

# 鸡腿菇子实体多糖分离纯化工艺及结构研究\*

姚毓婧<sup>1,2</sup> 杨仁智<sup>2</sup> 张劲松<sup>2\*\*</sup> 潘迎捷<sup>3</sup>

(南京农业大学生命科学院 南京 210095)(上海市农业科学院食用菌研究所 上海 201106)

(上海水产大学食品科学学院 上海 200090)

**摘要** :以多糖得率为指标,用正交试验对鸡腿菇子实体多糖的提取纯化工艺进行优化。用离子色谱和凝胶渗透色谱对粗多糖进行分离纯化,利用化学和光谱学方法对均一多糖 CC30w-1 进行结构分析。结果表明鸡腿菇子实体多糖最佳提取工艺为:提取次数为3次,提取时间为1.5h,提取温度为95℃,料液比为1:12,最佳脱蛋白条件:样品-氯仿+正丁醇为3:1(V/V),氯仿-正丁醇为3:1(V/V),反应时间为20min,脱蛋白次数为7,结构分析的结果表明:CC30w-1 分子量为  $1.94 \times 10^4$  Da,糖组成为 Fuc:Gal = 1:4.02,岩藻糖以端基方式连接,半乳糖主要以 1,6-和 1,2,6-两种方式连接,3个主要的连接方式的摩尔比为 1.15:2.88:1;主要由(1,6)- $\alpha$ -D-Galp 糖残基构成主链,在 O-2 位被  $\alpha$ -Fucp 糖残基取代的5个单糖残基组成的结构重复单元。

**关键词** 鸡腿菇,正交试验,分离纯化,结构分析

中图分类号:Q93 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2007)06-1071-06

## Optimum Isolation and Structural Analysis of Polysaccharide from the Fruiting Bodies of *Coprinus comatus* \*

YAO Yu-Jing<sup>1,2</sup> YANG Ren-Zhi<sup>2</sup> ZHANG Jing-Song<sup>2\*\*</sup> PAN Ying-Jie<sup>3</sup>

(Department of Microbiology, Life Science College, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

(Edible Fungi Institute, Shanghai Academy of Agriculture Sciences, Shanghai 201106)

(College of Food Science, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

**Abstract** :Optimum technique of isolation and purification of *Coprinus comatus* polysaccharides was investigated by orthogonal tests. DEAE-Sepharose F. F. and gel-filtration chromatography were used to separate and purify the *Coprinus comatus* polysaccharides, and get the homogeneous polysaccharide CC30w-1. The structure of CC30w-1 was studied with chemical and spectral methods. The results showed that the optimum conditions for the isolation was as follows: times of extraction 3, time 1.5h, temperature 95℃, material to water ratio 1:12. The optimum deproteinization condition is that crude polysaccharide solute in the mixed solvent of chloroform and n-butanol (3:1) whose volume 3 times that of the former, the reaction time and times of purification were 20 minutes and 7 times, respectively. CC30w-1 molecular weight was estimated to be  $1.94 \times 10^4$  by HPLC. HPAEC showed CC30w-1 was composed of fucose and galactose in molar ratios of 1:4.02. Methylation analysis and NMR data showed that it possess a pentasaccharide repeating unit have a backbone of (1→6)-linked galactose residues, and is substituted at 2-position by fucose residue.

**Key words** :*Coprinus comatus*, Orthogonal tests, Isolation and purification, Structural analysis

鸡腿菇(*Coprinus comatus*(Mueller. ex Fr.) S. F. Gray),学名毛头鬼伞,隶属于真菌门(Eumycota)担子菌纲(Basidiomycetes)伞菌目(Agaricales)鬼伞科(Coprinaceae)鬼伞属(*Copruinus*)<sup>[1,2]</sup>。鸡腿菇是药食两用菌,子实体肉质细嫩,鲜美可口,性平,有益脾胃,具有清心安神、通肠利便、治疗痔疮等功效<sup>[3]</sup>。

