

桑黄多糖的提取分离及药理作用研究进展

石 河^{1*}, 梅景晨^{1*}, 李荣雪¹, 李思琪², 陈大忠^{1*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150000

2. 河南中医药大学, 河南 郑州 450000

摘 要: 桑黄作为药食两用的菌类资源, 具有多种治疗作用和保健价值。现代研究表明, 桑黄多糖是桑黄主要成分之一, 具有免疫调节、抗肿瘤、降血糖和抗氧化等多种药理作用, 并且人体的不良反应比较少, 在生物抗癌药研发领域得到了广泛的关注。近年来, 随着真菌多糖的工业化生产和提取工艺的进步, 桑黄多糖在精制与鉴定方面有了诸多新发现。总结桑黄多糖的提取、分离、精制方法和药理作用的研究进展, 以期为新药研发提供理论依据。

关键词: 桑黄多糖; 提取分离; 抗肿瘤; 免疫调节; 降血糖; 抗炎

中图分类号: R284.2; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 06-1360-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.06.024

Research progress in extraction, separation and pharmacological action of *Phellinus* polysaccharides

SHI He¹, MEI Jingchen¹, LI Rongxue¹, LI Siqu², CHEN Dazhong¹

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150000, China

2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

Abstract: As a fungus resource for both medicine and food, *Phellinus* has a variety of therapeutic and health functions. Modern research shows that *Phellinus* polysaccharide (PP) is one of the main components of *Phellinus*, which has a variety of pharmacological effects such as immune regulation, anti-tumor, hypoglycemic and antioxidant, and has relatively small toxic side effects on the human body, and has received widespread attention in the field of biological anticancer drugs. In recent years, the progress of industrial production and extraction technology of fungal polysaccharides has led to many new discoveries in the field of purification and identification of PP. The research progress of extraction, purification, isolation and pharmacological effects of PP is summarized, in order to provide a theoretical basis for the research and development of new drugs.

Key words: *Phellinus* polysaccharides; extraction and separation; antitumor; immunomodulation; hyperglycemic; anti-inflammatory

桑黄又称桑臣、桑耳、桑黄菇或胡孙眼等, 主要来源于锈革孔菌科桑黄孔菌属真菌火木针层孔菌 *Phellinus igniarius* (L. ex Fr.) Quel.、裂蹄针层孔菌 *P. linteus* (Berk. et Cart.) Teng 和鲍氏针层孔菌 *P. baumii* Pilát, 以子实体入药^[1-2]。桑黄孔菌属真菌分布广泛, 多产于中国的东北、华北、华东等地, 而国外集中于澳大利亚、俄罗斯、韩国、日本、朝鲜、北美等国家和地区^[3]。桑黄药用价值的最早记载可以追溯到《神农本草经》, 中医理论认为桑黄属于苦寒之药, 归肝、肾经, 有活血、止血、化饮、止泻等作用, 主

要用于治疗癥瘕积聚、出血、脱肛泻血、带下等^[4]。现代化学研究表明桑黄中的活性成分有桑黄多糖、黄酮类、萜类、多肽类以及微量元素, 在多种疾病的治疗中体现出很好的药用价值。桑黄主要的活性成分即为真菌类多糖——桑黄多糖, 具有免疫调节、降血糖、调血脂、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、降血压、抗衰老等药理作用^[5]。桑黄多糖在未来的生物学和医学领域可能会快速发展, 拓展其在工农业领域新的应用。因此, 总结了桑黄多糖的提取分离方法和药理作用, 并列举了16种桑黄多糖的分离精制情

收稿日期: 2023-02-08

基金项目: 黑龙江省应用技术与开发计划(GA19C107)

*共同第一作者: 石 河(1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药剂学。E-mail: 1909687290@qq.com

梅景晨(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中西医结合外科学。E-mail: meijingchen0511@icloud.com

*通信作者: 陈大忠(1970—), 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药物质基础和药剂学。E-mail: cdz89@126.com

