 1:20 时,多糖得率虽然有所降低,但变化趋势较为平稳,因此选取料液比为 1:8、1:10、1:12 对 CPP 提取作正交试验,以确定最佳料液比。

2.3.2 提取温度对 CPP 提取率的影响 固定料液比 1:10、提取时间 1 h,提取次数 1 次,改变提取温度(55、65、75、85、95 °C)提取 CPP,进行提取温度单因素试验。结果 CPP 的提取率分别为(8.7 \pm 1.0)%、(10.3 \pm 0.9)%、(14.7 \pm 1.3)%、(17.6 \pm 1.9)%、(16.1 \pm 1.2)%($n=3$)。提取温度从 55 °C 增加到 85 °C 时,多糖得率呈上升趋势,从 85 °C 增加到 95 °C 时,多糖得率有所降低,因此选取 75、85、95 °C 对 CPP 提取作正交试验,以确定最佳提取温度。

2.3.3 提取时间对 CPP 提取率的影响 固定提取

温度 85 °C、料液比 1 : 10, 改变提取时间 (0.5、1、1.5、2、3、4 h) 提取 CPP, 进行提取时间单因素试验。结果发现 CPP 提取率分别为 (13.5±1.2)%、(18.4±0.9)%、(19.3±1.6)%、(18.8±1.8)%、(16.1±1.3)%、(14.3±1.1)% (n=3)。随着提取时间的延长, 多糖得率呈上升趋势, 但提取时间超过 2 h, 多糖得率有所降低, 因此选取 1、1.5、2 h 对 CPP 提取作正交试验, 以确定最佳提取时间。

2.3.4 提取次数对 CPP 提取率的影响 固定提取温度 85 °C、提取时间为 1 h, 料液比 1 : 10, 改变提取次数 (1、2、3、4、5) 提取 CPP, 进行提取次数单因素试验。结果 CPP 提取率分别为 (13.5±1.2)%、(18.4±1.3)%、(19.3±0.9)%、(18.8±1.0)%、(16.1±1.2)% (n=3)。随着提取次数的增多, 多糖得率呈上升趋势, 但提取 2 次后, 再增加提取次数, 多糖提取率变化不大, 因此选取 1、2、3 次对 CPP 提取作正交试验, 以确定最佳提取次数。

2.4 正交试验设计与分析

根据单因素及预试验结果选定水提时影响 CPP 提取率的 4 个主要因素提取次数 (A)、提取时间 (B)、料液比 (C) 和提取温度 (D) 作为考察因素, 以 CPP 的提取率为考察指标, 选用 L₉(3⁴) 正交表进行试验, 各组上清液分别浓缩至 100 mL, 加乙醇至 80% 沉淀, 冰箱静置过夜, 离心。醇沉物分别用无水乙醇、丙酮、乙醚各洗 1 次, 40 °C 真空干燥至恒定质量, 测定 CPP 的提取率^[13-14]。试验设计及结果见表 1。方差分析见表 2。

表 1 正交试验设计及结果

试验号	A/次	B/h	C	D/°C	多糖提取率/%
1	1 (1)	1.0 (1)	1 : 8 (1)	95 (1)	6.75
2	1 (1)	1.5 (2)	1 : 10 (2)	85 (2)	15.59
3	1 (1)	2.0 (3)	1 : 12 (3)	75 (3)	10.10
4	2 (2)	1.0 (1)	1 : 10 (2)	75 (3)	8.35
5	2 (2)	1.5 (2)	1 : 12 (3)	95 (1)	16.26
6	2 (2)	2.0 (3)	1 : 8 (1)	85 (2)	22.09
7	3 (3)	1.0 (1)	1 : 12 (3)	85 (2)	20.46
8	3 (3)	1.5 (2)	1 : 8 (1)	75 (3)	12.96
9	3 (3)	2.0 (3)	1 : 10 (2)	95 (1)	10.73
K ₁	32.44	35.56	41.80	33.74	
K ₂	46.70	44.81	34.67	58.14	
K ₃	44.15	42.92	46.82	31.41	
R	14.26	9.25	12.15	26.73	

表 2 方差分析

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	38.553	2	2.421	无
C	24.851	2	1.561	无
D	146.142	2	9.178	无
B(误差)	15.923	2		

F_{0.05}(2, 2)=19.00 F_{0.01}(2, 2)=99.00

由表 1、2 可知, 各因素对多糖提取率的影响大小依次为 D>A>C>B, 最优组合为 A₂B₂C₃D₂, 即确定 CPP 的最佳提取工艺为将党参药材干燥至恒质量, 粉碎后, 在提取温度为 85 °C, 料液比为 1 : 12, 提取时间为 1.5 h 的情况下提取 2 次。在最佳条件下进行 3 次平行实验, 多糖提取率分别为 22.47%、22.18%、23.02%, 平均提取率为 22.57%。

