

文章编号: 1001-1498(2009)02-0256-06

# 蟑螂水溶性多糖提取、分析及免疫活性研究<sup>\*</sup>

孙龙, 冯颖<sup>\*\*</sup>, 何钊, 陈智勇, 陈晓鸣

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所; 国家林业局资源昆虫培育与利用重点实验室, 云南 昆明 650224)

**摘要:**采用正交实验设计,以多糖含量为指标,对蟑螂水溶性多糖进行碱液和酶解提取研究;通过离子交换层析、凝胶层析对提取的多糖进行分级纯化,并对所得组分进行纯度鉴定和单糖分析;同时考察蟑螂粗多糖对正常小鼠的免疫活性。结果表明:酶解法提取的多糖含量较高,最佳实验条件是提取温度 50℃、酶量 200 μg·g<sup>-1</sup>,提取时间 2 h。在此最佳实验条件下所得蟑螂多糖粗品中总糖含量为 80 g·kg<sup>-1</sup>,蛋白含量为 423 g·kg<sup>-1</sup>,氨基酸总量为 333.4 g·kg<sup>-1</sup>;纯化后初步获得一个组分 PW SPSC-2,多糖含量 458 g·kg<sup>-1</sup>,蛋白含量 392 g·kg<sup>-1</sup>,单糖组成 Xyl Ara Glu Man Gal GlcUA GaUA = 1.0 1.7 38.1 14.6 15.6 2.9 1.3;免疫活性实验显示,蟑螂粗多糖可以显著提高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬指数、吞噬百分率及血清溶血素,表明蟑螂粗多糖可以明显增强小鼠的非特异性免疫和体液免疫功能。

**关键词:**蟑螂;多糖;正交实验;免疫功能

中图分类号: R184.39

文献标识码: A

## Study on Extraction, Analysis of Water-soluble Polysaccharide from Cockroaches and Its Immunologic Activities

SUN Long, FENG Ying, HE Zhao, CHEN Zhi-yong, CHEN Xiao-ming

(Research Institute of Resource Insects, CAF; Key Laboratory of Cultivation and Utilization of Resource Insects, State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract:** The extraction, analysis of water-soluble polysaccharide from cockroaches (W SPSC) were studied. The optimum extracted conditions were obtained by using orthogonal design L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>). The result showed that the enzyme method to be better than alkaline solution and the optimum conditions were as follows: temperature 50℃, Papain 200 μg·g<sup>-1</sup>, time 2 hours. Under these conditions, the contents of total polysaccharide, protein and amino acids in extractives was 80 g·g<sup>-1</sup>, 423 g·g<sup>-1</sup> and 333.4 g·g<sup>-1</sup> respectively. The component sugars of purified fraction PW SPSC-2 were xylose, arabinose, glucose, mannose, galactose, glucuronic acid and in molar ratio of 1.0 1.7 38.1 14.6 15.6 2.9 1.3. The immunological test in normal mice showed that the polysaccharide of cockroaches could increase significantly the phagocytic percentage and index of macrophage, enhanced remarkably the hemolysin antibody, which indicates W SPSC has evident non-specific and humoral immune activities.

**Key words:** cockroach; polysaccharide; orthogonal design; immunologic activities

多糖是机体内的天然大分子之一,在自然界广泛分布于高等植物、动物、微生物、海藻、真菌等体内。多糖具有增强机体免疫、抗肿瘤、抗衰老、降血糖等多方面的生物活性,因而受到人们的广泛关注<sup>[1]</sup>。目前,国内

收稿日期: 2008-11-15

基金项目: 国家林业局引进国外先进农业技术项目“资源昆虫体内活性物质诱导及提取技术引进”(20064116)、“十一五”国家科技支撑计划重点项目“特产资源高效利用关键技术研究示范”项目(2006BAD06B07)的部分研究内容

作者简介: 孙龙(1977—):新疆伊犁人,在读博士,助理研究员,主要从事资源昆虫利用方面的研究。

<sup>\*</sup>免疫活性实验在昆明医学院天然药物重点实验室完成,特此致谢!

