

青钱柳叶多糖的结构表征及其抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究

王小江¹, 单鑫迪¹, 胡明华³, 蔡超¹, 赵小亮¹, 范罗嫡³, 吕友晶^{1,2}, 郝杰杰¹, 李国云¹, 于广利^{1,2*}

1. 山东省糖科学与糖工程重点实验室, 中国海洋大学医药学院, 山东 青岛 266003

2. 青岛海洋生物医药研究院, 山东 青岛 266061

3. 无限极(中国)有限公司, 广东 广州 510600

摘要: 目的 从青钱柳 *Cyclocarya paliurus* 叶中提取分离多糖, 对其结构进行表征, 并评价其 α -葡萄糖苷酶抑制活性。方法 采用水提醇沉法制备粗多糖, 经 732 阳离子交换树脂脱蛋白, 50%乙醇沉淀, 得青钱柳叶多糖 CP50。利用高效凝胶渗透色谱-十八角度激光光散射联用法 (HPGPC-MALLS) 测定 CP50 的相对分子质量, 采用 PMP 柱前衍生-高效液相色谱法 (HPLC) 测定单糖组成。采用甲基化分析、傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)、核磁共振氢谱 (¹H-NMR) 对 CP50 的结构进行表征。采用 PNPG 法对 CP50 抑制 α -葡萄糖苷酶活性进行评价。结果 CP50 的相对分子质量为 59 000, 由半乳糖醛酸 (GalA)、葡萄糖 (Glc)、半乳糖 (Gal)、阿拉伯糖 (Ara)、甘露糖 (Man)、木糖 (Xyl)、鼠李糖 (Rha) 和葡萄糖醛酸 (GlcA) 8 种单糖组成, 摩尔比为 29.1 : 25.6 : 16.5 : 9.3 : 6.7 : 6.1 : 4.1 : 2.6, 分子中主要含有 $\rightarrow 4$ GalA (1 $\rightarrow$ 、 $\rightarrow 4$) Glc (1 $\rightarrow$ 和 $\rightarrow 4$) Gal (1 $\rightarrow$ 糖苷键, 在半乳糖的 C6 位存在分支结构。CP50 能显著抑制 α -葡萄糖苷酶活性, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 3.3 μ g/mL, 远小于抗 2 型糖尿病药物阿卡波糖 (193.6 μ g/mL), 属于混合非竞争性抑制。结论 CP50 单糖种类多、结构复杂, 属于果胶类酸性多糖, 且具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 具有潜在的开发应用价值。

关键词: 青钱柳叶; 多糖; 结构表征; α -葡萄糖苷酶抑制活性; 混合非竞争性抑制

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)08-1524-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.08.008

Structural characterization of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves and its α -glucosidase inhibitory effect

WANG Xiao-jiang¹, SHAN Xin-di¹, HU Ming-hua³, CAI Chao¹, ZHAO Xiao-liang¹, FAN Luo-di³, LV You-jing^{1,2}, HAO Jie-jie¹, LI Guo-yun¹, YU Guang-li^{1,2}

1. Shandong Provincial Key Laboratory of Glycoscience and Glycotechnology, School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

2. Marine Biomedical Research Institute of Qingdao, Qingdao 266061, China

3. Infinite Pole (China) Co., Ltd., Guangzhou 510600, China

Abstract: Objective To extract and isolate polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves, characterize its structural features and study its α -glucosidase inhibitory effect. **Methods** *C. paliurus* polysaccharide (CP50) was isolated and purified by water extraction and ethanol precipitation, deproteinization with 732 cation exchange resin and 50% ethanol precipitation. Molecular weight of CP50 was determined by high performance gel permeation chromatography-multiple angle laser light scattering (HPGPC-MALLS), and monosaccharide composition was analyzed by HPLC with PMP (1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone) pre-column derivatization. The structure of CP50 was characterized by methylation, Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), and proton nuclear magnetic resonance spectrum (¹H-NMR), respectively. The α -glucosidase inhibitory effect of CP50 was investigated by PNPG method. **Results** The molecular weight of CP50 was 59 000. It contained eight kinds of monosaccharides including galacturonic acid, glucose, galactose, arabinose, mannose, xylose, rhamnose, and glucuronic acid with molar ratio of 29.1 : 25.6 : 16.5 : 9.3 : 6.7 : 6.1 : 4.1 : 2.6. CP50 was mainly composed of $\rightarrow 4$ GalA (1 $\rightarrow$, $\rightarrow 4$) Glc (1 $\rightarrow$ and $\rightarrow 4$) Gal (1 $\rightarrow$ with branches at C-6 position of galactose. Furthermore, our results