2.5 CPP 的纯化

取党参水提液, 浓缩至 100 mL, 加乙醇至 80% 沉淀, 冰箱静置过夜, 离心, 取醇沉物于 40 °C 真空干燥至无乙醇, 加入 10 倍量蒸馏水, 搅拌溶解, 向多糖溶液中加入 Sevage 试剂 (氯仿-正丁醇 4 : 1), 至终体积分数为 20%, 超声 15 min, 在 4 500 r/min 下, 离心 15 min。收集上清液, 再次加入 Sevage 试剂, 重复上述步骤, 直至无变性蛋白沉降为止, 得到澄清的多糖溶液。

取 CPP 溶液, 于以 DE-52 纤维素为填充剂的玻璃柱上, 先用 0.5 mol/L NaCl 溶液脱液, 再使用 1 mol/L NaCl 洗脱多糖样品, 收集洗脱液, 用苯酚-浓硫酸法检测洗脱液中多糖的量, 直至无多糖检出为止, 浓缩洗脱液。将浓缩后的 CPP 洗脱液灌入透析袋中, 再用封口夹密封透析袋另一端口, 24 h 自来水循环透析, 以除去多糖中的色素和洗脱后残留 NaCl 及其他的小分子物质。将透析后的多糖旋蒸浓缩, 将浓缩后的多糖溶液装入 5 mL 西林瓶中, 多糖液面不可超过西林瓶高的 1/4, 防止真空冷冻干燥过程中多糖的逸出, 放入 -8 °C 冰箱中预冷冻 16 h; 再放入真空冷冻干燥机 24 h, 得到 CPP 的干燥样品^[15-17]。

2.6 HPLC 测定 CPP 水解产物的单糖组成

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为磷酸盐缓冲溶液 (pH 8.2)-乙腈 (83 : 17); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 245 nm; 柱温 35 °C。

2.6.2 混合单糖对照品溶液的配制 精密称取一定

量的 10 种单糖对照品, 加超纯水溶解并定容, 得到混合对照品溶液 (*D*-甘露糖 0.340 mg/mL、*L*-鼠李糖 0.411 mg/mL、*D*-葡萄糖醛酸 0.298 mg/mL、*D*-半乳糖醛酸 0.231 mg/mL、*D*-葡萄糖 0.451 mg/mL、*D*-半乳糖 0.198 mg/mL、*D*-木糖 0.315 mg/mL、*D*-氨基半乳糖 0.219 mg/mL、*D*-核糖 0.342 mg/mL、*D*-阿拉伯糖 0.257 mg/mL)。

2.6.3 多糖的水解样品的制备^[18] 准确称取多糖 0.5 g, 置于带塞的试管内, 加入 10 mL 1 mol/L 的 H₂SO₄ 于沸水浴中水解 8 h, 用高纯水代替 1 mol/L 的 H₂SO₄, 于沸水浴中 2 h 作为空白对照。水解结束后, 将水解液和空白对照于 10 000 r/min 离心 10 min。取水解液 4.5 mL 用 2 mol/L 的 NaOH 中和至 pH 值为 7, 并定容至 10 mL, 10 000 r/min, 离心 10 min, 取上清液待衍生化。

2.6.4 柱前衍生化处理^[19] 取多糖水解样品溶液和混合对照品溶液各 50 μL, 分别与 50 μL 0.5 mol/L 的 PMP 甲醇溶液及 50 μL 0.3 mol/L 的 NaOH 溶液涡旋混合 30 s, 在 70 °C 条件下反应 30 min, 冷却至室温, 加入 50 μL 0.3 mol/L 的 HCl 进行中和并加入 100 μL 高纯水稀释混匀, 加入 900 μL 氯仿涡旋混匀 30 s 静置 5 min, 吸取下层液弃去。从“加入 900 μL 氯仿”起重复操作 3 次, 即得衍生化样品。