经常食用有助消化、增加食欲<sup>[4]</sup>。常食用它可利于老年人的保健,幼儿的生长,孕妇体内胎儿的正常发育<sup>[5]</sup>。现代研究表明,鸡腿菇中丰富的营养成分具有降血糖、降血脂、提高免疫活性、抗肿瘤及抑菌等一系列生物活性<sup>[6]</sup>。而鸡腿菇多糖亦被证实具有提高免疫力、抗肿瘤等生物活性<sup>[7-10]</sup>。与香菇、灵芝等

\* 上海市农委重点攻关项目(No. 沪农科攻字 2003-3-3)

\*\* 通讯作者 Tel 021-62208660-3211, E-mail: syjal6@saas.sh.cn

收稿日期:2006-12-20,修回日期:2007-06-11

其它真菌相比,鸡腿菇多糖的研究还比较少。本文对鸡腿菇多糖的提取、除蛋白工艺进行优化,并借助现代分析手段对得到的均一多糖结构进行初步探讨,旨在更好地开发和利用鸡腿菇这一珍贵的真菌资源。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

鸡腿菇干燥子实体切片,购于上海农业科学院食用菌所百信食药菌科贸有限公司。

### 1.2 试剂

单糖标准品为 Sigma 产品;三氟乙酸( $\text{CF}_3\text{COOH}$ , TFA)、硼氢化钠( $\text{NaBH}_4$ )购自 Merck 公司;50% NaOH 为 Dionex 公司产品;其余试剂均为国产分析纯试剂。

### 1.3 设备

ICS2500 离子色谱仪(Dionex 公司),ÅKTAexplorer 层析系统(GE 公司),电热恒温水浴锅(上海益恒试验仪器有限公司),气质联用仪(Thermo Finnigan TRACEMS),色谱柱:DB-5 MS 石英毛细管柱,30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$  核磁共振仪(Varian INOVA 500)。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 QS 鸡腿菇多糖提取、纯化工艺流程:**鸡腿菇干品 $\rightarrow$ 沸水浴浸提 $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 滤液醇沉 $\rightarrow$ 离心得粗多糖 $\rightarrow$ 复溶 $\rightarrow$ 脱蛋白 $\rightarrow$ 粗多糖 $\rightarrow$ DEAE-Sephrose 阴离子柱层析 $\rightarrow$ Sephacryl 凝胶柱层析 $\rightarrow$ CC30w-1

**1.4.2 粗多糖提取、除蛋白条件优化:**多糖提取工艺中,影响因素很多,在本实验室常用单因素实验基础上,选定提取温度、时间、次数、料液比等因素,采用  $L_9(3^4)$  正交设计进行优化,因素水平设计见表 1。每一处理用鸡腿菇子实体 100 g。

表 1 热水浸提正交实验因素水平

水平	因素			
	提取次数 A	时间 B (h)	温度 C ( $^{\circ}\text{C}$ )	料液比 D (V/V)
1	1	1.5	60	1:8
2	2	2	80	1:10
3	3	2.5	95	1:12

粗多糖除蛋白采用 Sevag 法<sup>[11]</sup>,优化条件用  $L_9(3^4)$  正交设计来确定,见表 2。

表 2 粗多糖除蛋白正交实验因素水平表

水平	因素			
	A 样品-氯仿+ 正丁醇(V/V)	B 氯仿-正丁醇 (V/V)	C 萃取时间(h)	D 萃取次数
1	3:1	5:1	10	3
2	4:1	3:1	20	5
3	5:1	2:1	30	7