收稿日期: 2017-01-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31670811); 山东省科技重大专项 (2015ZDJS04002); 山东省泰山学者工程专项; 山东省重点实验室联盟项目资助

作者简介: 王小江 (1988—), 男, 在读硕士, 研究方向为多糖化学。Tel: (0532)82031790 E-mail: linrewon@foxmail.com

*通信作者 于广利 (1964—), 男, 教授, 从事糖化学与糖药理学研究。Tel: (0532)82031609 E-mail: glyu@ouc.edu.cn

showed that CP50 exhibited a potent inhibitory effect on α -glucosidase, and the value of IC_{50} was determined to be 3.3 $\mu\text{g/mL}$ which was much lower than the anti-type 2 diabetes drug acarbose (193.6 $\mu\text{g/mL}$). The inhibitory mode belongs to the mixed noncompetitive inhibition. **Conclusion** CP50 is a pectin-like acidic polysaccharide with complex structure. Moreover, CP50 possesses better α -glucosidase inhibitory effect and potential value for the drug development and utilization.

Key words: leaves of *Cyclocarya paliurus*; polysaccharide; structure characterization; α -glucosidase inhibitory activity; mixed noncompetitive inhibition

青钱柳 *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja 又名青钱李、山麻柳等,系胡桃科 (Juglaruiaceae) 青钱柳属 *Cyclocarya Iljinskaja* 植物,是中国特有的单种属植物,也是国家重点保护的濒危植物之一,广泛分布于江西、广西、四川、贵州、湖北等地^[1]。据《中国中药资源志要》记载,其树皮、树叶具有清热消肿、止痛功能,可用于治疗顽癣^[2]。青钱柳叶泡出的茶汤甘甜滋润,生津止渴,被认为具有清热解暑、防病治病和延年益寿等功效,故又被当地老百姓称为“甜茶、神茶”^[3]。Xie 等^[4-5]从青钱柳叶中分离出一种相对分子质量为 1.167×10^6 的多糖,主要由葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、鼠李糖、半乳糖组成。Yang 等^[6]利用大孔树脂 D301R 对该类多糖进行纯化,得到 2 个相对分子质量分别为 1.35×10^5 和 9 340 的多糖,主要由葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖和鼠李糖组成,糖醛酸的量很低。研究表明,青钱柳叶多糖具有调血脂^[6]、降血糖^[7-8]、抗氧化^[9]、抗肿瘤^[5,10]等生物活性。临床常用降血糖药物阿卡波糖通过抑制 α -葡萄糖苷酶活性发挥作用,但同时存在肝损伤等许多副作用^[7],促使寻找活性更高而副作用小的替代物。青钱柳叶多糖由于其良好的降糖功效且无毒副作用^[11]而引起本课题组的关注,目前对其精细结构及降血糖作用机制的研究报道仍然较少。本实验以热水浸提、乙醇沉淀的方法从青钱柳叶中提取粗多糖,再经 732 阳离子交换树脂脱蛋白和 50%乙醇沉淀得到青钱柳叶多糖 CP50,并采取多种手段对其结构进行表征,同时评价其对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性,以期阐明该类多糖的结构与降血糖作用机制,为其进一步开发利用提供数据支撑。

1 仪器与材料

青钱柳叶由无限极(中国)有限公司提供,2014 年 10 月购自江西修水县,经中国海洋大学刘红兵教授鉴定为胡桃科青钱柳属植物青钱柳 *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja 的成熟叶片。单糖标准品甘露糖(Man)、鼠李糖(Rha)、葡萄糖醛酸(GlcA)、半乳糖醛酸(GalA)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、