2.6.5 样品的测定 取衍生化后的样品溶液和对照品溶液各 10 μL, 进样, 测定。

2.6.6 CPP 水解产物的单糖组成测定结果 结果显示 CPP 主要由葡萄糖醛酸、氨基半乳糖、木糖和少量甘露糖组成。单糖对照品溶液色谱图见图 1-A, 多糖水解产物的 HPLC 图见图 1-B。

2.7 高效凝胶色谱 (HPGPC) 法测定 CPP 平均 *M*

2.7.1 色谱条件 色谱柱为 Shodex OHPak SB-803 HQ (300 mm×8.0 mm, 10 μm), 流动相为 0.71% 硫酸钠溶液 (内含 0.02% 叠氮钠), 柱温 35 °C, 示差折光检测器 (检测器温度 35 °C), 体积流量 0.5 mL/min, 进样量 20 μL。

2.7.2 对照品溶液的制备 取右旋糖酐 D2、D4、D5、D7 对照品适量, 精密称定, 加流动相分别制成 1.5 mg/mL 的溶液, 即得。

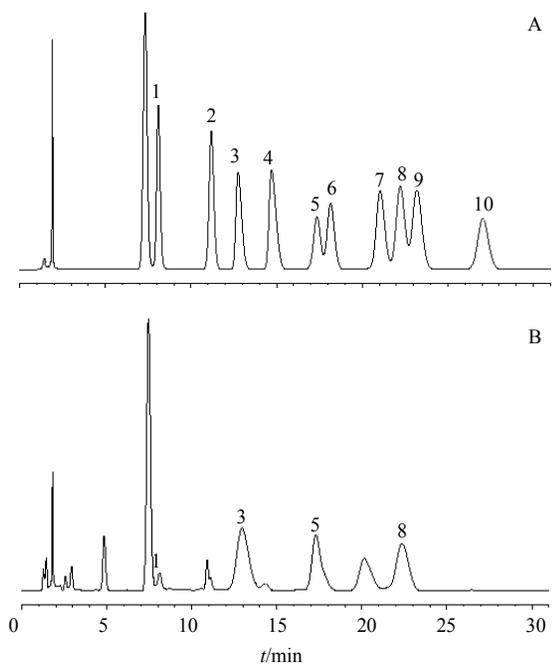
2.7.3 供试品溶液的制备 取 CPP 适量, 加流动相制成约含 10 mg/mL 的溶液, 振摇, 室温放置过夜, 作为供试品溶液。

2.7.4 标准曲线的制备 取上述右旋糖酐系列对照品溶液分别进样, 记录洗脱峰的保留时间, 由 GPC

专用软件^[5]绘制标准曲线, 以对照品 *M* 的对数值为纵坐标 (*Y*), 以相应色谱峰的保留时间为横坐标 (*X*) 进行线性回归, 得回归方程 $Y = -0.3289X + 8.8685$, $R^2 = 0.9995$ 。

2.7.5 样品测定 根据 GPC 专用软件绘制的标准曲线及供试品的保留时间, 采用 GPC 专用软件计算样品各组分的重均相对分子质量 (*M_w*) 及其 *M* 分布。HPGPC 结果见图 2。

2.7.6 CPP 的平均 *M* 测定结果 取多糖样品, 平行测定 6 份, 取其平均值。其结果显示 *M_w* 为 21 498,



1-甘露糖 2-鼠李糖 3-葡萄糖醛酸 4-半乳糖醛酸 5-氨基半乳糖 6-葡萄糖 7-半乳糖 8-木糖 9-阿拉伯糖 10-核糖
1-mannose 2-rhamnose 3-glucuronic acid 4-galacturonic acid 5-aminogalactose 6-glucose 7-galactose 8-xylose 9-arabinose 10-ribose

图 1 混合单糖对照品 (A) 和 CPP 水解产物 (B) HPLC 图
Fig. 1 HPLC of mixed monosaccharide reference substances (A) and monosaccharide composition of CPP (B)

