

茯苓多糖的研究进展

牛爽¹, 郝利民^{1,2,*}, 赵树欣¹, 陈强²

(1.天津科技大学生物工程学院, 天津 300457; 2.中国人民解放军总后勤部军需装备研究所, 北京 100010)

摘要: 多糖具有多种生物活性, 其中, 药食两用真菌多糖已成为食品、医药和生物领域的研究热点。近年来, 有关真菌多糖治疗与保健功能的报道越来越多, 茯苓多糖是从茯苓菌分离提取出来的真菌多糖, 具有显著的抗肿瘤功能。本文对茯苓多糖的成分、性质、发酵制备和功能用途等进行比较全面的阐述, 旨在为进一步研究与开发茯苓多糖, 保护药食用真菌资源提供参考。

关键词: 茯苓; 茯苓多糖; 功能; 研究进展

Research Progress in Polysaccharides from *Poria cocos*

NIU Shuang¹, HAO Li-min^{1,2,*}, ZHAO Shu-xin¹, CHEN Qiang²

(1. College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. The Quartermaster Equipment Institute of General Logistics Department of People's Liberation Army, Beijing 100010, China)

Abstract: Polysaccharides have a variety of biological activities. The polysaccharides from medicinal and edible fungi have gained extensive attention in the fields of food, medicine and biology. Recently, there are more and more reports related to treatments and health care functions of polysaccharides from fungi. Pachyman is a polysaccharide extracted from *Poria cocos*, and it has significant anti-tumor activity. In this article, the recent research progress in the composition, characteristics, fermentation and functions of pachyman are reviewed with the goal of providing a comprehensive survey for further research and development of pachyman, and a reference for protecting the resource of edible and medicinal fungi.

Key words: *Poria cocos*; pachyman; function; research progress

中图分类号: TQ929.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)13-0348-06

我国利用食用、药用真菌的历史悠长, 药食同源的真菌不仅具有较好的抗病功效, 而且安全无毒, 因此引起了医学、生物学、食品学等领域的广泛关注。食药用真菌的有效成分主要有: 多糖、生物碱、皂苷、萜类、多酚类等物质。真菌多糖是从真菌子实体、菌丝体及其发酵液中分离出的代谢产物, 是一类由 10 个以上的单糖以糖苷键连接而成的天然高分子多聚物。它大多具有 β -(1 → 3)-D- 葡聚糖的三重螺旋构象, 因而具有特异的生物活性, 如控制细胞分裂分化、调节细胞生长衰老、抗肿瘤、抗病毒、抗炎和提高免疫力等^[1-2]。目前, 国内外已从高等担子菌中筛选到 200 余种有生物活性的多糖物质^[3]。我国食药用真菌资源丰富, 已发现有重要经济和药用价值的真菌多糖有近 30 种, 并且对大量真菌来源的多糖及其复合物, 如香菇多糖、灵芝多糖、喉头菌多糖、灰树花多糖等都进行了结构和活性研究^[4-5]。

茯苓(*Poria cocos*)隶属于真菌门(Eumycophyta)、担子菌亚门(Basidiomycotina)、层菌纲(Hymenomycetes)、非褶菌目(Aphyllophorales)、多孔菌科(Polyporaceae)、茯苓属(*Wolfiporia*), 又名茯苓、茯苓兔、松茯苓、松柏玉等。野生茯苓常寄生在马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)或赤松(*Pinus densiflora* Sieb.et Zucc)的根上。茯苓分布于中国、日本、韩国、北美洲和澳大利亚等国家和地区。我国茯苓资源丰富、分布广泛, 其中以云南的“云苓”、安徽的“安苓”和福建的“闽苓”最为著名^[6-7]。茯苓多糖(pachyman)主要由 β -(1 → 3)-D- 葡聚糖组成。茯苓多糖主要分布于茯苓的子实体、菌丝及其发酵液中。从子实体和菌丝体提取出来的多糖称为胞内多糖, 液体深层发酵茯苓分泌到胞外的多糖称为胞外多糖, 在菌体的不同部位, 多糖含量有所不同。本文拟对茯苓多糖的成分、性质、发酵制备和功能用途进行了阐述, 以此增进对茯苓多糖的了解和认识。

收稿日期: 2012-02-21

作者简介: 牛爽(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为发酵工程。E-mail: niushuang@yahoo.cn