况,为促进桑黄多糖的新药研发提供理论依据。

1 桑黄多糖的提取和精制

1.1 桑黄多糖的提取

桑黄多糖主要从桑黄子实体、菌丝体和桑黄发酵液3个来源中获取,目前,热水浸提法是桑黄多糖的主要提取方式。随着各学科交叉发展与快速融合,一些新的提取方式以及多种方法相互结合被广泛用于桑黄多糖的提取,不同的提取方式和不同溶剂对桑黄多糖的得率、理化性质、结构特征、生物活性及功能特性有着重要影响。表1对桑黄各提取过程的详细情况和优缺点进行介绍,总结了桑黄多糖8种提取方法,分别是热水浸提法^[6]、超声波提取法^[7]、酶解提取法^[8]、微波提取法^[9]、低温低压法^[10]、超声波协同复合酶提取法^[11]、超声波辅助热水提取法^[12]和超声波微波协同辅助提取法^[13]。结果表明,超声波微波协同辅助提取法效果最好,提取率最高,能提高提取的选择性,减少提取时间,所谓的超声波微波协同辅助提取法就是将超声振动和微波2种方法结合起来,有效地利用微波的高能作用与超声波振动的空穴作用,使提取效果达到最佳。

1.2 桑黄多糖的精制

桑黄粗多糖中往往混杂许多杂质,如蛋白质、色素、低聚糖等。杂质是多糖纯化过程中不可忽视的一部分,传统除蛋白方式多种,包括酚类、三氯甲烷、鞣质等试剂、传统的Sevag法、蛋白酶水解法、盐

酸法等,这些方法的特点都是使蛋白质沉淀而不使多糖沉淀^[14]。对比来说,最常见的脱蛋白方法是Sevag法,在去除桑黄多糖中的蛋白质后,通常要对多糖进行脱色处理。常用的传统脱色方法为活性炭法、大孔树脂法、H₂O₂法等,但活性炭法脱色并不适用于桑黄^[15]。

本文总结了从桑黄子实体和桑黄菌丝体中提取分离出的16种多糖成分,其单糖组成包括甘露糖(Man)、葡萄糖(Glu)、半乳糖(Gal)、鼠李糖(Rha)、木糖(Xyl)、岩藻糖(Fuc)、阿拉伯糖(Ara)等。Yuan等^[16]采用水提醇沉法从桑黄菌丝体中获得的桑黄粗多糖PIP,通过离子柱色谱和凝胶过滤色谱法纯化得到桑黄多糖PIP-1;Zhang等^[17]采用了新型高效的超声波方法提取桑黄菌丝体中的桑黄多糖PIPS;Gao等^[18]从6种不同来源的桑黄子实体中提取桑黄多糖,并将从甘肃产地获取的桑黄多糖命名为G-PIP;Yang等^[19]用热水浸提法提取桑黄子实体中的桑黄多糖WEPI;Li等^[20]从桑黄菌丝体中提取水溶性细胞内多糖IPS,采用多角度激光散射和折射率检测器系统检测了均相的多糖IPSW-1、IPSW-2、IPSW-3和IPSW-4;Chen等^[21]从桑黄深层发酵产物中提取到多糖PIE;Yang等^[22-23]从桑黄的子实体中分离出来的新型杂多糖PIP60-1和PISP1;Cheng等^[24]研究采用乙醇沉淀法、阴离子交换色谱法和排量色谱法从桑黄的液体培养液中分离出桑