**1.4.3 检测:**多糖总量的测定:采用苯酚-硫酸法<sup>[12]</sup>,以葡萄糖为标准品。

蛋白含量的测定:采用 BCA 蛋白试剂盒(Merck 公司)。

**1.4.4 纯度及分子量测定<sup>[12]</sup>:**3 mg CC30w-1 溶于 1.4 mL 缓冲液配成溶液,上样体积 10  $\mu\text{L}$ ,TSK PWXL 4000-3000 串联柱,脱气缓冲液洗脱,流速 0.5 mL/min,Waters2414 示差检测仪自动检测。以 Dextran T 系列标准分子量,对保留时间做出标准曲线,然后根据待测多糖的保留时间,计算出样品的分子量。

**1.4.5 紫外光谱测定:**2mg CC30w-1 溶于 3mL 水中,在 200nm~400nm 进行全扫描。

**1.4.6 单糖组成分析<sup>[12,13]</sup>:**取 2 mg CC30w-1 放入薄壁长试管中,加入 2 mol/L 三氟乙酸(TFA)4 mL,在 110 $^{\circ}\text{C}$ 下水解 2h,定容至 100mL,稀释 100 倍后上样测定。色谱条件:分离柱采用 Dionex 公司 CarboPac<sup>TM</sup> PA20 预处理柱、CarboPac<sup>TM</sup> PA20 检测柱;脉冲安培检测器工作参数:E1 为 100 mV 400 ms,E2 为 -2000mV,20 ms;E3 为 600 mV,10 ms;E4 为 -100 mV,70 ms。流动相:分别采用浓度为 2.5 mmol/L 的 NaOH 作淋洗液,淋洗方法采用单一浓度淋洗。流速 0.45 mL/min;上样量 25  $\mu\text{L}$ ;温度 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.4.7 红外光谱分析<sup>[12]</sup>:**取 1 mg~2 mg 多糖样品,用溴化钾压片后进行 IR 分析。完全甲基化后的多糖样品再检测甲基化是否完全时,取样 1 mg 后采用石蜡油制片进行 IR 分析。

**1.4.8 甲基化分析<sup>[14,15]</sup>:**多糖 2 mg 经  $\text{P}_2\text{O}_5$  充分干燥,按照 Kalyan 和 Paul 的方法<sup>[16]</sup>进行完全甲基化。甲基化样品经 IR 检测无羟基吸收后,完全甲基化后经三氟乙酸水解,硼氢化钠还原,醋酐乙酰化后,溶解于氯仿,进行 GC-MS 分析。GC-MS 的分析条件为:柱温 80 $^{\circ}\text{C}$ 初温,保持 1 min,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 至 200 $^{\circ}\text{C}$ ,再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 至 215 $^{\circ}\text{C}$ ,最后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 至 270 $^{\circ}\text{C}$ 。

氮气作载气。进样口温度 250℃,分流比 1:50。柱流速为 1mL/min。EI(70eV)倍增器电压 350V,灯丝电流 250  $\mu$ A,接口温度 200℃,离子源温度 250℃,质量数扫描范围 42amu ~ 462amu,扫描速率 2.5 scan/Sec。

**1.4.9 核磁共振分析:**样品溶于 D<sub>2</sub>O 于 Varian INOVA 5000 核磁仪测定, D<sub>2</sub>O 为内标。

## 2 结果

### 2.1 鸡腿菇多糖提取条件的优化

鸡腿菇多糖提取正交试验结果见表 3。

表 3 热水浸提正交实验结果

序号	A	B	C	D	粗提物得率 (%)	多糖 (%)
1	1	1	1	1	33.69	10.17
2	1	2	2	2	36.9	11.9
3	1	3	3	3	39.64	13.51
4	2	1	2	3	39.36	13.42
5	2	2	3	1	39.76	15.26
6	2	3	1	2	42.57	12.91
7	3	1	3	2	45.14	16.25
8	3	2	1	3	44.98	14.42
9	3	3	2	1	43.09	13.18
K1	35.58	39.84	37.5	38.61		
K2	41.59	41.58	38.5	41.06		
K3	43.85	39.6	45.02	41.35		
k1	11.86	13.28	12.5	12.87		
k2	13.86	13.86	12.83	13.69		
k3	14.62	13.2	15.01	13.78		