木糖(Xyl)、阿拉伯糖(Ara)及 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)、4-硝基酚- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)、 α -葡萄糖苷酶、阿卡波糖、二甲基亚砜(DMSO)、氢化钠(NaH)、碘甲烷(CH_3I)等购自美国 Sigma-aldrich 公司;硼氘化钠(NaBD_4)、2-吗啉乙磺酸(MES)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)等购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

LABOFUGE 400 R 型离心机、ISQ1300 气相色谱/质谱联用仪(GC/MS),美国 Thermo Scientific 公司;Agilent 1260 型高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司;DAWN HELEOS II 型,美国 Wyatt 公司;Agilent DD2 500 MHz 超导核磁共振波谱仪,美国 Agilent 公司;Nexus 470 傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR),美国 Nicolet 公司;Elx808 型酶标仪,美国 BioTek 公司。

2 方法

2.1 多糖的提取^[12]

青钱柳叶 100 g,粉碎后过 40 目筛,按料液比 1:10 加入蒸馏水,于 80 $^{\circ}\text{C}$ 提取 3 次,每次 2 h,离心(4 500 r/min, 10 min)合并收集上清液,50 $^{\circ}\text{C}$ 真空减压浓缩至 500 mL。加入 4 倍体积的无水乙醇,4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 8 h,离心(10 000 r/min, 10 min),收集沉淀后 50 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,得青钱柳叶粗多糖。

2.2 多糖的分离纯化

将 732 阳离子交换树脂按文献方法^[13]预处理,装填于 55 mm $\times$ 15 cm 色谱柱,上样前用 3 mmol/L 的盐酸溶液平衡 3 个柱体积(CV)。称取青钱柳叶粗多糖 500 mg,用 3 mmol/L 盐酸溶液溶解,配成 10 mg/mL 溶液,离心(10 000 r/min, 10 min),取上清上样。用 3 mmol/L 的盐酸溶液洗脱 3 CV,中和后,真空浓缩,装入截留相对分子质量为 7 000 的透析袋中透析 48 h,浓缩后冻干。称取冻干样品 100 mg,用超纯水配成 10 mg/mL 溶液,加入 1 CV 无水乙醇,离心(10 000 r/min, 10 min),收集沉淀,复溶后冻干得青钱柳叶纯化多糖(CP50)。

2.3 总糖及糖醛酸定量测定

采用硫酸-苯酚法^[14]测定青钱柳叶总多糖的量;采

用硫酸-咔唑法^[15]测定青钱柳叶多糖中糖醛酸的量。

2.4 纯度及相对分子质量测定

采用文献报道^[16]的色谱条件,运用高效凝胶渗透色谱法-十八角激光光散射法(HPGPC-MALLS)联用测定 CP50 相对分子质量。

2.5 单糖组成分析

采用文献报道^[17]的色谱条件,运用 PMP 柱前衍生高效液相色谱法测定 CP50 的单糖组成。

2.6 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)分析

将 CP50 置于 P₂O₅ 干燥器中减压干燥 36 h,取 1~2 mg 经 KBr 压片,进行红外光谱分析(扫描范围为 400~4 000 cm⁻¹)。

2.7 核磁共振氢谱(¹H-NMR)分析

取 20 mg CP50,用 500 μL D₂O 溶解,冻干,重复 3 次。复用 500 μL D₂O 溶解后加入 2 mL 核磁管中,Agilent DD 500 MHz 超导核磁共振波谱仪,25 °C 下测定其 ¹H-NMR 谱,以氘代 DMSO 作为内标。

