

鲍姆纤孔菌总三萜的提取及其体外抗乳腺癌细胞 MCF-7 活性

张林芳^{1,2}, 孙婷婷¹, 邹莉^{1*}

1. 东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150000

2. 黑龙江广播电视大学, 黑龙江 哈尔滨 150080

摘要: 目的 研究提取鲍姆纤孔菌中总三萜的最佳工艺条件, 比较鲍姆纤孔菌子实体总三萜和菌丝体总三萜的体外抗乳腺癌细胞 (MCF-7) 活性。方法 在单因素的基础上运用 Box-Behnken 中心组合设计, 以超声温度、超声时间、乙醇浓度 3 个因素 3 水平的实验模型, 建立提取回归方程。以响应曲面法 (RSM) 对实验结果进行分析, 对鲍姆纤孔菌总三萜提取工艺进行优化; 用 CASY 细胞分析仪检测细胞活力, TUNEL 法检测细胞凋亡, 分析鲍姆纤孔菌子实体总三萜和菌丝体总三萜抑制乳腺癌细胞增殖和促进乳腺癌细胞凋亡活性。结果 修正最优条件为超声时间 40 min, 乙醇体积分数为 70%, 超声温度为 60 °C, 此条件下总三萜的最高提取率为 9.83 mg/g。验证实验结果平均提取率为 9.81 mg/g, 与模型预测值较为接近; 鲍姆纤孔菌子实体总三萜在 0.2 mg/mL 时, 菌丝体总三萜在 0.4 mg/mL 时, 对 MCF-7 细胞的增殖有显著的抑制, 抑制效果呈浓度相关性。鲍姆纤孔菌子实体总三萜在 0.2 mg/mL 时, 菌丝体总三萜在 0.4 mg/mL 时, 能显著增强 MCF-7 细胞的凋亡, 增强效果呈浓度相关性。结论 曲面响应法可以对鲍姆纤孔菌总三萜的提取工艺进行优化; 鲍姆纤孔菌三萜对乳腺癌细胞 (MCF-7) 有明显的抑增殖活性和凋亡诱导作用, 呈浓度相关性, 且子实体总三萜比菌丝体总三萜体外抗乳腺癌细胞 (MCF-7) 活性更强。

关键词: 鲍姆纤孔菌; 总三萜; 超声提取; 响应曲面法; 乳腺癌细胞

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 6376 (2015) 05 - 0497 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2015.05.006

Extraction of total triterpenoids from *Inonotus baumii* and its inhibitory activity on breast cancer cells (MCF-7) *in vitro*

ZHANG Lin-fang^{1,2}, SUN Ting-ting¹, ZOU Li¹

1. Forestry College of Northeast Forestry University, Harbin150000, China

2. Heilongjiang Radio and Television University, Harbin150000, China

Abstract: Objective To optimize the ultrasonic-assisted extraction technology of total triterpenoids from *Inonotus baumii*, and compare the inhibitory activities of total triterpenoids from fruiting body and from mycelium on breast cancer cells (MCF-7) *in vitro*. **Methods** A three-factor and three-level Box-Behnken experimental design was employed using ultrasonic temperature, ultrasonic time and ethanol concentration as a model. Response surface method (RSM) was used to analyze the result and optimize the extracting process. The anticancer activities of total triterpenoids from fruiting body and from mycelium against MCF-7 were completed by CASY cell analyzer and TUNEL method, respectively. **Results** Optimum extraction conditions were determined as follows: extraction time of 40 min, concentration of ethanol 70%, and extraction temperature of 60 °C. Under these conditions, the yield of total triterpenoids reached 9.83 mg/g. The experimental results were verified with an average yield of 9.81 mg/g, which is close to the model predicted value. The concentration of total triterpenoids from fruiting body of *I. baumii* reached 0.2 mg/mL, and that from mycelium reached 0.4 mg/mL, which could inhibit hyperplasia of MCF-7 in dose-dependent manner. The concentration of total triterpenoids from fruiting body of *I. baumii* reached 0.2 mg/mL, and that from mycelium reached 0.4 mg/mL, which could significantly enhanced MCF-7 apoptosis in dose-dependent manner. **Conclusion** The RSM technology optimization for extracting total triterpenoids from *I. baumii* is suitable. Total triterpenoids from fruiting body and mycelium of *I. baumii* could inhibit proliferation of MCF-7, and induced apoptosis on tumor cells in dose-dependent manner. Total triterpenoids from fruiting body are more active than that from mycelium against MCF-7.