<sup>\*\*</sup>通讯作者。

外研究最多的是真菌多糖,药用植物多糖次之,动物多糖相对较少,昆虫多糖仅见零星报道<sup>[2]</sup>。笔者曾对蚕蛹多糖作过研究,实验结果表明该多糖和真菌多糖、植物多糖一样具有较好的免疫调节功能<sup>[3]</sup>。

蟑螂,学名为蜚蠊,属于昆虫纲蜚蠊目(Blattodea)蜚蠊科(Blattidae),作为药用最早载于《神农本草经》,主治“瘀血症坚、寒热、破积聚、喉咽痹、内寒无子<sup>[4-5]</sup>”,在历代重要本草典籍如《新修本草》《本草纲目》《本草纲目拾遗》中均有收载,近代许多药学专著中也有记述<sup>[6]</sup>。现代科学研究表明蜚蠊黏多糖具有抗癌、抗过敏、治疗妇科疾病、肝炎、肝损伤等方面的功效<sup>[7-11]</sup>。但是当前的研究多以蟑螂的乙醇提取物为主,碱液提取和蛋白酶水解的文献未见报道。本实验以蟑螂为原料,采用不同方法对存在于其体内的水溶性多糖进行提取、分离和分析,并初步考察了粗多糖的免疫活性,为进一步提高蟑螂的药用价值提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

蟑螂:采自云南省元江县,标本经本所鉴定为 *Periplaneta americana* Linnaeus。

实验动物:SPF级 ICR 小鼠,5~6 周龄,体质量 18~22 g;豚鼠;均由昆明医学院实验动物中心提供。

主要试剂:木瓜蛋白酶,氢氧化钠,盐酸,硫酸,苯酚,氯化钠,95%乙醇,无水乙醇,葡萄糖,BMP 试剂等均为国产分析纯;牛血清白蛋白(Signa公司);0.9%注射用氯化钠溶液;瑞氏染液;0.5 mg·mL<sup>-1</sup> PHA 液;DEAE-Sephrose, Sephadex G-100 柱层析用(瑞典 Pharmacia 公司)

### 1.2 方 法

1.2.1 蟑螂粗多糖提取条件研究 原料预处理:蟑螂虫体 50 烘干,粉碎,按照原料:石油醚=1:3(W/V)加入石油醚脱脂,室温浸泡 8~12 h,过滤,滤渣重复浸提两次,室温下晾干。多糖提取:采用碱液提取和蛋白酶水解法进行,对两种方法均设计 3 因素 3 水平正交试验,见表 1、表 2。取适量经过预处理的蟑螂粉末,以料液比 1:10 的量加入碱液和蒸馏水,恒温水浴加热,按设计条件进行试验。重复一次,合并两次提取液,过滤,滤液用盐酸调 pH 值 7.0,于

下浓缩至适当体积,4 倍体积 95%乙醇沉淀,4 冰箱内过夜,离心,沉淀用无水乙醇洗涤两次,低温干燥得粗多糖。测定多糖含量,确定最佳方案。多

糖含量测定 采用苯酚-硫酸法<sup>[12]</sup>进行检测,以葡萄糖作标准曲线。

表 1 碱液提取的因素和水平

水平	因素		
	A	B	C
	碱液浓度/(mol·L <sup>-1</sup> )	提取温度/	提取时间/h
1	0.01	60	1
2	0.02	70	2
3	0.03	80	3

表 2 蛋白酶水解的因素和水平

水平	因素		
	A	B	C
	提取温度/	酶用量/(μg·mL <sup>-1</sup> )	提取时间/h
1	40	100	1
2	50	200	2
3	65	300	3

1.2.2 粗多糖中蛋白质及氨基酸分析 蛋白质采用福林-酚法<sup>[13]</sup>;氨基酸采用氨基酸自动分析仪检测。

1.2.3 粗多糖分离纯化 脱蛋白、脱色:粗多糖配成 1%溶液,加入 1/4 体积的 10%三氯乙酸溶液,4 冰箱过夜,4 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min 去沉淀,上清液调 pH=8.0~9.0,加入 1/4 体积的 30%的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液,50