2.8 甲基化分析

采用改良的碳二亚胺-硼氢化钠(EDC-NaBD₄)法,参考文献方法^[18]还原糖醛酸。采用改良的 Hakomori 法^[19]进行甲基化分析。

2.9 α-葡萄糖苷酶抑制活性及抑制模式分析

参考文献方法^[20-21],采用 PNPG 为底物的筛选模型评价 α-葡萄糖苷酶抑制活性。采用双倒数作图法,判断抑制反应类型。

3 结果与分析

3.1 基本理化性质分析

青钱柳叶粗多糖的提取得率为 4.5%,纯化后的青钱柳叶多糖得率为 0.17%。青钱柳叶粗多糖颜色呈棕褐色,经 732 树脂除蛋白及脱色纯化后变为浅黄色,该现象与文献报道^[22]相符。纯化后的 CP50 总糖的量为 61.5%,糖醛酸的量为 45.5%,鉴于 CP50 中糖醛酸的量较高,推测其为果胶类多糖。

3.2 相对分子质量与纯度分析

从 CP50 的 HPGPC 图(图 1)可看出,其峰形对称说明多糖的相对分子质量均一且纯度较高。经计算 CP50 的相对分子质量为 59 000,与已有文献报道^[4,6]的青钱柳叶多糖相对分子质量存在较大差异,这可能与多糖的提取、分离纯化方法有关。

3.3 单糖组成分析

采用 PMP 柱前衍生 HPLC 法对 CP50 的单糖组成进行分析,结果表明(图 2),CP50 主要由 GalA、Xyl 和 Ara。依据标准单糖出峰时间确定单糖种类,

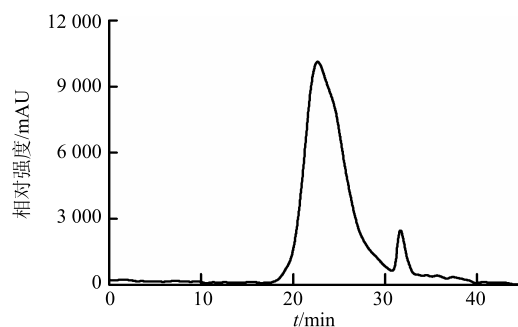


图 1 CP50 的 HPGPC 分析图

Fig. 1 HPGPC analysis of CP50

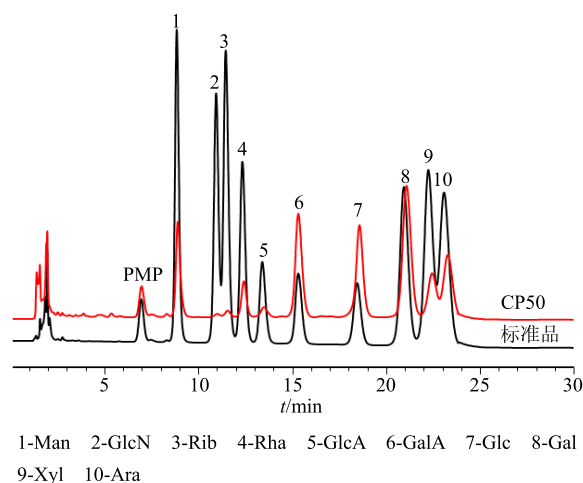


图 2 CP50 单糖组成 HPLC 分析图

并根据峰面积计算各单糖摩尔比,结果如表 1 所示, GalA、Glc 和 Gal 的摩尔比分别在 29.1%、25.6%和 16.5%。这与已有文献数据^[4,6]存在差异, GalA、Gal 的量高,进一步推测 CP50 为果胶类多糖。

3.4 FT-IR 分析

CP50 的 FT-IR 图(图 3)中主要吸收峰归属如下^[4-5]: 3 340 cm⁻¹为糖的 O-H 伸缩振动, 2 936 cm⁻¹为 C-H 伸缩振动, 1 601 cm⁻¹为糖醛酸的 COO⁻非对称伸缩振动, 1 419 cm⁻¹为 COO⁻对称伸缩振动, 1 333 cm⁻¹为 C-O 伸缩振动, 893 cm⁻¹提示 β-糖苷键存在, 838 cm⁻¹提示 α-葡萄糖苷键存在。1 239、1 145、1 099、1 017、956 cm⁻¹表明含有吡喃糖,