* 通信作者: 郝利民(1969—), 男, 高级工程师, 教授, 博士, 研究方向为食品生物技术与军用功能食品。E-mail: hlm2005@163.com

1 茯苓多糖的成分和性质

1.1 茯苓多糖的提取与纯化

茯苓多糖的提取,包括胞外多糖与胞内多糖的提取。提取胞外多糖,要将茯苓发酵液离心,收取上清液并浓缩至一定体积后,用 Sevag 法除去蛋白,乙醇沉淀,沉淀用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,经低温干燥后,即可制得茯苓胞外粗多糖。

胞内多糖一般采用水浴加热结合乙醇沉淀的方法进行提取,但得率较低^[8],于是后来出现了多种新的提取技术,大大提高了胞内多糖提取率。陈莉等^[9]利用酶解加热水浸提的方法提取茯苓多糖,多糖得率显著提高,为热水浸提法的 2.32 倍,最佳提取工艺为:水浸泡 40min 加入复合酶在 48℃、pH5 的条件下浸提 90min,中和后升温至 80℃,再浸提 90min。超声处理也可提高茯苓多糖提取率,Wang Yongjiang 等^[10]利用响应面法研究获得的超声波辅助提取茯苓多糖的最佳提取条件为:0.789mol/L NaOH,料液比为 53%,超声辅助提取 2.44min,多糖预测产量为 82.3%。Chen Xiaoping 等^[11]通过正交矩阵设计(OAD)方法证明,利用超声辅助提取茯苓多糖 90min,其提取率高于利用传统水提茯苓多糖数小时的提取率,超声波辅助法能明显缩短茯苓多糖的提取时间。

从茯苓菌体以及发酵液中得到的多糖均为粗多糖,要经过更加高效的分离方法才可制得纯度较高的茯苓多糖。一般先将多糖样品加入少量双蒸水溶解,选取合适的透析袋透析去除小分子杂质;再选用色谱分离技术进行分离,比如凝胶柱色谱法或者纤维素阴离子交换剂柱色谱法,最后再选取不同的洗脱剂进行洗脱分离。除上述纯化方法外,还有沉淀法、超过滤法、置备性区域电泳法和活性碳柱色谱法等^[12]。另外,也可通过二甲基亚砜(DMSO)进行精制,DMSO 可使蛋白质裂解为易溶于水的小分子肽类物质,进而去除杂蛋白,此法操作省时,简单易行^[13]。

1.2 茯苓多糖的结构

Chihara 等^[14]从茯苓中提取的茯苓多糖 Pachyman,主要成分是 β -(1→3)-D-葡聚糖,同时还含有少量 β -(1→6)糖苷键侧链。Narui 等^[15]实验证明,实验室培养的茯苓菌丝提取的茯苓多糖 U-pachyman f 与自然界生长的茯苓菌提取的茯苓多糖结构几乎一样,Wang Yifeng 等^[16-17]的研究结果进一步证实了茯苓多糖主要成分为 β -(1→3)-D-葡聚糖,其结构见图 1。用 0.5mol/L NaOH-0.2mol/L 尿素溶液溶解不溶于水的茯苓多糖后,线性 β -(1→3)-D-葡聚糖显示了柔性链^[18],如图 2 所示。