Key words: *Inonotus baumii* Pilát; total triterpenoids; ultrasonic extraction; response surface method; breast cancer cells

收稿日期: 2015-07-01

作者简介: 张林芳 (1984—), 女, 博士研究生, 讲师, 研究方向为微生物。Tel: 15146620312 E-mail: zhanglinfang1984@163.com

*通信作者 邹莉 (1966—), 女, 教授, 博士生导师, Tel: 13903650896 E-mail: zouli6616@yahoo.com.cn

鲍姆纤孔菌 *Inonotus baumii* Pilát^[1]主要寄生在丁香属植物,尤其是暴马丁香树。鲍姆纤孔菌是一种珍贵的药用真菌(俗称“桑黄菇”),具有显著的抗肿瘤^[2]、抗氧化^[3]、抗炎^[4]、抗衰老^[5]、降血糖^[6-7]、保肝^[8]、抗菌^[9]、增强免疫力^[10]及修复损伤^[11]等药理作用,其主要有效成分是多糖、黄酮、三萜类。桑黄多糖一直是国内外的研究热点,而关于桑黄三萜的研究报道较少。

真菌三萜常见的提取方法有溶剂浸提法、溶剂回流提取法、超临界 CO₂ 萃取法、超声提取法、微波提取法等。桑黄三萜类化合物的提取目前研究较少,梁佳等^[12]在 2011 年首次研究了桑黄(火木层孔菌) *Phellinus igniarius* 菌丝体总三萜的微波提取工艺。2012 年,谢江宁等^[13]研究了桑黄 *P. igniarius* 子实体总三萜的超声提取工艺,提取率可达 9.40 mg/g,并发现总三萜对脑胶质瘤 U251 细胞株有抑制增殖作用。同年,于小凤等^[14]研究了桑黄 *P. igniarius* 子实体三萜的超声提取工艺,总三萜提取率达到了 9.80 mg/g。但是,关于鲍姆纤孔菌总三萜的超声提取工艺,以及子实体与菌丝体总三萜的抗肿瘤活性的研究还未见报道。

本实验采用超声辅助提取的方法,运用响应面对鲍姆纤孔菌总三萜的提取工艺进行优化,并研究其对乳腺癌细胞(MCF-7)的抑制作用。同时,比较了鲍姆纤孔菌子实体及菌丝体总三萜的含量及其对乳腺癌细胞(MCF-7)的抑制作用,为促进该药用真菌的有效开发利用提供理论依据。

1 仪器与材料

植物粉碎机 FZ102 型(天津泰斯特仪器有限公司),电子天平 FA2004N(上海精密科学仪器有限公司),RE52-98 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),GZX-DH-30×35 电热恒温箱(上海跃进医疗器械厂),KQ 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司),722E 分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

鲍姆纤孔菌子实体采于黑龙江省伊春凉水,经东北林业大学林学院邹莉教授鉴定为鲍姆纤孔菌。鲍姆纤孔菌进行液体发酵培养 10 d 得菌丝体。将鲍姆纤孔菌子实体及菌丝体分别经 60 °C 干燥,再用粉碎机粉碎后,过 40 目筛,得子实体及菌丝体粉末。白桦酯醇对照品(质量分数>99%,批号 140319)购于上海融禾医药科技有限公司;其余试剂均为分

析纯;实验用水均为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 鲍姆纤孔菌总三萜的提取及含量测定

2.1.1 标准曲线的绘制 参考梁佳等^[13]标准曲线的测定方法。以白桦酯醇质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $A=0.5215C-0.0277$ ($R^2=0.9992$)。

2.1.2 鲍姆纤孔菌总三萜的提取 准确称取鲍姆纤孔菌粉末于样品萃取罐中,加入适量有机溶剂,在一定乙醇浓度、温度、时间等条件下超声提取一段时间,待萃取罐冷却后取出滤过,滤液经减压浓缩、冷冻干燥后得鲍姆纤孔菌总三萜。