表1 桑黄多糖的提取工艺

Table 1 Extraction process of *Phellinus* polysaccharides

提取方法	优化后的提取条件	得率/%	优点	缺点
热水浸提法 ^[6]	料液比1:18、温度90℃、 时间8 h	2.12	工艺简单、对设备要求低,适合工业化生产	需要高温处理、料液比大、耗能大、耗时长,提取率低
超声波提取法 ^[7]	时间15 min、功率350 W、 温度65℃	4.61	避免了高温破坏,提高产物提取率,减少了提取时间,因其具有快速、经济、安全、高效等特点	超声时间久会引起分子结构破坏,进而会导致提取量的损失
酶解提取法 ^[8]	酶添加量0.3%,时间40 min、 温度50℃、料液比1:40	1.52	除去粗蛋白或多糖结合蛋白,方便后续处理,节约能源	成本高、易失活、工艺条件要求严格
微波提取法 ^[9]	时间5.1 min、功率540 W	4.18	提取效率高、选择性高	对设备要求和成本高
低温低压法 ^[10]	时间1.8 h、压力0.059 MPa、 液料比52.5:1	4.41	集提取浓缩一体,降低提取温度,确保所得多糖为高活性多糖	压力过大会破坏多糖的结构,从而影响得率
超声波协同复合酶提取法 ^[11]	功率360.6 W,时间32.7 min	3.31	节约能源与时间,产物稳定、活度高、多糖提取率高	成本高,易失活,超声波处理时间过长会破坏多糖结构
超声波辅助热水提取法 ^[12]	温度100℃、时间4.35 h、功率500 W、超声时间35 min	1.645	加大真菌细胞壁破碎程度,促进胞内多糖释放和溶解,提高多糖提取率	超声波处理超过一定时间后,会破坏多糖的结构
超声波微波协同辅助提取法 ^[13]	超声功率360 W、微波功率100 W、时间30 min、料液比1:50	10.6	提高提取的选择性、减少提取时间	超声波和微波作用时间太长,使多糖成分受到一定破坏

黄多糖 SSEPS2; 葛青等^[25]采用热水萃取、乙醇沉淀和冷冻干燥等方法从桑黄子实体中分离纯化出水溶性多糖 PBF6; Mei等^[26]通过固态发酵法从桑黄中获得菌丝体,再采用热水提取法、Sevag法纯化、凝胶过滤色谱法分离出桑黄多糖 PLPS-1; Pei等^[27]通过热水浸提法从桑黄菌丝体中提取出水溶性多糖 PL-N1; Yan等^[28]采用热水萃取和乙醇沉淀法从桑黄菌丝体中提取粗 PLP,然后使用 DEAE 琼脂糖快速流动柱色谱分离并分馏,得到2种多糖组分,分别

为 PLP1 和 PLP2,观察到 PLP1-I 是主要成分; Liu等^[29]从桑黄子实体中分离出新的多糖 PRG; Yan等^[30]从桑黄菌丝体酸性提取物中纯化的新型多糖 PL-A11,是1种中性杂多糖; Cheng等^[31]从桑黄的培养菌丝体中分离出了多糖组分 SSIPS1,见表2。其中桑黄多糖 PIP-1、IPSW-1、IPSW-2、IPSW-3、IPSW-4、PIE、SSEPS2、PRG、SSIPS1 等都采取了水提醇沉法和凝胶过滤色谱法得到的多糖成分,多糖 PIP60-1、PI-SP1 采用了醇提水沉法和凝胶渗透色谱法得到

表2 桑黄多糖的提取精制方法
Table 2 Extraction and refining methods of *Phellinus* polysaccharide