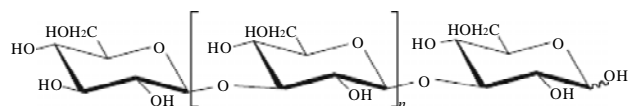


图 1 β -(1→3)-D-葡聚糖结构

Fig.1 The structure of β -(1→3)-D-glucan

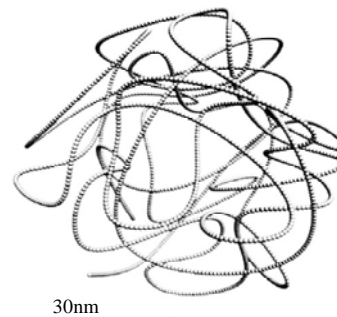


图 2 茯苓多糖链构象模型示意图

Fig.2 Conformation diagram of pachyman chains

吴建元等^[19]利用柱前衍生化高效液相色谱法,证明了茯苓多糖是由葡萄糖组成的均一多糖。此外,茯苓多糖还含有一些杂多糖,以及 α -(1→3)-葡聚糖。Ke Ruidian 等^[20]利用 GC-MS 和 FT-IR 分析了茯苓多糖的化学组成,证明了其化学组成为核糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖,其相应的物质的量比为 1.6%、1.09%、0.54%、11.3%、85.9% 和 1.01%。Huang Qilin 等^[21]用不同方式提取分离出 6 种茯苓多糖,其中有 3 种杂多糖,主要为葡萄糖、半乳糖和甘露糖,其他多糖均具有 α -(1→3)-葡聚糖的特性。Zhang Lina 等^[22]用不同方式从新鲜茯苓菌核体中提取出 5 种多糖,其中占绝大部分的 1 种茯苓多糖由 β -(1→3)-D-葡聚糖组成,其他由 D-葡萄糖、D-木糖、D-甘露糖和 D-半乳糖组成。Lu Meikuang 等^[23]从天然茯苓中提取了带有(1→6)支链的 α -(1→3)-葡聚糖。

由于菌种、培养条件和提取方式的不同,茯苓多糖的分子质量存在一定差异。Narui 等^[15]提取的茯苓多糖的分子质量约为 3.7×10^5 D。林雨露等^[24]从菌丝体中提取出 7 种多糖,分子质量分别为 7.7×10^4 、 5.2×10^4 、 5.0×10^4 、 24.3×10^4 、 65.2×10^4 、 25.5×10^4 D。颜军等^[25]通过水提醇沉法制得茯苓粗多糖,精制后采用离子交换柱层析对多糖进行分离纯化,用 HPGFC 测定中性多糖(TAP1)和酸性多糖(TAP2)的分子质量,分别为 11721D 和 44065D。Huang Qilin 等^[21]用不同溶剂提取了 7 种茯苓多糖,其分子质量分别为 6.46×10^4 、 30.4×10^4 、 103×10^4 、 14.9×10^4 、 45.2×10^4 、 201×10^4 、 436×10^4 D。

1.3 茯苓多糖的性质

陈杰^[26]研究表明, 茯苓菌丝体胞内多糖, 纯化后为白色、絮状, 冷、热水均能溶解, 也有报道称, 有的茯苓多糖不溶于水, 但可溶于NaOH-尿素溶液^[18]; 茯苓多糖不溶于高浓度的乙醇、丙酮、乙醚、正丁醇、异丙醇。 α -萘酚实验反应, 在试液和硫酸的交界面可以看到紫色的环, 表明含有糖、多糖或苷类; 苯酚-硫酸实验为正反应; 碘反应不变蓝, 表明不含淀粉; 茚三酮反应呈阴性, 表明不含蛋白质。紫外波谱检测茯苓多糖在260nm波长处无核酸的特征吸收峰, 在280nm波长处也没有蛋白质的特征吸收峰。

2 茯苓多糖的发酵制备

茯苓生产分为固体栽培和液态发酵两种。目前, 国内主要采用固体培养茯苓, 但该方法存在一些缺点, 如生产周期长、产量不高、松材消耗大, 存在资源制约问题, 而且茯苓窖种易受白蚁危害。因此, 采用液体发酵培养及分离提取等新技术生产茯苓多糖生物活性物质, 已成为工业化生产的新方向。

食用菌的深层发酵是在抗生素发酵技术基础上发展起来的, 它沿用了传统的发酵生产工艺, 即菌种分离纯化→母种→摇瓶种子→种子罐发酵→发酵罐深层发酵。培养基配方的研究包括碳、氮源、无机盐、生长因子等, 发酵过程参数控制研究包括接种量、温度、通气量、pH值、菌丝形状等, 液体发酵具有菌体生长快速、有效降低杂菌污染等优点。另外, 液体发酵技术简单易行, 发酵过程中还会向胞外产生多糖、多肽、萜类等生理活性物质^[27]。

采用液体发酵时, 培养基配方非常重要。李羿等^[28]通过摇瓶实验, 确定了茯苓液体发酵的最适培养基和培养条件: 葡萄糖3%、酵母浸膏0.39%、蛋白胨0.51%、 K_2HPO_4 1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, 初始pH5.5、温度26℃、摇床转速150r/min。胡国元等^[29]采用正交试验探究了不同碳、氮源浓度和不同初始pH值对茯苓生物量及胞外多糖的影响, 结果表明: 各影响因素的显著性顺序为碳源>氮源>初始pH值。李慧等^[30]在碳源>氮源>初始pH值的培养条件研究基础上, 通过正交试验, 确定了茯苓多糖最佳发酵培养基: 葡萄糖4%、玉米粉4%、蛋白胨0.4%、麸皮6%、 $(NH_4)_2SO_4$ 0.2%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%、 KH_2PO_4 0.1%, 采用此培养基在10L发酵罐上进行发酵, 茯苓多糖产量最高可达16g/L。