2.1.3 总三萜含量测定 准确称取干燥的鲍姆纤孔菌干粉 1.0 g 加一定浓度的乙醇超声提取。精密吸取提取后的鲍姆纤孔菌三萜溶液 0.1 mL 于具塞试管中,水浴挥去溶剂,其他步骤参考梁佳等^[13]的测定方法,以不加样品溶液作空白对照,用标准曲线回归方程计算总三萜得率。

$$\text{总三萜得率} = \text{总三萜量} / \text{所用干粉量}$$

2.2 单因素试验

准确称取鲍姆纤孔菌子实体干粉 1.0 g,分别考察乙醇体积分数(50%、60%、70%、80%、90%、100%),超声温度(50、55、60、65、70 °C),超声时间(30、40、50、60 min),对总三萜得率的影响。在考察其中 1 项因素时其他 3 项因素以 60 °C、70%、30 min 为条件,其中液固比 10:1。依次记录数据并计算总三萜得率。

由图 1 可知,当乙醇体积分数达到 70%时,总三萜的萃取效果最好。浓度再升高,总三萜的得率反而下降。原因可能是在乙醇浓度低时,较多的水溶性物质溶出,如水溶性多糖、色素、果胶等,影响了对三萜的萃取效果;而当乙醇浓度很大的时候,并不利于萃取三萜,这可能是由于桑黄三萜类物质大多具有极性基团(羟基、羧基等),呈现一定的极性,因此,乙醇浓度过大时,不利于三萜类物质的溶出。因此,乙醇浓度为 70%时萃取效果最佳。

不同超声温度对总三萜得率的影响见图 2,随着温度的升高,总三萜含量呈先上升再下降的趋势。当温度达到 60 °C 时,总三萜得率最高。这说明 60 °C 时是鲍姆纤孔菌总三萜提取的最佳温度。温度大于 60 °C 时,随温度的增加,一些大分子物质溶出,一些活性成分被破坏,总三萜得率降低。

不同超声时间对萃取效果的影响见图 3,随着

萃取时间的延长, 总三萜的得率也随之增加, 在萃取时间达到 50 min 时, 总三萜的得率最高。但与提取时间为 40 min 时的结果差异不显著, 从节约时间考虑, 选择提取时间 40 min 为最优的提取时间。

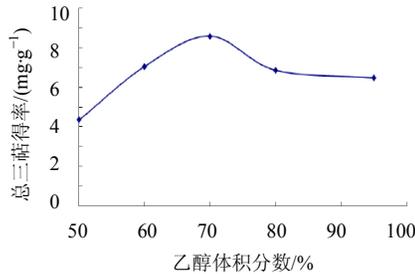


图 1 乙醇体积分数对萃取效果的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration on extraction yield

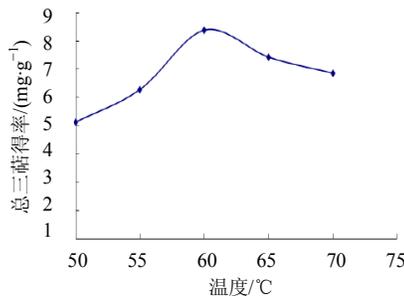


图 2 温度对萃取效果的影响

Fig. 2 Effect of temperature on extraction yield

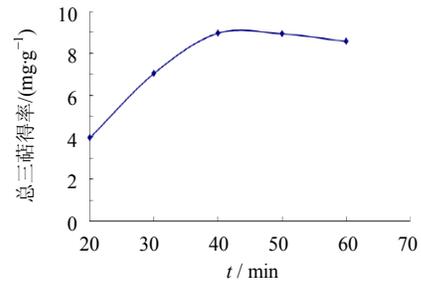


图 3 提取时间对萃取效果的影响

Fig. 3 Effect of extraction time on extraction yield

2.3 响应曲面优化试验

根据单因素试验的结果, 进行 Box-Behnken 试验设计, 优化超声提取鲍姆纤孔菌总三萜的最佳提取工艺参数。选取乙醇体积分数 (A, 65%、70%、75%) 超声时间 (B, 35、40、45 min) 以及超声温度 (C, 55、60、65 °C) 为自变量, 以总三萜的得率 (Y) 为响应值 (因变量), 建立回归方程并进行分析与检验, 设计实验方案及总三萜得率实验结果见表 1, 共有 17 个试验点, 12 个分析点, 5 个零点以估计误差。