多糖名称 缩写	提取精制方法	相对分子 质量	单糖组成	研究方法
PIP-1 ^[16]	水提醇沉、离子柱色谱、凝胶过滤	8.12×10^5	Man:Glu:Gal=2.41:87.74:3.86	UV、HPLC、甲基化、GC-MS、NMR
PIPS ^[17]	超声波提取、Sevag法纯化、蒸馏水透析	3.1×10^3	<i>d</i> -Glc:l-Rha: <i>d</i> -Man=11.0:14.0:1.0	HPGPC、GC、FTIR
G-PIP ^[18]	微波提取法、Sevag法纯化	—	—	—
WEPI ^[19]	水提醇沉	—	—	苯胺蓝测定法
IPSW-1 ^[20]	水提醇沉、凝胶过滤色谱法	3.41×10^5	Glu	HPGPC、SEC-MALLS-RID、GC、FT-IR、UV、IR
IPSW-2	水提醇沉、凝胶过滤色谱法	1.77×10^5	Glu	HPGPC、SEC-MALLS-RID、GC、FT-IR、UV、IR
IPSW-3	水提醇沉、凝胶过滤色谱法	1.51×10^5	Glu	HPGPC、SEC-MALLS-RID、GC、FT-IR、UV、IR
IPSW-4	水提醇沉、凝胶过滤色谱法	2.17×10^5	Rha:Xyl:Man:Glu:Gal=1.29:1.21:1:43.86:1.86	HPGPC、SEC-MALLS-RID、GC、FT-IR、UV、IR
PIE ^[21]	水提醇沉、凝胶过滤色谱	1.2×10^5	Xyl:Man:Fuc:Glc:Gal=2.3:1:6.4:22.1:19.8	GC、HPLC
PIP60-1 ^[22]	醇提水沉、凝胶渗透色谱法	1.71×10^4	<i>l</i> -Fuc: <i>d</i> -Glu: <i>d</i> -Man: <i>d</i> -Gal:3- <i>O</i> -Me- <i>D</i> -Gal=1:1:1:2:1	NMR、GC-MS、HPLC
PISP1 ^[23]	醇提水沉、凝胶渗透色谱法	2.2×10^4	Fuc:Gal:Man:3- <i>O</i> -Me-Gal=1:2:1:2	NMR、HPLC、HPAEC、GC-MS
SSEPS2 ^[24]	水提醇沉、离子柱色谱、凝胶过滤色谱	9.43×10^4	Man	GC-MS、NMR、HMBC
PBF6 ^[25]	离子柱色谱、凝胶过滤色谱	3.23×10^5	Glu	UV、IR、GC、GC-MS、NMR
PLPS-1 ^[26]	热水提取法、Sevag法纯化、凝胶渗透色谱法	2.5×10^5	Glu:Ara:Fuc:Gal:Xyl=21.964:1.336:1.182:1:1	FTIR、NMR、GC-MS
PL-N1 ^[27]	凝胶渗透色谱法	3.43×10^8	Ara:Xyl:Glu:Gal=4.0:6.7:1.3:1.0	FTIR、NMR、GC、GC-MS、HPGPC 酸水解、甲基化分析
PLP1-I ^[28]	离子柱色谱、凝胶过滤色谱	2.9×10^8	Glu:Gal=8.9:1.0	FTIR、NMR、甲基化分析
PRG ^[29]	水提醇沉、Sevag法纯化、DEAE-纤维素柱色谱、凝胶柱色谱	5.16×10^3	Glu	SEC-MALLS、GLC-MS、FTIR、NMR、TLC、甲基化、酸水解
PL-A11 ^[30]	凝胶色谱法、凝胶过滤色谱	1.38×10^4	Ara:Xyl:Man:Glu=1.1:1.3:1.0:6.6	UV、SEC-MALLS、GC、GC-MS、FT-IR
SSIPS1 ^[31]	水提醇沉、Sevag法、凝胶过滤色谱	2.35×10^4	Glu:Gal=94.8:5.2	甲基化、NMR

的多糖成分。

桑黄多糖主要是通过离子交换色谱和凝胶分子筛色谱相结合的方法进行分离精制,现阶段的研究中,桑黄多糖通过高效液相色谱(HPLC)、气相色谱-质谱(GC-MS)联用、气相色谱(GC)法对桑黄的单糖成分进行分析鉴定,通过多角度激光散射(MALLS)分析或高效凝胶渗透色谱(HPGPC)法测定其相对分子质量,主要的研究方法还包括紫外分光光度法(UV)、甲基化法、核磁共振(NMR)、HPGPC、傅里叶变换红外光谱法(FTIR)、苯胺蓝测定法、高效体积排阻色谱-多角激光光散射仪-示差折光检测器(SEC-MALLS-RID)、红外光谱(IR)法、高效阴离子交换色谱(HPAEC)法、异核位移相关谱(HMBC)法、尺寸排阻色谱-多角度光散射(SEC-MALS)法、薄层色谱(TLC)法、酸水解法等。表2总结了桑黄多糖的提取精制方法、相对分子质量、单糖组成、研究方法等。