表 3 表明:(1)从极差 R 值的大小,可得出各因素作用主次顺序是:A(提取次数)> C(温度)> D(料液比)> B(时间)。(2)最佳因素水平是 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,即提取次数为 3 次,时间为 1.5h,温度为 95℃,溶剂体积为 12 倍时提取效果最为理想。

### 2.2 鸡腿菇粗多糖除蛋白条件的优化

鸡腿菇粗多糖除蛋白最佳工艺条件试验结果见表 4。

由表 4 得出(1)各组因素作用的主次顺序为:氯仿与正丁醇的体积比>反应时间=除蛋白次数>样品与氯仿-正丁醇的体积比。(2)最佳工艺为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,即样品-氯仿正丁醇的体积比为 3:1,氯仿

-正丁醇的体积比为 3:1,反应时间为 20 min,除蛋白次数为 7 次。

表 4 粗多糖除蛋白正交实验结果

序号	A	B	C	D	粗多糖蛋白质含量 (%)
1	1	1	1	1	0.44
2	1	2	2	2	0.25
3	1	3	3	3	0.27
4	2	1	2	3	0.32
5	2	2	3	1	0.33
6	2	3	1	2	0.39
7	3	1	3	2	0.39
8	3	2	1	3	0.29
9	3	3	2	1	0.32
K1	0.96	1.15	1.12	1.09	
K2	1.04	0.87	0.89	1.03	
K3	1.00	0.98	0.99	0.88	
k1	0.32	0.38	0.37	0.36	
k2	0.35	0.29	0.30	0.34	
k3	0.33	0.33	0.33	0.29	
R	0.03	0.09	0.07	0.07	

### 2.3 纯度鉴定

粗多糖经 DEAE-阴离子交换层析和凝胶层析后得到均一多糖 CC30w-1。CC30w-1 在凝胶层析和 HPLC 图谱上均呈单一对称峰,表明其为均一组分(见图 1、图 2)。其紫外图谱扫描显示 200nm ~ 400nm 无吸收峰,表明其不含蛋白质和核酸。根据在 HPLC 图谱中的保留时间,根据标准曲线计算其分子量为  $1.94 \times 10^4$  D。