为了考察各影响因素及其交互作用对提取工艺的影响, 利用 Design Expert 8.0.6 软件对表 1 中的数据进行多元回归拟合, 得总三萜得率 (Y) 对超声时间 (A)、乙醇浓度 (B)、超声温度 (C) 的二

表 1 Box-Behnken 设计方案及结果

Table 1 Design and results of Box-Behnken test design

试验号	A/%	B/min	C/°C	Y/(mg/g)	试验号	A/%	B/min	C/°C	Y/(mg/g)
1	0 (70)	-1 (35)	-1 (55)	7.11	10	0 (70)	-1 (35)	1 (65)	7.53
2	-1 (65)	1 (45)	0 (60)	8.52	11	-1 (65)	0 (40)	1 (65)	7.01
3	1 (75)	0 (40)	-1 (55)	7.79	12	1 (75)	1 (45)	0 (60)	8.31
4	0 (70)	1 (45)	-1 (55)	7.54	13	0 (70)	0 (40)	0 (60)	9.84
5	-1 (65)	-1 (35)	0 (60)	8.17	14	0 (70)	0 (40)	0 (60)	9.83
6	1 (75)	0 (40)	1 (65)	7.89	15	0 (70)	0 (40)	0 (60)	9.78
7	0 (70)	1 (45)	1 (65)	7.71	16	0 (70)	0 (40)	0 (60)	9.88
8	-1 (65)	0 (40)	-1 (55)	7.43	17	0 (70)	0 (40)	0 (60)	9.75
9	1 (75)	-1 (35)	0 (60)	8.79					

次多项回归模型方程: $Y=9.82+0.21A+0.060B+0.034C-0.21AB+0.13AC-0.062BC-0.66A^2-0.71B^2-1.63C^2$ 。

从表 2 可以看出, 模型的 $F=49.62$ 、 $P<0.0001$, 表明模型对提取工艺影响极其显著。 $R^2=0.9846$, $RSD=2.33\%$, $R^2_{adj}=0.9647$, 表明模拟程度良好, 实验误差较小, 模型相关度良好。依据系数值 $A=0.21$, $B=0.060$, $C=0.034$, 可知因素的主效应关

系为: 乙醇体积分数 > 超声时间 > 超声温度。

结合 Box-Behnken 试验设计方案, 利用 RSM 研究各因素对总三萜得率的影响, 做响应面图, 以考察乙醇体积分数、超声时间与超声温度的交互作用对总三萜得率的影响, 进一步优化总三萜的提取工艺。试验因素间交互作用的 3-D 响应曲面见图 4。

由图 4 曲面的弯曲程度可知, 乙醇体积分数、超声时间的交互作用对总三萜得率的影响率较

表2 回归方程显著性检验

Table 2 Significance of regression equation

项目	平方和	自由度	F值	P值
模型	17.14	9	49.62	<0.000 1
A	0.34	1	8.87	0.020 6
B	0.029	1	0.75	0.415 0
C	0.009 1	1	0.24	0.640 9
AB	0.17	1	4.49	0.071 9
AC	0.068	1	1.76	0.226 1
BC	0.016	1	0.41	0.543 7
A ²	1.81	1	47.15	0.000 2
B ²	2.14	1	55.78	0.000 1
C ²	11.19	1	291.73	<0.000 1
残差	0.27	7		
失拟项	0.26	3	32.71	0.002 8
纯误差	0.011	4		
总误差	17.40	16		

小, 图中表现为曲面较平滑。而乙醇浓度与超声温度及超声时间与超声温度对总三萜得率的影响显著, 表现为曲面较陡呈钟罩形, 总三萜得率随

乙醇体积分数及超声温度呈现由低到高再降低的趋势, 即总三萜得率在合适的乙醇体积分数及超声时间下具有极大值, 该极大值存在于响应曲面的顶部, 可通过软件对模型极值求解和分析等高线得到最佳提取条件: 乙醇体积分数为 70.78%, 超声时间 40.10 min, 提取温度为 60.08 °C, 总三萜的最高得率为 9.83 mg/g。为便于实际操作, 将条件确定为, 乙醇体积分数为 70%, 超声时间 40 min, 提取温度为 60 °C, 应用修正后的条件提取总三萜 3 次, 得率分别为 9.83、9.79、9.81 mg/g, 平均得率为 9.81 mg/g, 与理论值较为吻合, 表明优选工艺提取效果较为理想。