表 1 CP50 单糖组成与摩尔比

Table 1 CP50 monosaccharide composition and molar percentages

单糖	摩尔比/%	单糖	摩尔比/%
GalA	29.1	Man	6.7
Glc	25.6	Xyl	6.1
Gal	16.5	Rha	4.1
Ara	9.3	GlcA	2.6

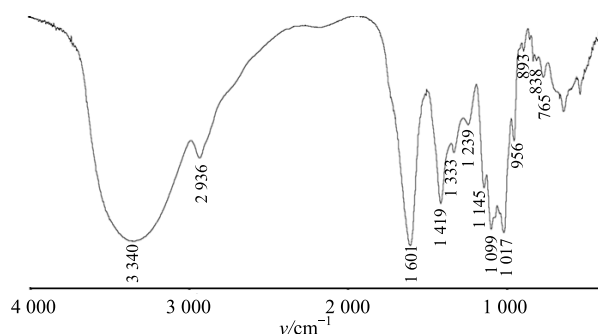


图3 CP50 的 FT-IR 图

Fig. 3 Fourier transform infrared spectroscopy of CP50

765 cm^{-1} 的存在表明有 *D*-木糖。

3.5 ^1H -NMR 分析

CP50 的 ^1H -NMR 图如 4 所示。 α 型吡喃糖的异头碳上质子的化学位移通常高于 5.0, 而 β 型则低于 5.0, 由此可见 CP50 中的多糖以 α 构型为主。对主要氢信号归属如下^[4,23]: δ 5.26 为 α -*D*-Glc_p 的 H-1 信号; δ 5.11、3.85、3.94 分别为 α -*D*-GalA 的 H-1、2、3 信号, δ 5.06 为 α -*L*-Araf 的 H-1 信号, δ 4.97~4.91 为 β 构型的 *D*-Glc_p 和 *D*-Gal_p 的 H-1 信号, δ 1.16 为 α -*L*-鼠李糖的甲基氢信号, δ 2.58 为 DMSO 溶剂峰, δ 1.95 可能为多糖中仍然含有的少量蛋白质的氢信号。

3.6 甲基化分析

CP50 是一类糖醛酸量高的杂多糖, 不能直接进行甲基化。首先采用改良的 EDC- NaBD_4 法对糖醛酸进行还原, 还原后的半乳糖醛酸变成氘代半乳糖, 在甲基化分析时碎片离子质量数增加 2。通过单糖量的测定确定糖醛酸还原情况, 结果表明糖醛酸还原完全且各单糖组成比例变化不大。对还原后的样品进行甲基化分析, 发现甲基化多糖在 IR 图谱中

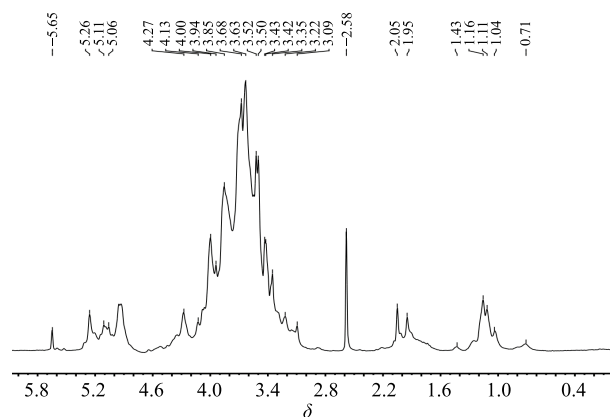


图4 CP50 的 ^1H -NMR 图

Fig. 4 ^1H -NMR spectrum of CP50

3 400 cm^{-1} 处的羟基吸收峰消失, 说明甲基化完全。经三氟乙酸水解、硼氘化钠还原及乙酰化后, 进行 GC-MS 分析。CP50 的单糖种类较多, 存在多种形式的同分异构体, 这增加了确定其多糖连接方式和所占比例的难度。对 CP50 甲基化后的离子碎片归属如表 2 所示, CP50 以 1,4-连接为主, 还有少量 1,6-连接和 1,2-连接, α -*D*-Gal_pA 通过 1,4 糖苷键连接构成果胶多糖的 HG 区, β -*D*-Gal_p 通过 1,4-糖苷键连接构成果胶多糖的 AG-I 侧链, 这些结果也说明 CP50 为果胶类成分。