此外, 生长因子对茯苓的发酵培养也十分重要。王伟霞等^[31]研究了生长因子对茯苓生长的影响, 发现当培养基中缺乏VB₁, 菌丝生长速度变慢、密度变小; 生物素、VB₂、叶酸、VB₆、VC等均可促进菌丝生长, 而对氨基苯甲酸则显著抑制菌丝生长。刘宇

逸^[32]研究了不同浓度橄榄油对茯苓发酵的影响, 发现添加5%橄榄油进行发酵, 菌丝体产量最高, 添加4%橄榄油进行发酵, 多糖产量最高。

液体发酵分为摇床培养和发酵罐培养。邵伟等^[33]研究表明, 菌球直径在0.75~0.80mm时, 菌丝体收率较高。李羿等^[34]探讨了茯苓摇瓶补料和发酵罐补料培养的发酵工艺, 发酵罐补料的发酵时间由168h缩短为120h, 并使茯苓菌体量从10.74g/L增长到11.95g/L。在5L发酵罐发酵中, 在线测定胞外多糖、还原糖和pH值变化, 发现通气量2vvm效果最佳, 胞外多糖产量最高达到了0.23mg/mL^[32]。

3 茯苓多糖的用途

茯苓多糖具有的抗肿瘤和提高免疫力等活性一直是研究的重点。由于茯苓多糖的特殊物化性质和生物活性, 与其相关的其他研究与应用也备受关注。

3.1 抗肿瘤功能

多糖的分子质量和链构象会影响其抗肿瘤活性, β -(1→3)-D-葡聚糖的三重螺旋构象具有重要的免疫调节和抗肿瘤生物活性^[35]。早期, Narui等^[15]认为茯苓多糖无抗肿瘤作用, 但用高碘酸氧化和Smith降解后得到的茯苓多糖具有明显抗肿瘤作用, 但水溶性较差。Hamuro等^[36]学者将Pachymaran进行羧甲基化修饰, 获得茯苓多糖的衍生物具有明显的抗肿瘤活性。随后的研究发现, 茯苓多糖不经结构修饰也具有抗肿瘤活性。Kanayma等^[37]从茯苓菌体中提取出的一种水溶性茯苓多糖, 采用4mg/kg剂量进行小鼠皮下注射, 连续10d, 结果表明它对S180肿瘤细胞的抑制率为94%。日本学者横田正实报道茯苓水提液(粗多糖)能增强丝裂霉素(MMC)的抗肿瘤作用。研究表明, 以尿素为助溶剂制成的茯苓多糖复合物也有明显的抗肿瘤作用^[38]。观察发现茯苓多糖(PPS)对小鼠肉瘤S180细胞和人白血病Ks62细胞体外增殖均有强烈抑制作用^[39]。

Huang Qilin等^[21]用不同溶剂提取出7种茯苓多糖, 其中Pi-PCM0和Pi-PCM2多糖水溶液在体内、体外抗肿瘤实验中均表现出抗肿瘤活性。Ke Ruidian等^[20]研究证明, 喂食大鼠茯苓多糖7周后, 肿瘤细胞生长被显著抑制, 并且血清超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性提高, 这证明茯苓多糖具有较强的抗肿瘤活性。Chen Xiaoping等^[40]灌胃Wistar大鼠茯苓多糖40d后, 发现茯苓多糖可以提高大鼠谷胱甘肽(GSH)水平和抗氧化酶活性, 证实了茯苓多糖具有消除患宫颈癌大鼠体内多余自由基的作用。

此外, 对茯苓多糖进行修饰, 可制得羧甲基化、甲基化、硫酸酯化等茯苓多糖衍生物, 其水溶性可发生不同程度的改变, 部分衍生物还具有更高的生物活性^[41-42]。