2.4 鲍姆纤孔菌子实体及菌丝体总三萜得率分析

应用修正后的条件分别提取鲍姆纤孔菌子实体及菌丝体总三萜 3 次, 结果见图 5, 菌丝体总三萜得率要比子实体三萜得率高很多, 说明鲍姆纤孔菌菌丝体内总三萜含量比子实体总三萜含量多。

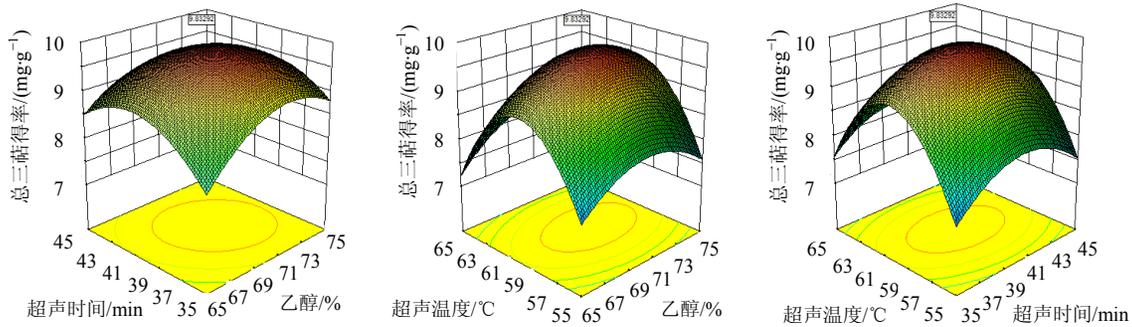


图4 交互作用对总三萜得率的影响

Fig. 4 Effect of interaction on extracting rate of total triterpenoids

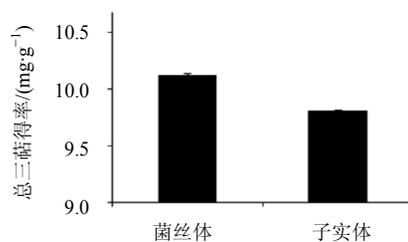


图5 鲍姆纤孔菌子实体及菌丝体总三萜含量

Fig. 5 Content of total triterpenoids from fruiting body and mycelium of *I. baumii*

2.5 鲍姆纤孔菌子实体及菌丝体总三萜抗乳腺癌细胞 (MCF-7) 抗肿瘤分析

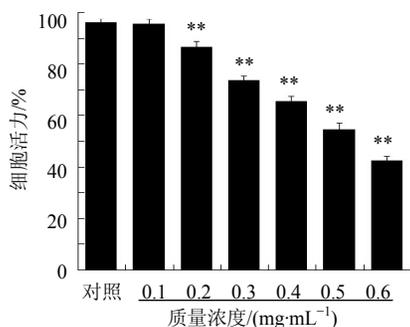
2.5.1 乳腺癌细胞 (MCF-7) 的培养与处理 乳腺癌细胞 MCF-7 用 DMEM/F12 高糖培养基 (添加 10% 的胎牛血清) 培养于 37 °C 的 CO₂ 培养箱中培养。

实验时, 将 MCF-7 细胞以 10⁵ 个/孔的密度接种于 6 孔板中, 待细胞长至约 80% 的汇合度时添加总三萜, 处理 48 h 后收样, 进行后续检测。实验中添加的总三萜终质量浓度分别为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mg/mL, 添加方法如下: 将总三萜用无水乙醇配制质量浓度分别为 0、10、20、30、40、50、60 mg/mL 的醇溶液各 1 mL, 然后在超净台中用无菌 0.22 μm 有机膜过滤除菌, -20 °C 保存备用。进行细胞处理时, 细胞每毫升培养液中加 10 μL 对应浓度的总三萜乙醇溶液。每个浓度做 3 个平行孔。