表 2 CP50 甲基化分析结果

Table 2 Results of methylation analysis of CP50

离子碎片 (m/z)	连接方式
89, 102, 118, 131, 162, 175	Rhap (1→
87, 102, 118, 129, 145, 162, 205	Manp (1→
87, 102, 118, 131, 147, 162, 207	Galp (1→ (来自 GalpA)
88, 101, 130, 161, 190	→2) Araf (1→
102, 118, 129, 162, 189, 233	→6) Galp (1→或→6) Glcp (1→
87, 102, 129, 162, 175, 235	→4) Galp (1→ (来自 GalpA)
87, 102, 118, 129, 162, 173, 233	→4) Galp (1→或→4) Glcp (1→或
	→4) Manp (1→
102, 118, 127, 261	→4,6) Galp (1→

3.7 α -葡萄糖苷酶抑制活性分析

此前, 有文献推测^[24], 青钱柳叶水提物可能通过抑制 α -葡萄糖苷酶活性起到降血糖的作用。本研究结果显示 (图 5), 青钱柳叶多糖 CP50 能显著抑制 α -葡萄糖苷酶活性, IC_{50} 值达到 3.3 $\mu\text{g/mL}$, 远远低于临床常用的葡萄糖苷酶抑制剂阿卡波糖 (IC_{50} 为 193.6 $\mu\text{g/mL}$)。在此基础上, 本研究还采用双倒数作图法进一步确定了 CP50 的抑制方式属于混合非竞争性抑制性 (图 6), 该结果与文献报道一致^[20]。

4 讨论

本实验从青钱柳叶中分离纯化获得了 1 种相对

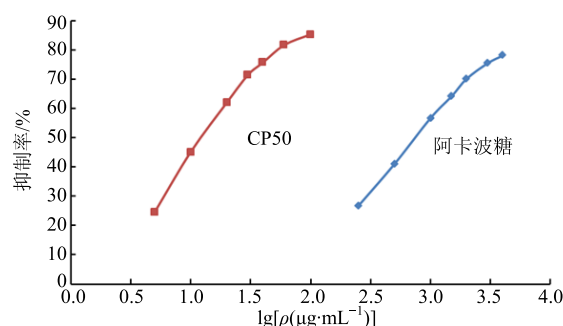


图5 CP50 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

Fig. 5 Inhibitory effect of CP50 on α -glucosidase

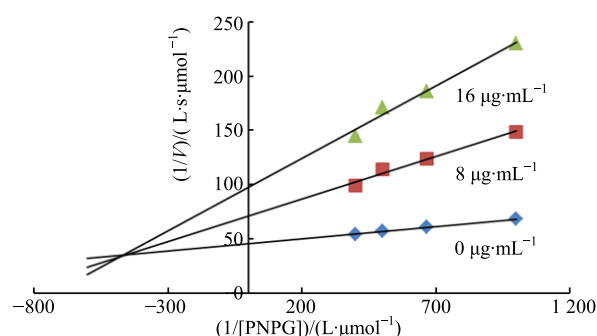


图 6 CP50 对 α -葡萄糖苷酶抑制作用双倒数酶动力学曲线
Fig. 6 Double reciprocal plots for kinetic analysis of α -glucosidase inhibition by CP50