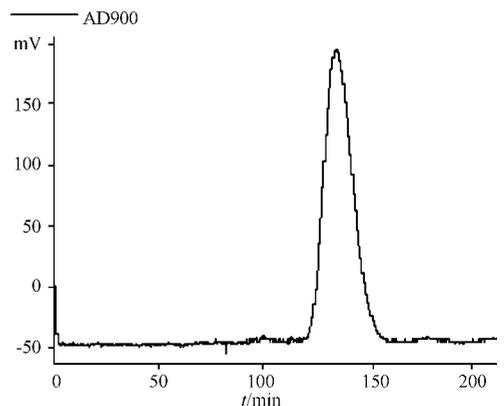


图 1 CC30w-1 的 Sephacryl S-300 层析色谱图

### 2.4 结构分析

**2.4.1 糖组成分析:**CC30w-1 完全酸水解后的样品经过 HPAEC-PAD 分析后(见图 4),与标准单糖的离子色谱(图 3)比较,可知 CC30w-1 主要由岩藻糖和

半乳糖组成,其摩尔比为 Fuc:Gal = 1:4.02。

#### 2.4.2 红外光谱分析 红外光谱显示出 CC30w-1 在

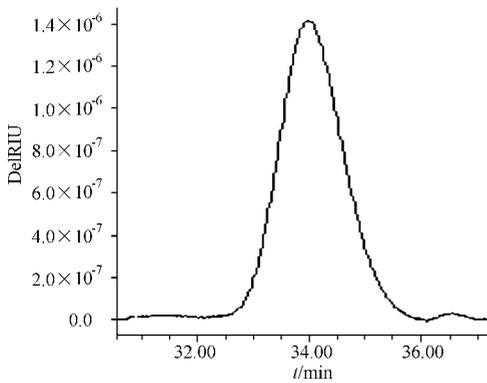


图2 CC30w-1的HPLC图谱

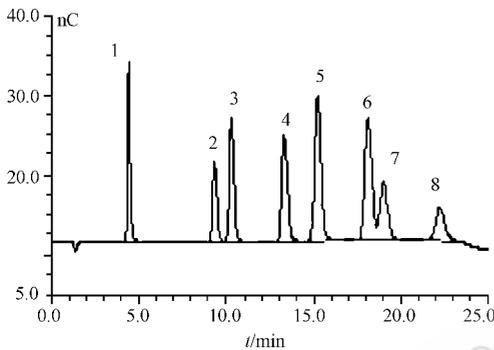


图3 标准糖样中的高效阴离子色谱图

1 岩藻糖 2 鼠李糖 3 阿拉伯糖 4 半乳糖 5 葡萄糖 6 木糖 7 甘露糖 8 果糖

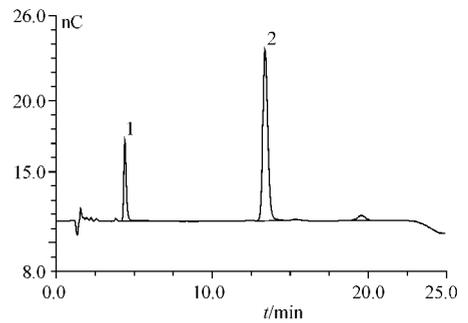


图4 CC30w-1的高效阴离子色谱图

1. 岩藻糖 2 半乳糖

4000 $\text{cm}^{-1}$  ~ 650 $\text{cm}^{-1}$  区具多糖类物质的一般特征。在 1730  $\text{cm}^{-1}$  附近没有糖醛酸的特征吸收峰,表明 CC30w-1 很可能为一中性多糖<sup>[17]</sup>;843.8  $\text{cm}^{-1}$  的峰表明 CC30w-1 中的糖苷键为  $\alpha$ -型,因  $\alpha$ -型差向异构体的 C—H 取平伏键,在 844  $\pm$  8  $\text{cm}^{-1}$  处有 1 个吸收峰,而  $\beta$ -型的 C—H 取直立键,在 891  $\pm$  7  $\text{cm}^{-1}$  处有 1 个吸收峰。759.8  $\text{cm}^{-1}$  为 D-吡喃环的对称环伸缩振动峰,在 1100 ~ 1010  $\text{cm}^{-1}$  间有 3 个强吸收峰,亦表明 CC30w-1 中的糖环构型为吡喃型(呋喃型糖环在此区间上只有 2 个强吸收峰)<sup>[12]</sup>。以上结果说明 CC30w-1 可能是以  $\alpha$ -型糖苷键连接的,糖环为吡喃型。

2.4.3 甲基化分析:CC30w-1 的甲基化分析结果见表 5。

表5 CC30w-1的甲基化分析

甲基化多糖	连接方式	摩尔比	主要的离子碎片峰
2,3,4-Me <sub>3</sub> -Fuc	1-linked Fucp	1	43, 72, 89, 101, 115, 117, 131, 161, 175
2,3,4-Me <sub>3</sub> -Gal	1,6-linked Galp	2.94	43, 71, 87, 101, 117, 129, 161, 173, 189, 233
3,4-Me <sub>2</sub> -Gal	1,2,6-linked Galp	1.2	43, 71, 87, 99, 129, 159, 173, 189, 233

由表 5 可知 Glc 为 1,6-、1,2,6- 两种连接方式,其中 1,6-linked Galp 为主要键型,可能构成主链;CC30w-1 分枝点主要位于半乳糖上,3 个主要糖残基的摩尔比为 1:2.94:1.2,甲基化的结果与单糖组成比例基本一致,说明 CC30w-1 可能是由 5 个单糖残基构成重复单元结构。