2.5.2 细胞增殖检测 细胞用不同质量浓度的总三萜处理后, 用 CASY 细胞分析仪检测各组细胞的细胞活力, 按 CASY 细胞分析仪操作说明书进行。

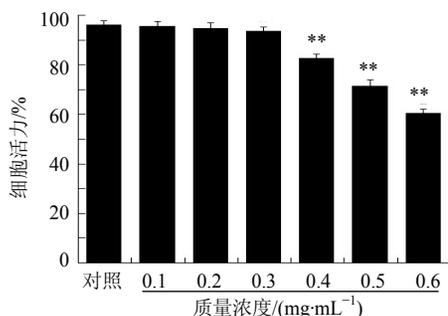
鲍姆纤孔菌子实体总三萜对 MCF-7 细胞增殖

影响的结果见图 6, 由图可知鲍姆纤孔菌子实体总三萜质量浓度达到 0.2 mg/mL 时, 其对 MCF-7 细胞的增殖有显著的抑制作用, 且浓度越高, 其抑制作用越明显, 抑制效果呈浓度相关性。鲍姆纤孔菌菌丝体总三萜对 MCF-7 细胞增殖影响的结果见图 7, 鲍姆纤孔菌菌丝体总三萜质量浓度达到 0.4 mg/mL 时, 其对 MCF-7 细胞的增殖有显著的抑制作用, 且浓度越高, 其抑制作用越明显, 抑制效果呈浓度相关性。由此可见, 一定浓度的鲍姆纤孔菌三萜对乳腺癌细胞 (MCF-7) 的增殖有明显的抑制活性, 此抑制活性有浓度相关性, 且子实体总三萜比菌丝体总三萜抑增殖活性更高。



与对照组比较: ** $P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs control group

图 6 鲍姆纤孔菌子实体总三萜对 MCF-7 细胞增殖的影响
Fig.6 Effect of total triterpenoids from fruiting body of *I. baumii* on MCF-7 proliferation



与对照组比较: ** $P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs control group

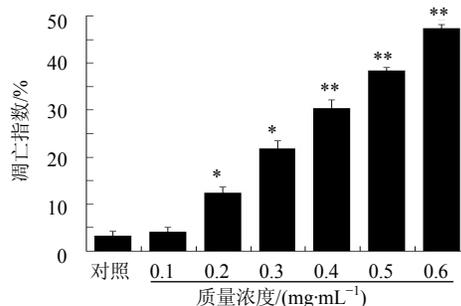
图 7 鲍姆纤孔菌菌丝体总三萜对 MCF-7 细胞增殖的影响
Fig.7 Effect of total triterpenoids from mycelium of *I. baumii* on MCF-7 proliferation

2.5.3 细胞凋亡检测 细胞用不同质量浓度的总三萜处理后, 用 TUNEL 法检测各组细胞的凋亡情况。其操作按细胞凋亡检测试剂盒操作说明进行。处理后的样品在高倍镜光镜下随机选取 5 个视野, 计算总细胞数和凋亡细胞 (染色后细胞核呈棕褐色者为

凋亡细胞) 数, 计算凋亡指数 (AI)。

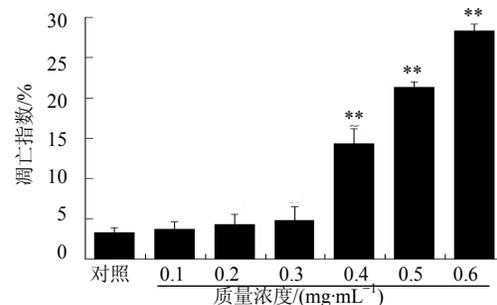
$$AI = \text{凋亡细胞数} / \text{总细胞数}$$

鲍姆纤孔菌子实体总三萜对 MCF-7 细胞凋亡影响的结果见图 8, 由图可知鲍姆纤孔菌子实体总三萜质量浓度达到 0.2 mg/mL 时, 能显著促进 MCF-7 细胞的凋亡, 且浓度越高, 其促进作用越明显, 促进效果呈浓度相关性。鲍姆纤孔菌菌丝体总三萜对 MCF-7 细胞凋亡影响的结果见图 9, 鲍姆纤孔菌菌丝体总三萜质量浓度达到 0.4 mg/mL 时, 能显著促进 MCF-7 细胞的凋亡, 且浓度越高, 其促进作用越明显, 促进效果呈浓度相关性。由此可见, 鲍姆纤孔菌三萜对乳腺癌细胞 (MCF-7) 的凋亡有明显的诱导作用, 此作用有浓度相关性, 且鲍姆纤孔菌子实体总三萜比菌丝体总三萜作用更明显。