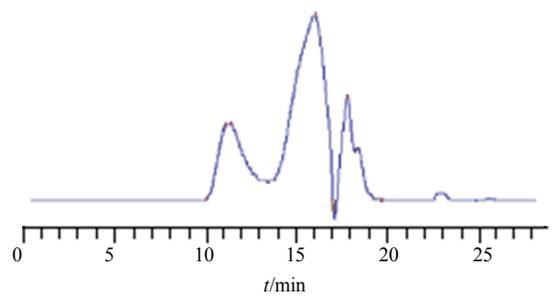


图 2 CPP 的 HPGPC 图
Fig. 2 HPGPC of GPC

RSD 为 2.12%，数均相对分子质量 (M_N) 为 11 730，RSD 为 1.98%。

3 讨论

本研究在单因素试验的基础上采用正交设计对 CPP 的提取方法进行优化，并采用柱前衍生 HPLC 法和 HPGPC 法对 CPP 水解后的单糖组成和 M 进行研究。结果表明，CPP 的最佳提取工艺为党参药材经干燥、粉碎，然后经过石油醚脱脂，95%乙醇脱去低聚糖，挥干溶剂，在提取温度为 85 °C，料液比为 1 : 12，提取时间为 1.5 h 的情况下提取 2 次，CPP 的提取率达到 22.57%。将上述 CPP 经过脱蛋白、脱色、透析和冷冻干燥处理得到精制多糖，采用 HPLC 法对 CPP 单糖组成进行分析，结果显示 CPP 主要由葡萄糖醛酸、氨基半乳糖、木糖和少量甘露糖组成；以不同 M 的右旋糖酐为对照品，经 GPC 软件处理，测定 CPP 的 M_w 为 21 498，共得到 4 个组分。研究表明^[20-21]，CPP 具有清除自由基、调节机体免疫等功能，是一种具有极大开发利用价值有效部位。本实验对 CPP 的提取方法、单糖组成和 M 分布进行了研究，对 CPP 的提取提供理论依据，并为 CPP 的分级和活性研究提供了物质基础。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
 [2] 张雪梅. 党参多糖的研究概况 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(12): 227-229.
 [3] Li Z T, Zhu L B, Zhang H, et al. Protective effect of a polysaccharide from stem of *Codonopsis pilosula* against renal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 90(10): 1739-1743.
 [4] Liu C, Chen J, Li E T, et al. The comparison of antioxidative and hepatoprotective activities of *Codonopsis pilosula* polysaccharide (CP) and sulfated CP [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 24(3): 299-305.
 [5] Yang C X, Gou Y Q, Chen J Y, et al. Structural characterization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from *Codonopsis pilosula* [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 98(2): 420-429.
 [6] 伍春, 侯茜, 胡锋. 素花党参对 D-半乳糖致衰老小鼠皮肤抗氧化能力的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(2): 92-97.
 [7] Zou Y F, Chen X F, Yang W Y, et al. Response surface methodology for optimization of the ultrasonic extraction

of polysaccharides from *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* L. T. Shen. [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 84(12): 503-508.
 [8] Sun Y X, Liu J C. Structural characterization of a water-soluble polysaccharide from the Roots of *Codonopsis pilosula* and its immunity activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2008, 43(5): 279-282.
 [9] Zhang Y J, Zhang L X, Yang J F. Structure analysis of water-soluble polysaccharide CPPS3 isolated from *Codonopsis pilosula* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(1): 157-161.
 [10] 范济民, 蒋小丽, 赵志换, 等. 山西党参多糖提取工艺的优化 [J]. 化学与生物工程, 2012, 15(9): 47-50.
 [11] 胡居吾, 范青生, 肖小年. 粗多糖测定方法的研究 [J]. 江西食品工业, 2005, 20(1): 16-18.
 [12] 鲁晓岩. 硫酸-苯酚法测定北冬虫夏草多糖含量 [J]. 食品工业科技, 2002, 23(4): 69-71.
 [13] Liu H M, Wang F Y, Liu Y L. Hot-compressed water extraction of polysaccharides from soy hulls [J]. *Food Chem*, 2016, 202(1): 104-109.
 [14] Hu J, Jia X J, Fang X B. Ultrasonic extraction, antioxidant and anticancer activities of novel polysaccharides from *Chuanxiong rhizome* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 85(1): 277-284.
 [15] 王卫国, 赵永亮. 一种在多糖分离纯化过程中新的脱蛋白方法 [J]. 中草药, 2003, 34(10): 891-895.
 [16] 任丽靖, 张静, 刘志存, 等. 党参多糖的分离纯化及其结构研究 [J]. 中草药, 2008, 39(7): 987-989.
 [17] 李艳, 鲁建江, 孙萍, 等. 新疆党参多糖的提取及含量测定 [J]. 新疆中医药, 2001, 19(3): 9-10.
 [18] Zhang Y J, Zhang L X, Yang J F. Structure analysis of water-soluble polysaccharide CPPS3 isolated from *Codonopsis pilosula* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(6): 157-161.
 [19] Sun Y X, Liu J C. Structural characterization of a water-soluble polysaccharide from the roots of *Codonopsis pilosula* and its immunity activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2008, 43(2): 279-282.
 [20] Du N N, Wei T B, Zheng D F, et al. Extraction, purification and elicitor activities of polysaccharides from *Chrysanthemum indicum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 86(1): 347-354.
 [21] 郭晓农, 戚欢阳, 王兵. 党参多糖对衰老模型小鼠的抗衰老作用 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(11): 5372-5375.