下搅拌 2 h,冷却至室温,调溶液 pH 中性后浓缩,4 倍体积 95%乙醇沉淀,4 冰箱内过夜,离心,沉淀用无水乙醇洗涤两次,低温干燥。柱色谱纯化:取脱蛋白脱色处理后的多糖复溶于蒸馏水中,5 000 Da 分子量超滤仪浓缩,截流液上预处理好的 DEAE-Sephrose Fast Flow 离子交换柱(2.6 cm×50 cm),0.1、0.5 mol·L<sup>-1</sup>的 NaCl 溶液阶段梯度洗脱,速度为 1.1 mL·min<sup>-1</sup>,每管收集 7 min,隔管用苯酚-硫酸在 490 nm 处检测多糖。按洗脱峰收集合并洗脱液,浓缩至小体积后进一步用 Sephadex G-100 凝胶柱(2.6 cm×50 cm)分离纯化,蒸馏水为流动相,洗脱速度 0.4 mL·min<sup>-1</sup>,每管收集 15 min,苯酚-硫酸法跟踪检测,分段收集,冷冻干燥得多糖纯化产品。纯度鉴定:采用 Sephadex G-100 凝胶色谱法。

1.2.4 单糖组分分析 多糖衍生及测定方法参考文献[14],电泳缓冲液为 75 mmol·L<sup>-1</sup>硼砂溶液(pH=10.20),电压 20 kv,电泳条件:熔融石英毛细管(50 μm×48 cm),波长 245 nm,多糖样品配成 2 mg·mL<sup>-1</sup>溶液,压力进样 5 s,所有溶液使用前 0.45 μm 膜过滤。

1.2.5 蟑螂粗多糖对小鼠免疫功能的影响<sup>[15]</sup>

(1)小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能测定:健康 SPF 级

CR小鼠 32只,雌雄各半,随机分成对照组及低(20 mg·kg<sup>-1</sup>)、中(40 mg·kg<sup>-1</sup>)、高(80 mg·kg<sup>-1</sup>)剂量组,每组 8只。受试组按 20 mL·kg<sup>-1</sup>体质量的剂量每日尾静脉注射供试蟑螂多糖,对照组同途径给予等体积的生理盐水,连续一周。末次给药后每鼠腹腔注射 5%鸡红细胞(CRBC)0.5 mL,3 h后颈椎脱臼处死小鼠,剪开腹腔皮肤,腹腔注射 0.9%氯化钠溶液 2 mL,轻揉小鼠腹部。吸取腹腔冲洗液滴片,放入垫有湿纱布的搪瓷盘内,于 37 ℃温育 30 min,孵毕,于生理盐水中漂去未被吞噬的 CRBC及其他细胞,吹干,甲醇溶液固定 5 min,晾干后,瑞氏染色 30 min,油镜下观察,计算吞噬百分率和吞噬指数。(2)小鼠淋巴细胞转化率测定:小鼠给药方式和时间同 1.2.5(1)。于给药的第 1~3天每日肌内注射 PHA 20 mL·kg<sup>-1</sup>,剂量为 10 mg·kg<sup>-1</sup>体质量。末次给药后剪尾,取血推片,瑞氏染色,油镜下观察,计数淋巴细胞 100个,计算淋巴细胞转化率。(3)小鼠血清溶血素测定:每鼠腹腔注射 5% CRBC 0.2 mL免疫后,给药方式和时间同 1.2.5(1)。末次给药后摘眼球取血,离心,取血清用生理盐水稀释 100倍,取稀释血清 1 mL,与 5% CRBC 0.5 mL、10%补体 0.5 mL混合,在 37 ℃恒温箱中保温 30 min后,0 ℃冰箱中中止反应。离心,取上清液测光密度(OD值)。(4)统计方法:试验数据用 SPSS 11.0 进行统计分析,计量资料选用方差分析或秩和检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 蟑螂多糖最佳提取方法

以多糖含量为指标,蟑螂多糖碱提及酶解正交实验结果如表 3、表 4所示:

表 3 碱液提取试验及结果

实验号	A 碱液浓度 / (mol·L <sup>-1</sup> )	B 提取温度 / ℃	C 提取时间 / h	多糖含量 / (g·kg <sup>-1</sup> )
1	0.01	60	1	43.0
2	0.01	70	2	65.7
3	0.01	80	3	49.0
4	0.02	60	2	58.9
5	0.02	70	3	66.0
6	0.02	80	1	51.2
7	0.03	60	3	40.2
8	0.03	70	1	33.1
9	0.03	80	2	34.5
以多糖含量为评价指标				
K1	52.6	47.4	42.4	
K2	58.7	54.9	53.0	
K3	35.9	28.1	51.7	
极差	22.8	26.8	10.6	