与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

图 8 鲍姆纤孔菌子实体总三萜对 MCF-7 细胞凋亡的影响
Fig.8 Effect of total triterpenoids from fruiting body of *I. baumii* on MCF-7 apoptosis



与对照组比较: ** $P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs control group

图 9 鲍姆纤孔菌菌丝体总三萜对 MCF-7 细胞凋亡的影响
Fig.9 Effect of total triterpenoids from mycelium of *I. baumii* on MCF-7 apoptosis

3 讨论

通过响应面法对超声辅助提取鲍姆纤孔菌总三萜的工艺条件进行优化, 获得最佳提取工艺, 经过修正后为: 乙醇体积分数 70%, 超声温度 60 °C, 超声时间 40 min, 鲍姆纤孔菌子实体三萜的得率可

达 9.83 mg/g, 工艺切实可行。用该工艺提取了鲍姆纤孔菌子实体及菌丝体总三萜, 结果表明菌丝体总三萜的含量比子实体总三萜含量高。

李雪等^[15]研究了长白山野生食用菌乙醇提取物的体外及体内抗肿瘤活性, 体外抗肿瘤结果表明, 桑黄乙醇提取物对人的正常肾脏细胞无明显毒副作用, 对乳腺癌细胞 (MCF-7) 的抑制率最高, 且成良好的剂量-效应关系, 同时对肝癌细胞 (HepG₂)、肺癌细胞 (A549)、胃癌细胞 (AGS) 具有一定的抑制作用, 而对宫颈癌细胞 (HeLa) 抑制力较差; 体内抗肿瘤结果表明, 香菇提取物对 S-180 肉瘤的抑制效果最好, 桑黄提取物的中、高剂量组对 S-180 小鼠肿瘤细胞有一定的抑制作用, 但该研究未给出桑黄的具体学名。Reis 等^[16]研究了桑黄 *Phellinus linteus* 多糖、葡聚糖、三萜类化合物、甲醇提取物、乙醇提取物的抗氧化、抗菌及细胞毒性。结果表明, 乙醇提取物 (富含三萜类和多酚类化合物) 对乳腺癌细胞 (MCF-7, 114 μg/mL)、宫颈癌细胞 (HeLa, 61 μg/mL)、非小细胞肺癌 (NIC-H460, 88 μg/mL)、结肠癌细胞 (HCT-15, 62 μg/mL) 的 IC₅₀ 最低, 细胞毒性最强; 桑黄 *P. linteus* 三萜类化合物对乳腺癌细胞 (MCF-7, 220 μg/mL)、宫颈癌细胞 (HeLa, 65 μg/mL)、非小细胞肺癌 (NIC-H460, 161 μg/mL)、结肠癌细胞 (HCT-15, 93 μg/mL) 的 IC₅₀ 较低, 对 4 种癌细胞的细胞毒性仅次于乙醇提取物; 多糖组分对 4 种癌细胞的 IC₅₀ 分别为: MCF-7 221 μg/mL, HeLa 87 μg/mL, NIC-H460 294 μg/mL, HCT-15 208 μg/mL, 比乙醇提取物及三萜类化合物的细胞毒性差; 但对肝癌细胞 (HepG₂) 的细胞毒性, 乙醇提取物 (209 μg/mL) 最差, 其次为三萜类化合物 (156 μg/mL), 多糖组分 (97 μg/mL) 的细胞毒性最强; 研究表明, 桑黄的抗增殖作用可以通过乙醇提取物 (富含三萜类和多酚类化合物) 替代多糖来得到明显的改良。将本研究结果与李雪及 Reis 的研究进行比较发现, 三种“桑黄”均可以抑制乳腺癌细胞 (MCF-7) 的增殖; 不同种的“桑黄”对同种癌细胞的抗癌活性不同; 同种桑黄的不同活性部位对同种癌细胞的抗癌活性不同。