Chen Xiaoyu 等^[43]将茯苓多糖与磷酸进行反应,生成水溶性磷酸衍生物,体外表现出抗肿瘤活性,体内对 S180 表现出强烈的抑制作用。磷酸基团的存在使茯苓多糖有相对较高的分子质量和相对扩展的构象,这可以增强多糖的抗肿瘤活性。Huang Qilin 等^[44]证明,磷酸化的茯苓多糖在体内和体外对 S180 细胞具有显著抑制作用。赵吉福等^[45]研究表明,磺酞化茯苓多糖具有良好的抗肿瘤活性。陈春霞^[46]将羧甲基茯苓多糖(CMP)对荷瘤小鼠进行腹腔、静脉注射,结果表明 CMP 能明显增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能,增强小鼠对牛血清白蛋白(BSA)诱导的迟发型超敏反应(DTH),增强小鼠脾 T 细胞生长因子(TCGF)的生长,并能增加小鼠脾抗体分泌细胞数(PFC)以及特异的抗原结合细胞数(SRFC),这可能是其增强免疫应答功能及抑瘤率的作用机制之一。

目前,我国市场上用于肿瘤治疗的茯苓多糖多为口服液,主要用于提高机体免疫力,减少放化疗产生的不良反应。此外,还有茯苓多糖胶囊等相关产品。

3.2 增强免疫功能

Chen Xiaoyu 等^[47]将茯苓多糖衍生成羧甲基-硫酸衍生物,在体内对 S180 细胞具有较高的抑制率,并且可以增加巨噬细胞数量、脾和胸腺的质量,提高溶血活性,促使脾脏抗体产生和迟发小鼠体内的超敏反应(DTH)反应。这表明,茯苓多糖的羧甲基-硫酸衍生物能显著提高小鼠的免疫功能,并产生免疫调节抗肿瘤活性。

茯苓多糖对细胞免疫有很强的促进作用,特别是能调整 T 细胞亚群的比值,增强机体免疫功能,改善机体状况,增加抗感染能力^[48]。吕苏成等^[49-50]发现老人服用茯苓多糖 1 个月后,自觉食欲增加,睡眠改善,体力和精力有所改善,患感冒次数减少或症状减轻;连服用 3 个月,上述改善程度与人数均有增加。

3.3 其他功能

羧甲基茯苓多糖(CMP)具有保肝作用。CMP 按 100mg/(kg·d)与 200mg/(kg·d)连续腹腔给药 5d,与生理盐水对照组比,小鼠血清谷-丙转氨酶分别降低 27.32% ($P < 0.05$)与 41.03% ($P < 0.01$)。大鼠肝部分切除手术前按 100mg/(kg·d)连续腹腔给药 4d,手术后再连续腹腔给药 3d,与生理盐水对照组比,大鼠的肝再生度与再生肝质量/体质量分别增加 73.29% ($P < 0.01$)与 18.95% ($P < 0.001$)。CMP 具有催眠作用,CMP 按 100mg/(kg·d)连续腹腔给药 7d,能增强硫喷妥钠对小鼠中枢的抑制,小鼠翻正反射消失持续时间为硫喷妥钠对照组的 4.69 倍($P < 0.05$)^[51]。

茯苓多糖还具有一定抗病毒抗炎作用。段会平等^[52]研究发现,羧甲基茯苓多糖对 2.2.15 细胞株的 50% 毒性质量浓度(TC_{50})为 13.6g/L,对 2.2.15 细胞株 HBsAg、HBeAg 分泌的半数有效质量浓度(IC_{50})为 4.45、5.61g/L,

治疗指数(TI)值为 3.06 和 2.42,高于已用于临床的抗病毒药物阿昔洛韦。可见,羧甲基茯苓多糖在 2.2.15 细胞株培养中对 HBsAg 和 HBeAg 分泌有较好的抑制作用。茯苓多糖对棉球所致大鼠皮下肉芽肿形成也有抑制作用,小剂量可抑制二甲苯所致的小鼠耳肿,证明茯苓多糖具有抑制急性慢性炎症反应作用^[53]。另外,茯苓多糖还能防止草酸钙结石形成,其防石作用优于消石素和五淋化石丹^[54]。

4 结 语

优良的菌种是发酵的前提和关键,建立更加有效的筛选模型,利用物理、化学诱变技术和基因工程等先进技术进行优良菌种的选育,是获得高品质茯苓多糖的重要途径。茯苓液体发酵与人工栽培相比具有明显的优势,因此,应在液体发酵培养基础上,加强发酵培养基优化,提高茯苓多糖产量。