表 4 酶解提取试验及结果

实验号	A 提取温度 / ℃	B 酶用量 / (μg·g <sup>-1</sup> )	C 提取时间 / h	多糖含量 / (g·kg <sup>-1</sup> )
1	40	100	1	72.1
2	40	200	2	84.5
3	40	300	3	75.4
4	50	100	2	87.2
5	50	200	3	77.2
6	50	300	1	80.1
7	65	100	3	78.0
8	65	200	1	83.3
9	65	300	2	83.0
以多糖含量为评价指标				
K1	77.3	79.1	78.5	
K2	81.5	81.7	84.9	
K3	81.4	79.5	76.8	
极差	4.1	2.6	8.0	

从极差分析可以看出,蟑螂多糖碱提法中提取温度对多糖含量的影响最大,其次是碱液浓度,提取时间最小,实验的最佳组合是 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即碱液浓度为 0.02 mol·L<sup>-1</sup>,实验提取温度 70 ℃,提取时间为 2 h。据此最佳实验条件验证试验 3次,测定多糖含量,结果碱液提取的粗多糖含量平均为 66 g·kg<sup>-1</sup>;酶解法中,提取时间对结果影响最大,其次是提取温度,再次是酶用量,实验的最佳组合是 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>,即提取温度 50 ℃,酶量 200 μg·g<sup>-1</sup>,提取时间为 2 h。按此最佳实验条件对蟑螂多糖验证试验 3次,测定多糖含量,结果蛋白酶水解提取的粗多糖含量平均为 80 g·kg<sup>-1</sup>。考虑到酶解法获得的多糖含量较高,条件温和,且不会产生对环境有害的液体,有利于产业化成本的节约,所以,蟑螂多糖宜采用酶解法提取。

### 2.2 蛋白质与氨基酸分析

分析结果表明,所提多糖蛋白含量为 423 g·kg<sup>-1</sup>,含有 17种常见氨基酸,氨基酸总量达到 333.4 g·kg<sup>-1</sup>,见表 5。由此可见,粗多糖中含有较多的蛋白质,所得多糖可能是多糖-蛋白复合物。

表 5 蟑螂多糖氨基酸分析

氨基酸	含量 / (g·kg <sup>-1</sup> )	氨基酸	含量 / (g·kg <sup>-1</sup> )
天门冬氨酸 ASP	46.2	异亮氨酸 LEU	9.9
苏氨酸 THR	15.7	亮氨酸 LEU	14.1
丝氨酸 SER	16.6	酪氨酸 TYR	8.8
谷氨酸 GLU	71.5	苯丙氨酸 PHE	9.8
甘氨酸 GLY	29.7	赖氨酸 LYS	40.7
丙氨酸 ALA	18.6	组氨酸 HIS	7.2
胱氨酸 CYS	3.0	精氨酸 ARG	16.6
缬氨酸 VAL	14.3	脯氨酸 PRO	8.7
蛋氨酸 MET	2.0	氨基酸总量	333.4

### 2.3 多糖的分离纯化及纯度鉴定

蟑螂粗多糖经 DEAE-Sephrose Fast Flow 离子交换柱, 分离得到 WSPSC-1 和 WSPSC-2 两个组分, 如图 1。其中 WSPSC-1 出现在  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度 NaCl 溶液部分, 说明该组分与层析柱的吸附力较低, 是中性多糖或带有较少负电荷的酸性多糖, WSPSC-2 出现在  $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度 NaCl 溶液部分, 提示该组分带有较多的负电荷。对 WSPSC-2 进一步纯化, 合并主峰部分浓缩至小体积, 上 Sephadex G-100 层析柱, 蒸馏水洗脱, 得到单一峰, 如图 2, 冷冻干燥得淡黄色纯化产品 PWSPSC-2。该组分凝胶色谱检测, 流出曲线为单一对称峰, 说明为单一组分, 可见蟑螂粗多糖经阴离子交换层析和凝胶柱层析后可以达到组分纯化的目的。检测表明 PWSPSC-2 糖含量  $458 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 蛋白含量  $392 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 由此分析, PWSPSC-2 组分为糖蛋白复合物。