分子质量为 59 000 的酸性多糖 CP50，经甲基化/GC-MS、红外波谱、氢核磁共振波谱等对其结构进行分析表征，证明其是 1 种由 8 种单糖组成、具有分支结构的果胶类物质。本实验得到的多糖与文献报道的多糖在单糖组成、相对分子量及结构特点等方面存在明显差异，可能与青钱柳叶采集的时间和季节不同有关^[25]。本实验所得到的多糖 CP50 具有显著的抑制 α -葡萄糖苷酶活性，为青钱柳叶多糖用于抗 2 型糖尿病药物开发提供了理论基础。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第二十一卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 中国药材总公司. 中国中药资源志要 [M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [3] 谢明勇, 李 磊. 青钱柳化学成分和生物活性研究概况 [J]. 中草药, 2001, 32(4): 365-366.
- [4] Xie J H, Xie M Y, Nie S P, *et al.* Isolation, chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja [J]. *Food Chem*, 2010, 119(4): 1626-1632.
- [5] Xie J H, Liu X, Shen M Y, *et al.* Purification, physicochemical characterization and anticancer activity of a polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves [J]. *Food Chem*, 2013, 136(3/4): 1453-1460.
- [6] Yang Z W, Ouyang K H, Zhao J, *et al.* Structural characterization and hypolipidemic effect of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide in rat [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 91(10): 1073-1080.
- [7] 上官新晨, 陈木森, 蒋 燕, 等. 青钱柳多糖降血糖活性的研究 [J]. 食品科技, 2010, 35(3): 82-84.
- [8] Wang Q Q, Jiang Q H, Fang S Z, *et al.* Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of ethanol and aqueous extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves in type 2 diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(3): 1119-1127.

- [9] Tang W, Lin L H, Xie J H, *et al.* Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 151(18): 305-312.
- [10] 刘 昕, 王顺启, 谢明勇, 等. 青钱柳多糖对人宫颈癌 HeLa 细胞和人脐带内皮细胞生长的影响 [J]. 食品科学, 2007, 28(10): 520-522.
- [11] Deng L H, Lei J D, He J, *et al.* Evaluation on genotoxicity and teratogenicity of aqueous extract from *Cyclocarya paliurus* leaves [J]. *The Scientific World J*, 2014, 2014: 498134.
- [12] Xie J H, Shen M Y, Nie S P, *et al.* Separation of water-soluble polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* by ultrafiltration process [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 101(3): 479-483.
- [13] 陈巧巧, 萧 伟, 万 琴, 等. 阳离子交换树脂去除人参多糖中蛋白质的研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 910-914.
- [14] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Anal Chem*, 1956, 28(3): 350-356.
- [15] Bitter T, Muir H M. A modified uronic acid carbazole reaction [J]. *Anal Biochem*, 1962, 4(4): 330-334.
- [16] Zhang X, Zhao X L, Lang Y Z, *et al.* Low anticoagulant heparin oligosaccharides as inhibitors of BACE-1, the Alzheimer's β -secretase [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 151(18): 51-59.
- [17] Shan X D, Liu X, Hao J J, *et al.* *In vitro* and *in vivo* hypoglycemic effects of brown algal fucoidans [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 82(11): 249-255.
- [18] 刘丽丽, 张玉倩, 韩现伟, 等. 酸性多糖中糖醛酸还原方法的改良 [J]. 中国海洋药物, 2014, 33(4): 1-7.
- [19] 丛大鹏, 郝杰杰, 祝 贺, 等. 1 种 β -葡聚糖的结构表征及其体外免疫活性研究 [J]. 中国海洋药物, 2015, 34(5): 1-6.
- [20] 沈 兵, 赵 巍, 欧文斌, 等. 青钱柳中 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究 [J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2014, 40(3): 275-280.
- [21] 丁 琅, 郝杰杰, 单鑫迪, 等. 拟小叶喇叭藻和喇叭藻多糖对 α -葡萄糖苷酶活性的影响 [J]. 中国海洋药物, 2016, 35(3): 81-86.
- [22] 陈木森, 上官新晨, 徐睿庸. 大孔树脂纯化青钱柳多糖的研究 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(4): 275-278.
- [23] 栾晓红, 赵 峡, 王清池. 缢蛏多糖的提取、分离和结构分析 [J]. 中国海洋药物, 2015, 34(2): 22-28.
- [24] Hiroshi K, Harukazu F, Aki K, *et al.* Hypoglycemic action of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) iljinskaja in normal and diabetic mice [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 67(4): 877-888.
- [25] Fu X X, Zhou X D, Deng B, *et al.* Seasonal and genotypic variation of water-soluble polysaccharide content in leaves of *Cyclocarya paliurus* [J]. *South Forests*, 2015, 77(3): 231-236.