真菌多糖毒性低、特异性高,具有多种生理活性,在药食领域具有广阔的应用前景。应对更多种类的食用真菌多糖进行深入系统的研究,如多糖的一级结构、高级结构及其化学特性等。真菌多糖通常是由很多单糖以糖苷键连接而成的天然高分子多聚物,不同真菌产生的多糖不同,即使同一属不同种的真菌其多糖在结构和分子质量上也会有所不同。组成多糖的单糖种类千差万别、糖苷键连接方式不尽相同、羟基被取代的种类和位置也有所不同等,使多糖具有多种结构形式。不同的结构形式可为体内精密调控提供方便,但是真菌多糖复杂结构的研究远远不如对蛋白质和核酸的研究。如果使用计算机辅助技术并结合仪器能够确定出多糖的三维结构,将会对了解多糖的结构特点起到至关重要的推进作用,并可在此基础上更好地了解其抗肿瘤和提高免疫力等作用机制。如能了解了多糖的结构特点,就可根据需求,通过化学途径或者分子生物学技术合成各种结构的多糖。与此同时,加大对多糖衍生物的制备及生理活性研究,拓展多糖研究领域与应用范围,真正开启多糖应用的新时代,更好地为人类健康服务。多糖的活性除了与其结构密切相关外,还与其分子质量和溶解度等有关,应加强对多糖化学修饰的研究,包括修饰方法的改进、修饰后构效关系的分析等,有目的改造真菌多糖,提高其活性,扩大其应用领域。

对茯苓多糖进行修饰,可制得多种多糖衍生物,这些多糖衍生物具有相对较高的分子质量和相对扩展的构象,由于其水溶性发生了不同程度的改变,因此部分多糖衍生物具有了更高的生物活性,但其作用机制尚不明确。目前,对茯苓多糖等真菌多糖的研究还只是刚刚起步,多糖对淋巴细胞、巨噬细胞的免疫应答功能和肿瘤抑制作用的分子机制等还有待研究,如果能阐

明其作用机制, 将为抗癌和免疫新药提供新的研究和方向。

我国真菌资源丰富, 分布广泛, 采用液体深层发酵技术有效开发药食两用真菌, 这为科学保护利用中药材资源提供了新思路, 也将会推动基于真菌资源的新型功能食品和新型药物的开发。因此, 注重我国传统菌业优势与现代科技的结合与协调发展, 加强真菌多糖发酵制备与生理活性基础研究, 应成为开发利用高品质食药新资源的重大课题。

参考文献:

- [1] 肖盛元, 郭顺星. 国内真菌多糖结构研究现状[J]. 天然产物的研究与开发, 2000, 12(2): 81-86.
- [2] LAVI I, FRIESEM D, GERESH S, et al. An aqueous polysaccharide extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* induces anti-proliferative and proapoptotic effects on HT-29 colon cancer cells[J]. Cancer Letters, 2006, 244 (1): 61-70.
- [3] 沈业涛, 陶文娟. 真菌的应用研究: 真菌多糖[J]. 安徽大学学报, 2003, 27(1): 93-97.
- [4] ZHANG M, CUI S W, CHEUNG B P C K, et al. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity[J]. Trends in Food Science & Technology, 2007, 18: 4-19.
- [5] ZHU Xiaoling, CHEN A F, LIN Zhibin. Ganoderma lucidum polysaccharides enhance the function of immunological effector cells in immunosuppressed mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 111: 219-226.
- [6] LEE J H, LEE Y J, SHIN J K, et al. Effects of triterpenoids from *Poria cocos* Wolf on the serotonin type 3A receptor-mediated ion current in *Xenopus oocytes*[J]. European Journal of Pharmacology, 2009, 615: 27-32.
- [7] 金勇. 不同茯苓菌丝体的多糖结构和生物活性[D]. 武汉: 武汉大学, 2004.
- [8] ZHANG Yangyang, LI Sheng, WANG Xiaohua, et al. Advances in lentinan: isolation, structure, chain conformation and bioactivities[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25: 196-206.
- [9] 陈莉, 郁建平. 茯苓多糖提取工艺的优化[J]. 食品科学, 2007, 28(5): 136-139.
- [10] WANG Yongjiang, CHENG Zhong, MAO Jianwei, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction process of *Poria cocos* polysaccharides by response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 77: 713-717.
- [11] CHEN XiaoPing, TANG Qichun, CHEN Yan, et al. Simultaneous extraction of polysaccharides from *Poria cocos* by ultrasonic technique and its inhibitory activities against oxidative injury in rats[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79: 409-413.
- [12] 叶凯贞, 黎碧娜, 王奎兰, 等. 多糖的提取、分离与纯化[J]. 广州食品工业科技, 2004, 20(3): 144-145.
- [13] 高杰, 李玉欣, 于占华, 等. 茯苓多糖提取方法研究[J]. 吉林中医药, 2007, 27(9): 60.
- [14] CHIHARA G, HAMURO J, MAEDA Y, et al. Antitumour polysaccharide derived chemically from natural glucan (pachyman)[J]. Nature, 1970, 225(7): 943-944.
- [15] NARUI T, TAKAHASHIK K, KOBAYASHI M, et al. A polysaccharide produced by laboratory cultivation of *Poria cocos* Wolf[J]. Carbohydrate Research, 1980, 87: 161-163.
- [16] WANG Yifeng, ZHANG Mei, RUAN Dong, et al. Chemical components and molecular mass of six polysaccharides isolated from the sclerotium of *Poria cocos*[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339: 327-334.
- [17] WANG Yongjiang, LIU Shiwang, YANG Zhixiang. Oxidation of glucan extracted from *Poria Cocos* and its physiological activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85: 798-802.
- [18] CHEN Xiaoyu, XU Xiaojuan, ZHANG Lina. Flexible chain conformation of (1 → 3)- β -D-glucan from *Poria cocos* sclerotium in NaOH/urea aqueous solution[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 75: 586-591.
- [19] 吴建元, 肖玉玲, 孙曼春, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法分析茯苓多糖的单糖组成[J]. 医药导报, 2009, 28(9): 1213-1214.
- [20] KE Ruidian, LIN Shunfa, CHEN Yi, et al. Analysis of chemical composition of polysaccharides from *Poria cocos* Wolf and its anti-tumor activity by NMR spectroscopy[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80: 31-34.
- [21] HUANG Qilin, JIN Yong, ZHANG Lina, et al. Structure, molecular size and antitumor activities of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia produced in fermenter[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 70: 324-333.
- [22] ZHANG Lina, DING Qiong, ZHANG Pingyi, et al. Isolation and structure analysis of polysaccharides from the sclerotium of *Poria cocos* Wolf[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 1997, 18(6): 990-993.
- [23] LU Meikuang, CHENG Jingy, LIN Chayui. Purification, structural elucidation, and anti-inflammatory effect of a water-soluble 1,6-branched 1,3- α -D-galactan from cultured mycelia of *Poria cocos*[J]. Food Chemistry, 2010, 118: 349-356.
- [24] 林雨露, 张俐娜, 金勇, 等. 人工培养菌种茯苓菌丝体多糖的分离、组成和分子量[J]. 高分子学报, 2003(1): 97-102.
- [25] 颜军, 陶涛, 孙晓春, 等. 茯苓多糖的纯化以及分子量测定[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(3): 88-90.
- [26] 陈杰. 茯苓发酵生产条件优化及其多糖的提取分离与生物活性研究[D]. 福建: 福建农林大学, 2009.
- [27] HU Guoyuan, LI Weiwei, WU Yuanxin, et al. The polysaccharide produced from liquid culture of flammulina velutipes[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(1): 26-29.
- [28] 李羿, 万德光, 裴瑾, 等. 茯苓液体发酵条件的研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 28(1): 52-55.
- [29] 胡国元, 游慧珍, 董兰兰, 等. 茯苓菌丝体液体培养条件研究[J]. 武汉工程大学学报, 2010, 32(7): 1-4.
- [30] 李慧, 常景玲. 茯苓多糖发酵工艺的优化[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(5): 920-921.
- [31] 王伟霞, 王文锋, 陈立国. 茯苓菌丝体固体培养与分泌色素关系的研究[J]. 江苏农业科学, 2010(3): 311-313.
- [32] 刘宇邈. 茯苓原生质体融合育种及其发酵动力学研究[D]. 郑州: 河南大学, 2011.
- [33] 邵伟, 乐超银, 熊泽, 等. 茯苓液体发酵条件的研究[J]. 食用菌, 1999 (4): 2-3.
- [34] 李羿, 万德光, 杨胜. 茯苓摇瓶补料液体发酵和发酵罐补料液体发酵[J]. 药物生物技术, 2007, 14(1): 56-59.
- [35] BOHN J A, BEMILLER J N. (1 → 3)- β -D-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships [J]. Carbohydrate Polymers, 1995, 28: 13-14.
- [36] HAMURO J, YAMASHITA Y, OHSAKA Y, et al. Carboxymethylpachyman, a new water-soluble polysaccharide with marked antitumor activity[J]. Nature, 1971, 233: 486-488.
- [37] KANAYMA H, TOGANMI M, ADAEHI N, et al. Studies on the anti-tumor active polysaccharides from the mycelia of *Poria cocos*: III. Antitumor activity against mouse[J]. Yakugaku Zasshi, 1986, 106: 307-312.