本研究还发现, 鲍姆纤孔菌子实体和菌丝体总三萜发挥对 MCF-7 细胞的抗癌作用均有一定的浓度要求, 子实体总三萜的最低抗肿瘤浓度为 0.2 mg/mL, 而菌丝体总三萜的最低抗肿瘤浓度为 0.4 mg/mL, 这说明, 鲍姆纤孔菌子实体与菌丝体比较, 子实体总三萜的抑制乳腺癌细胞 (MCF-7) 的增殖作用更强。王超儀^[17]的研究表明, 桑黄水提物对小鼠肿瘤细胞中促进癌细胞凋亡的 Bax 蛋白的表达有促进作用; 秦俊哲等^[18]的报道表明, 桑黄水提物对肿瘤细胞中抑制细胞增殖的 IFN-γ 的表达有较强

的促进作用。本实验中, 鲍姆纤孔菌三萜既能抑制细胞增殖, 又能诱导细胞凋亡, 其机制可能是三萜能通过对肿瘤细胞中抑制增殖和诱导凋亡的相关蛋白的表达的调控来发挥其抗肿瘤功能的, 但具体机制还有待进一步研究。该研究结果为珍稀药用真菌桑黄 *Inonotus baumii* Pilát 的抗肿瘤活性研究提供了新思路。但是对于鲍姆纤孔菌醇提物对其他癌细胞的细胞毒性还需要进一步的研究。

参考文献

- [1] Wu H S, Dai Y C, Hattori T, et al. Species clarification for the medicinally valuable 'sanghuang' mushroom [J]. *Botan Stud*, 2012, 53(1): 135-149.
- [2] Sun J, Chen Q J, Zhu M J, et al. An extracellular laccase with antiproliferative activity from the sanghuang mushroom *Inonotus baumii* [J]. *J Mol Cat B: Enzym*, 2014, 99: 20-25.
- [3] Ge Q, Mao J W, Zhang A Q, et al. Purification, chemical characterization, and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of sanghuang mushroom (*Phellinus baumii* Pilát) [J]. *Food Sci Biotechn*, 2013, 22(2): 301-307.
- [4] Yayeh T, Lee W M, Ko D, et al. *Phellinus baumii* ethyl acetate extract alleviated collagen type II induced arthritis in DBA/1 mice [J]. *J Nat Med*, 2013, 67(4): 807-813.
- [5] 吴娜. 桑黄子实体中抗衰老化合物的筛选及作用机制的初步探究 [D]. 上海: 上海师范大学, 2013.
- [6] Kim D I, Kim K S, Kang J H, et al. Effect of *Phellinus baumii*-Biotransformed Soybean Powder on Lipid Metabolism in Rats [J]. *Prev Nut Food Sci*, 2013, 18(2): 98-103.
- [7] Hwang H J, Kim S W, Lim J M, et al. Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Life Sci*, 2005, 76(26): 3069-3080.
- [8] 罗建光. 鲍氏层孔菌菌丝体多糖分离纯化、结构鉴定及其生物活性的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [9] 孟庆龙. 药用真菌桑黄发酵产物药理作用的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [10] Xue Q, Sun J, Zhao M W, et al. Immunostimulatory and anti-tumor activity of a water-soluble polysaccharide from *Phellinus baumii* mycelia [J]. *World J Microbiol Biotechn*, 2011, 27(5): 1017-1023.
- [11] 邵倩, 杨焱, 李婷婷, 等. 鲍姆纤孔菌 (桑黄) 不同方式发酵的菌丝体生物活性比较 [J]. *菌物学报*, 2014, 33(1): 1103-1111.
- [12] 梁佳, 孙梦伊, 张腾, 等. 响应曲面法优化桑黄菌丝体中三萜的微波提取工艺 [J]. *中国农学通报*, 2011, 27(10): 235-238.
- [13] 谢江宁, 宋素芬, 李香, 等. 桑黄总三萜的提取及其体外抗脑胶质瘤 U251 活性 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5): 24-26.
- [14] 于小凤, 秦庆玲, 李峰, 等. 响应面法优选桑黄总三萜的超声提取工艺 [J]. *中国药房*, 2012, 23(47): 4455-4458.
- [15] 李雪, 李鹏飞, 李晓东. 5 种长白山野生食用菌的抗肿瘤活性研究 [J]. *食品与机械*, 2015, 31(1): 151-154.
- [16] Reis F S, Barreira J C M, Calhelha R C, et al. Chemical characterization of the medicinal mushroom *Phellinus linteus* (Berkeley & Curtis) Teng and contribution of different fractions to its bioactivity [J]. *LWT-Food Sci Techn*, 2014, 58(2): 478-485.