### 2.4 PWSPSC-2 组分单糖组成

单糖标准品混合液及 PWSPSC-2 经 PMP 衍生后毛细管电泳检测, 谱图见图 3。通过对比可知 PWSPSC-2 不含鼠李糖, 由木糖、阿拉伯糖、葡萄糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸 7 种单糖

组成, 根据积分面积计算其摩尔比为 1.0 1.7 38.1 14.6 15.6 2.9 1.3。

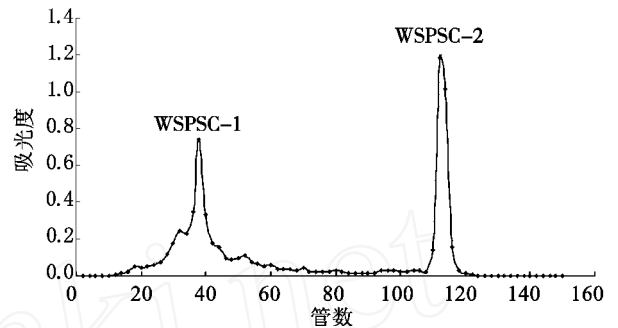


图 1 蟑螂多糖的 DEAE-Sephrose 柱洗脱曲线

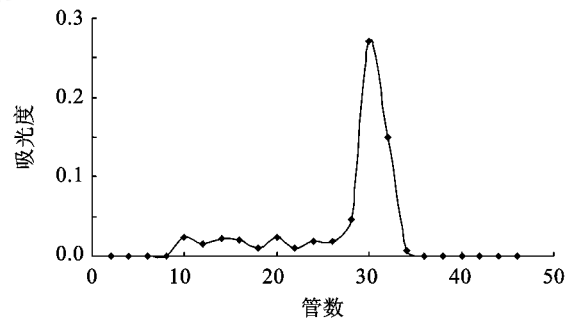


图 2 WSPSC-2 组分的 Sephadex G-100 凝胶柱洗脱曲线

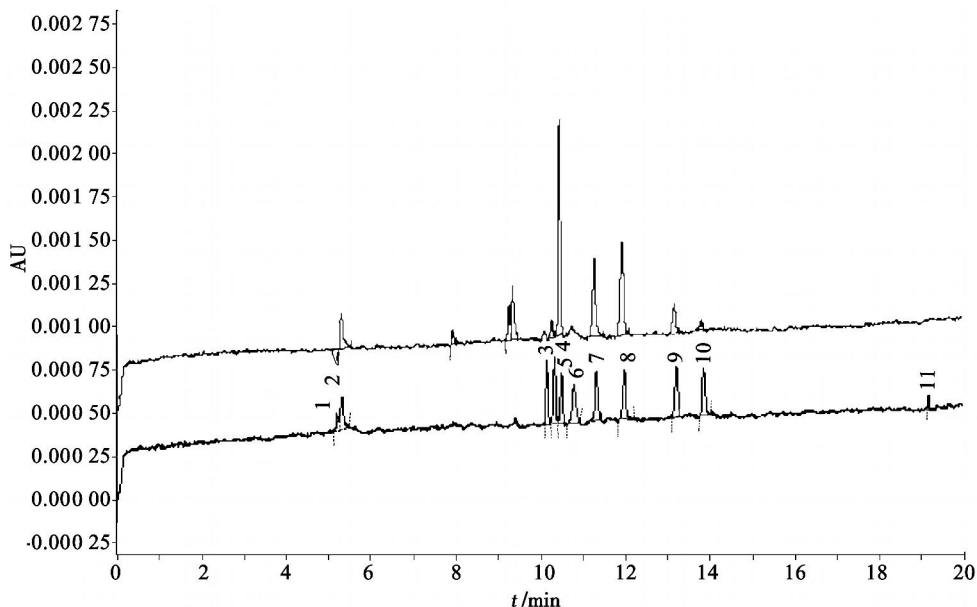


图 3 PWSPSC-2 及标准单糖混合液 PMP 衍生毛细管电泳谱图 (从上至下)

单糖衍生电泳图 (1, 2—衍生剂, 3—木糖, 4—阿拉伯糖, 5—葡萄糖, 6—鼠李糖, 7—甘露糖, 8—半乳糖, 9—葡萄糖醛酸, 10—半乳糖醛酸); 电泳条件:  $75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼酸缓冲液,  $\text{pH} = 10.20$ , 电压  $20 \text{ kv}$ , 检测波长  $245 \text{ nm}$