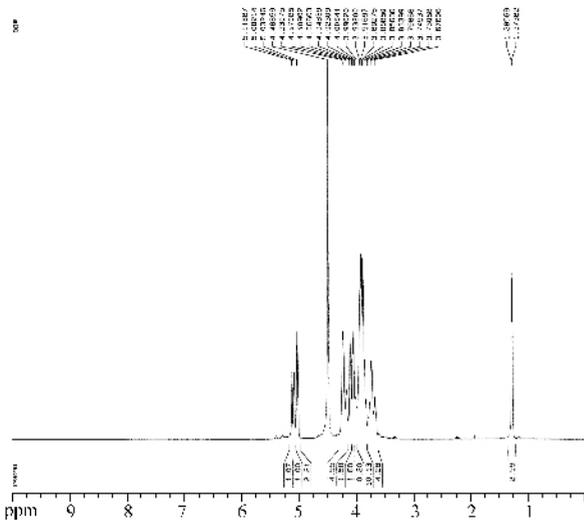
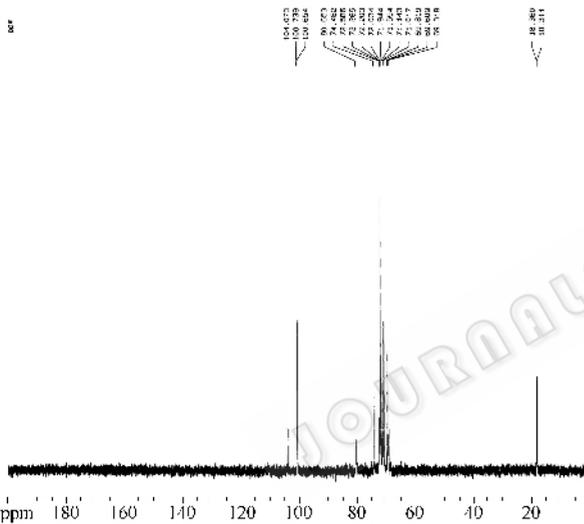
2.4.4 核磁共振分析:由 <sup>1</sup>H NMR 谱(图 5)可知 CC30w-1 有 5 个异头氢信号,与甲基化分析结果一致,分别在  $\delta$  5.12、 $\delta$  5.08、 $\delta$  5.02(3 个 H)处出现。5 个异头氢信号出现在低场,均是半乳糖构型,且是单峰(<sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> < 3Hz)表明这些糖是  $\alpha$ -构型<sup>[18]</sup>。

在 <sup>13</sup>C NMR 谱中(图 6)在  $\delta$  100.7 ~ 104.07 处也

有 5 个异头碳信号,在  $\delta$  18.33 处为 CH<sub>3</sub> 的  $\alpha$  (Fuc 的 C-6) 的共振峰,与 <sup>1</sup>H NMR 上  $\delta$  1.28 处的 6-位脱氧糖的 CH<sub>3</sub> 双峰(Fuc 的 H-6)是一致的; $\delta$  57.7 ~ 64.7 处为 6 位取代的碳信号<sup>[19]</sup>。另外,在 <sup>13</sup>C NMR 谱上  $\delta$  82 ~ 88 处没有共振信号,证明所有的糖残基为吡喃型糖苷<sup>[20]</sup>,这与 IR 谱的结果是一致的;在  $\delta$  170 ~ 176 范围内没有无糖醛酸的羧基共振信号,进一步验证了 IR 谱中 CC30w-1 为一中性多糖的结果。