- [38] 张文女, 黄金龙. 茯苓多糖的抗肿瘤功能[J]. 中草药, 1999, 30(7): 3-4.
- [39] 吴波, 梁谋, 将丽, 等. 茯苓多糖抗肿瘤作用与机理的实验研究[J]. 中国药理学通报, 1994, 10(4): 300-304.
- [40] CHEN Xiaoping, TANG Qichun, CHEN Yan, et al. Simultaneous extraction of polysaccharides from *Poria cocos* by ultrasonic technique and its inhibitory activities against oxidative injury in rats with cervical cancer[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79: 409-413.
- [41] WANG Yifeng, ZHANG Lina. Chain conformation of carboxymethylated derivatives of (1→3)- β -D-glucan from *Poria cocos* sclerotium[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 65: 504-509.
- [42] LIN Yulu, ZHANG Lina, CHEN Li, et al. Molecular mass and anti-tumor activities of sulfated derivatives of α -glucan from *Poria cocos* mycelia[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2004, 34: 231-236.
- [43] CHEN Xiaoyu, XU Xiaojuan, ZHANG Lina. Chain conformation and anti-tumor activities of phosphorylated (1→3)- β -D-glucan from *Poria cocos*[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 78: 581-587.
- [44] HUANG Qilin, ZHANG Lina. Preparation, chain conformation and anti-tumor activities of water-soluble phosphated (1→3)- α -D-glucan from *Poria cocos* mycelia[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83: 1363-1369.
- [45] 赵吉福, 么稚娟, 陈英杰. 磺酞化新茯苓多糖的制备及抗肿瘤作用[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(2): 125-128.
- [46] 陈春霞. 羧甲基茯苓多糖的抗肿瘤活性与免疫效应[J]. 食用菌学报, 2001, 8(3): 39-44.
- [47] CHEN Xiaoyu, ZHANG Lina, CHEUNG P C. Immunopotential and anti-tumor activity of carboxymethylated-sulfated β -(1→3)-D-glucan from *Poria cocos*[J]. International Immunopharmacology, 2010, 10: 398-405.
- [48] LADANYI A, TIMAR J, LAPIS K. Effect of lentinan on macrophage cytotoxicity against metastatic tumor cells[J]. Cancer Immunol Immunother, 1993, 36: 123-126.
- [49] 吕苏成, 曹巧莉, 芦森. 茯苓多糖对老年人免疫功能的影响[J]. 上海免疫学杂志, 1992(2): 2.
- [50] LIU Yaochun, LIU Guiying, LIU Rulin. Antagonistic effect of *Poria cocos* on ototoxicity of kanamycin in guinea pigs[J]. CJIM, 1996, 2(1): 72-74.
- [51] 陈春霞. 羧甲基茯苓多糖的保肝与催眠作用[J]. 食用菌, 2003(增刊1): 46-47.
- [52] 段会平, 侯安继, 陆付耳. 羧甲基茯苓多糖对 HBV 转染细胞表达功能影响的实验研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2005, 19(3): 290-292.
- [53] 侯安继, 彭施萍, 项荣. 茯苓多糖抗炎作用研究[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(3): 15-16.
- [54] 陈焱, 刘春晓, 张积仁. 茯苓多糖防石作用的实验研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 1999, 20(2): 114-115.