### 2.5 小鼠腹腔巨噬细胞功能和 PHA 刺激淋巴细胞转化率的测定

蟑螂粗多糖低、中、高剂量组均可提高小鼠吞噬

指数和吞噬百分率, 与对照组比较差异有显著性意义, 说明蟑螂粗多糖对小鼠体内腹腔巨噬细胞吞噬功能有明显的增强作用, 在中剂量时, 吞噬百分率和

吞噬指数达到峰值,效果最佳;蟑螂粗多糖在高剂量时小幅增加小鼠淋巴细胞的转化率,但与对照组相比差异不显著,低、中剂量组淋巴细胞的转化率与对照组相比差异无显著性意义,表明蟑螂粗多糖对小鼠的淋巴细胞无明显影响,见表 6。

表 6 蟑螂粗多糖对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响  
( $\bar{x} \pm SD, n = 8$ )

组别	剂量 / ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	淋巴细胞 转化率 / %	吞噬百分率 / %	吞噬指数
对照组	等容量 NS	0.79 $\pm$ 0.076	17.38 $\pm$ 3.38	23.88 $\pm$ 5.67
低剂量组	40	0.70 $\pm$ 0.087	30.88 $\pm$ 4.82*	35.75 $\pm$ 8.80*
中剂量组	80	0.75 $\pm$ 0.140	39.75 $\pm$ 8.84*/	44.00 $\pm$ 6.61*/
高剂量组	160	0.82 $\pm$ 0.077 /	28.00 $\pm$ 4.39*/	36.44 $\pm$ 9.89*

注: \*与对照组比较差异显著 ( $P < 0.01$ ), 与低剂量组比较差异显著 ( $P < 0.05$ ), 与中剂量组比较差异显著 ( $P < 0.05$ )

## 2.6 小鼠血清溶血素的测定

蟑螂粗多糖低、中、高剂量组可以显著提高小鼠血清溶血素的 OD 值,表明蟑螂粗多糖可以明显增强小鼠的体液免疫功能,见表 7。

表 7 蟑螂粗多糖对小鼠溶血素 OD 值的影响 ( $\bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量 / ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	动物数	OD 值
对照组	等容量 NS	8	0.0049 $\pm$ 0.0026
低剂量组	40	8	0.0690 $\pm$ 0.042*
中剂量组	80	8	0.0540 $\pm$ 0.030*
高剂量组	160	8	0.0510 $\pm$ 0.040*

## 3 结论与讨论

本实验采用碱液提取和蛋白酶水解两种方法对蟑螂多糖进行提取,通过对比,酶解法提取的多糖含量较高,更适合蟑螂多糖的提取,筛选出的最优方案是酶用量  $200 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,提取温度  $50^\circ\text{C}$ ,提取时间 2 h。在此条件下所得粗品中多糖含量  $80 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,蛋白含量  $423 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,含有常见的 17 种氨基酸,总量为  $333.4 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;纯化后得到 PW SPSC-2 组分,糖含量  $458 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,蛋白含量  $392 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,为糖-蛋白复合物,单糖组成 Xyl Ara Glu Man Gal GlcUA GaUA = 1.0 1.7 38.1 14.6 15.6 2.9 1.3;免疫活性实验结果显示,蟑螂粗多糖低、中、高剂量组可提高正常小鼠非特异性免疫功能和体液免疫功能,其中非特异性免疫还有剂量效应。

酶解法是近年来应用于中药提取的一项新技术,它可以有效地将植物组织分解,加速有效成分的溶出,从而提高提取效率<sup>[16]</sup>。与植物相比,动物体内含有更多的蛋白质。据文献报道,几乎所有动物

多糖都是与蛋白质共价结合,而不是物理或离子结合<sup>[17]</sup>。因此可采用蛋白酶降解蛋白质部分使蛋白质同多糖之间的键断裂开来以促进多糖溶解在提取液中,这可能是本实验中酶解法多糖含量高于碱液提取的原因之一。酶解法提取的多糖经分离纯化,所得 PW SPSC-2 组分仍然含有蛋白质,提示蟑螂多糖中的蛋白质不能完全去除,获得的蟑螂多糖纯化组分实际上是糖-蛋白的复合物。