### 3 讨论

鸡腿菇子实体多糖提取的最佳工艺为:提取次数为 3 次,提取时间为 1.5h,提取温度为 95 $^{\circ}\text{C}$ ,溶剂

图5 CC30w-1的<sup>1</sup>H NMR图谱图6 CC30w-1的<sup>13</sup>C NMR图谱

体积为12倍。其中各因素的影响顺序为A(提取次数) > C(温度) > D(溶剂体积) > B(时间)。

鸡腿菇子实体粗多糖脱蛋白纯化最佳条件: 样品-氯仿-正丁醇的体积比为3:1, 氯仿-正丁醇的体积比为3:1, 反应时间为20 min, 除蛋白次数为7次。4个因素对脱蛋白的影响顺序为B(氯仿与正丁醇体积比) > C(反应时间) = D(反应次数) > A(样品与氯仿-正丁醇体积比)。

鸡腿菇均一多糖CC30w-1的单糖组成为岩藻糖和半乳糖, 糖苷键的连接方式为1位连接的Fuc、1,6位连接的Gal和1,2,6位连接的Gal, 且三者摩尔比为1:2.94:1.2, 其中主链为1,6位连接的Gal, 分枝点位于半乳糖的C-2上; 5个单糖残基构成的重复单元是主要结构, 平均每4个己糖有一个分枝糖基。

通过近20年科学工作者对各类真菌多糖的组成和结构的研究, 发现真菌多糖主要包括以下几种<sup>[21, 22]</sup> (1) 葡聚糖, 其结构是主链由 $\beta$ -1,3糖苷键, 支链为 $\beta$ -1,6糖苷键连接 (2) 甘露聚糖, 主要由 $\alpha$ -糖苷键连接的主链 (3) 杂多糖 (4) 糖蛋白和多糖肽。

据笔者所知, 除了凡军民<sup>[23]</sup>等曾报道在鸡腿菇菌丝体中获得岩藻半乳聚糖外, 一些真菌的异半乳聚糖也有报道, 例如 *Ganoderma applanatum*<sup>[24]</sup> 中的岩藻半乳聚糖, *Fomitopsis fraxionea*<sup>[25]</sup>、*Flammulina velutipes*<sup>[26]</sup>、*Polyporus pinicola*<sup>[27]</sup>、*P. fomentarius* 和 *P. igniarius*<sup>[28]</sup> 中的甘露岩藻半乳聚糖, 以及 *Laetiporus sulphureus*<sup>[29]</sup> 中的岩藻甘露半乳聚糖等, 这些结构主要由(1,6)- $\alpha$ -D-Galp糖残基构成主链, 在O-2位被 $\alpha$ -L-Fucp或3-O- $\alpha$ -D-Manp- $\alpha$ -L-Fucp糖残基取代。

多糖的化学结构是其生物活性的基础, 王昭晶<sup>[30]</sup>等报道小刺猴头菌子实体水溶性多糖HP I可明显增加病体小鼠胃液中的游离酸度和胃蛋白酶活性, 降低血清中胃泌素的含量, 抑制胃体及胃窦粘膜的萎缩变薄, 使胃部粘膜炎症减轻。其中HP I以1,6连接的Gal为主, 侧链含有Fuc和Glc残基; 马秀俐<sup>[31]</sup>等报道西洋参多糖PPQ I-1~4均能较好的刺激小鼠脾淋巴细胞转化、协同亚剂量ConA诱生白介素- $\alpha$ (IL-2)。4个均一多糖为含有糖醛酸的杂多糖, 而它们的中性糖主链是基本以1,6连接的Gal为主。CC30w-1与前面所提到的两种均一多糖主链结构类似, 然而多糖的活性受结构的影响甚多, 如高级结构、侧链的有无、长短及连接位置、分枝密度及糖苷键的结合, 即使结构相似的两种多糖也可能具有不同的生物活性, 其生理活性及详细结构还有待进一步研究证明。

## 参考文献

- [1] 邵立平. 真菌分类学. 北京: 中国林业出版社, 1984, pp. 272~280.
- [2] 黄年来. 自修食用菌学. 南京: 南京大学出版社, 1987, pp. 660~662.
- [3] 王灿琴, 何铁光. 食用菌, 2004, 6: 4.
- [4] 贾蕊, 刘风兰. 食品科技, 2006, 11: 155.
- [5] 杨宁波, 张建民. 特种经济动植物, 2000, 5: 31.
- [6] 刘艳芳, 张劲松. 食用菌学报, 2003, 10(2): 60.
- [7] 李师鹏, 苏蕾. 现代商贸工业, 2000, 24(4): 44~45.