多糖成分比较复杂,选择不同的溶剂、不同的提取方法,可以得到不同组分和活性的多糖。张惠玲、清水岑夫等曾报道不同的提取方法所得的茶多糖性状、纯度和生物活性不同<sup>[18-19]</sup>。从本实验结果来看,酶解法条件温和,没有破坏多糖的立体结构和生物活性,多糖依然保持了天然构象,所以蟑螂多糖具有和众多植物多糖类似的免疫调节活性。李树楠等从蟑螂体内提取的粘糖氨酸能增强机体的免疫功能<sup>[10]</sup>,但以醇提物为主,本实验研究结果说明蟑螂蛋白酶水解提取物同样具有较好的免疫活性,且方法简单易行,成本低廉。

多糖的免疫调节作用是当前多糖研究的重心课题之一。通常来说,评价一种天然产物是否具有增强免疫调节功能,至少要观察非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫功能各一种<sup>[15]</sup>。本研究中,蟑螂粗多糖低、中、高剂量组可提高正常小鼠非特异性免疫中的腹腔巨噬细胞吞噬功能和体液免疫中的溶血素水平,其中非特异性免疫还有剂量效应,说明蟑螂水溶性多糖具有较强的免疫调节作用,可以作为潜在的免疫治疗药物开发。蟑螂多糖纯化组分 W SPSC-1 和 W SPSC-2 的免疫活性如何有待进一步深入研究。

## 参考文献:

- [1] 王玉华,袁久荣. 中药多糖的化学研究概况 [J]. 中成药, 2004, 26(6): 496 - 498
- [2] 藏其中,万淑堂,何光星,等. 蚕蛹多糖的分离和分析 [J]. 中成药, 1992, 14(3): 35 - 36
- [3] 孙龙,冯颖,何钊,等. 蚕蛹多糖的碱液提取及免疫活性初步研究 [J]. 林业科学研究, 2007, 20(6): 782 - 786
- [4] 孙星衍. 神农本草经 [M]. 北京: 商务印书馆, 1955: 90
- [5] 何正春,彭芳,宋丽艳,等. 美洲大蠊化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(21): 2326 - 2331
- [6] 姚廉. 中药蜚蠊化学成分的研究 ( ) [J]. 天津药学, 1994, 6(3): 26 - 28
- [7] 蒋永新,王熙才,金从国,等. 康复新体外诱导胃癌 BGC-823 细胞凋亡的实验研究 [J]. 昆明医学院学报, 2006, 27(2): 5 - 9
- [8] 杜一民,李树楠,陈鸿珊,等. 新药肝胶胶囊对雏鸭体内鸭乙型肝炎病毒的抑制效果 [J]. 大理医学院学报, 2006, 5(4): 6 - 8

- [9] 丁跃明, 李树楠, 朱孝慈. 康复新滴鼻剂抗过敏的实验性研究 [J]. 陕西中医学院学报, 2005, 28(6): 51 - 52
- [10] 李树楠, 胡 忠. 肝龙浸膏及肝龙制剂 [P]. 中华人民共和国专利: CN941089436, 1994
- [11] 杨 辉, 邱芳龙. 一种治疗妇女生殖道疾病的药物及其用途 [P]. 中华人民共和国专利: CN951107739, 1995
- [12] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2003
- [13] 陈钧辉. 生物化学实验 [M]. 第三版. 北京: 科学出版社, 2003
- [14] 赵 燕, 刘 莉, 杨兴斌, 等. 高效毛细管电泳法测定唐古特大黄多糖中单糖的组成 [J]. 医药导报, 2005, 24(11): 981 - 983
- [15] 毛根年, 许牡丹. 功能食品生理特性与检测技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005
- [16] 陈 栋, 周永传. 酶法在中药提取中的应用和进展 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(2): 99 - 101
- [17] 张 霞. 蕨麻多糖免疫调节及抗氧化作用的研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2005, 4 - 6
- [18] 清水岑夫. 从茶叶中制取糖尿病的药物为例探讨茶叶血糖作用 [J]. 茶(日), 1987(3): 24 - 28
- [19] 张惠玲, 李布青, 舒庆龄, 等. 茶叶多糖提取方法的研究 [J]. 安徽农业科学, 1995, 23(3): 70 - 71

www.cnki.net