- [ 9 ] 崔 旻, 张好建, 安利国. 世界华人消化杂志, 2002, **10**(3): 287 ~ 290.
- [ 10 ] 邢国福, 王海霞, 韩春超, 等. 食品科学, 2003, **24**(6): 149 ~ 141.
- [ 11 ] Staub AM. Methods in Carbohydrate Chem, 1956, **28** 350 ~ 356.
- [ 12 ] 张惟杰. 多糖复合物生化研究技术(第二版). 杭州: 浙江大学出版社, 1999, pp. 11, 112 ~ 120, 59 ~ 64, 193 ~ 198.
- [ 13 ] 张培敏, 朱 岩, 凌艳艳. 浙江大学学报, 2004, **31**(4): 431 ~ 434.
- [ 14 ] Chrostopher JB, Gary DM. Analysis of Carbohydrate by GLC and MS. Boca Raton, Florida :CRC Press, 1989, pp. 157 ~ 211.
- [ 15 ] Chaplin MF. Carbohydrate Analysis :A practical Approach, 2<sup>nd</sup> Oxford IRL Press, Oxford, 1994, pp. 91.
- [ 16 ] Kalyan RA, Paul BT. Analytical biochemistry, 1992, **203** :101 ~ 108.
- [ 17 ] 方积年. 国外医学(药学分册), 1981, **4** :222 ~ 228.
- [ 18 ] Harding LP, Marshall VM, Hernandez Y, *et al.* Carbohydrate Research, 2005, **340** :1107 ~ 1111.
- [ 19 ] Agrawal PK. Phytochemistry, 1992, **31** 3307 ~ 3330.
- [ 20 ] Bushmarinov IS, Ovchinnikova OG, Kocharova NA, *et al.* Carbohydrate Research 2004, **339** :1557 ~ 1560.
- [ 21 ] 曾凯宏, 明 建. 食品科技, 2001, **4** :65 ~ 67.
- [ 22 ] 肖盛元, 郭顺星. 天然产物的研究与开发, 2000, **12**(2): 81 ~ 86.
- [ 23 ] Junmin Fan, Jingsong Zhang, Qingjiu Tang, *et al.* Carbohydrate Research, 2006, **341** :1130 ~ 1134.
- [ 24 ] Usui T, Iwasaki Y, Mizuno T. Carbohydrate Research, 1981, **92** :103 ~ 104.
- [ 25 ] Cho S M, Koshino H, Yu S H, *et al.* Carbohydrate Research, 1998, **37** :13 ~ 18.
- [ 26 ] Mukumoto T, Yamaguchi H. Carbohydrate Research, 1977, **59** :614 ~ 621.
- [ 27 ] Fraser R N, Karácsonyi S, Lindberg B. Acta Chemica Scandinavica, 1967, **21** :1783 ~ 1789.
- [ 28 ] Björndal H, Lindberg B. Carbohydrate Research, 1969, **10** :79 ~ 85.
- [ 29 ] Alquini G, Carbonero E R, Rosado F R, *et al.* Fems Microbiology Letters, 2004, **230** :47 ~ 52.
- [ 30 ] 王昭晶, 梁忠言, 罗巅辉. 高等学校化学学报, 2004, **25**(8): 1474 ~ 1476.
- [ 31 ] 马秀俐, 赵德超, 孙永秀. 中草药, 2000, **31**(3): 165 ~ 167.