2 药理作用

近年来对桑黄多糖的抗肿瘤、免疫调节、降血糖、抗炎、抗氧化、调血脂等药理作用进行了研究。

2.1 抗肿瘤

桑黄多糖的复杂结构促使研究人员开发不同形式的抗癌多糖^[32],其中,C-6的 β -1,3-葡聚糖具有最好的抗癌效果。桑黄多糖通过免疫调节、抑制癌细胞转移、抗突变、抗血管生成和减少肝脏线粒体类型的药物代谢酶,如细胞色素P450酶等作用作为肿瘤抑制剂和预防剂^[33]。孟庆龙等^[34]研究发现,人工培养的菌株多糖也对S180肉瘤细胞有明显抑制作用,建立S180小鼠肿瘤模型,随机将模型小鼠分为6组,即空白对照组、阳性对照组(剂量 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、桑黄多糖中剂量组和环磷酰胺(CTX)加桑黄多糖高、中、低剂量组(分别为 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}+500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}+250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}+125\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组10只,分别给小鼠ig给药,给药剂量 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,每天1次,连续给药10 d进行离体实验,在无菌操作条件下抽取小鼠腹腔内的肉瘤细胞,与空白对照组相比,CTX与桑黄多糖联用,高、中、低剂量组的瘤质量均明显降低,抑瘤率明显提高,胸腺指数、脾脏指数、体质量、外周血细胞、干扰素- γ (IFN- γ)含量均明显提高,有效地提高了抗癌效果。

现代研究表明,在体外培养的人外周单核细胞(PMNC)中能通过体外培养的IFN- γ 有效地抑制 $G_0\rightarrow G_1$ 阶段的细胞增殖,还可以通过促进T淋巴细胞产生辅助抗体,提高T细胞和B细胞的抗肿瘤活

性,进而达到调控人体免疫力的目的,桑黄诱导IFN- γ 的作用是其增强身体免疫力和抑制肿瘤细胞生长的可能的作用机制^[35]。刘燕琳等^[36]研究了桑黄多糖对肉瘤S180细胞体内外的抑瘤作用,体内实验建立了S180细胞荷瘤小鼠模型,模型小鼠随机分为4组、每组10只,并随机分为对照组(给予蒸馏水)和桑黄多糖高、中、低剂量组(400 、 200 、 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),ig给药,对照组小鼠每日ig蒸馏水 0.4 mL ,其余小鼠每日ig相应剂量的桑黄多糖溶液,每日1次,连续给药12 d,末次给药后24 h处死小鼠,剥取肿瘤,称量瘤体湿质量,计算抑瘤率。与对照组比较,桑黄多糖高、中、低剂量组均能明显地上调抑癌基因(*PTEN*)的表达,也明显下调原癌基因(*C-myc*)的表达,桑黄多糖溶液作用后癌细胞的增殖均明显受到抑制,所以桑黄多糖通过影响*PTEN*和*C-myc*的基因表达水平来发挥抗肿瘤作用。

桑黄多糖具有促进淋巴T细胞和B细胞增殖、激活巨噬细胞及自然杀伤细胞的作用,对肿瘤细胞的增殖、扩散具有明显的抑制作用^[37]。Huang等^[38]研究了重症联合免疫缺陷(SCID)CB-17肿瘤小鼠接受肝癌Hep3B细胞移植,进行在体实验,将小鼠分为5组、每组8只,A组不植入Hep3B细胞,B~E组皮下植入Hep3B细胞,肿瘤植入后C~E组每天ig桑黄多糖MCPL-7,剂量分别为 50 、 100 、 $250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,持续8周;B组小鼠不接受桑黄多糖MCPL-7,A组和B组ig生理盐水8周。实验结果表明,与空白对照组比较,桑黄多糖MCPL-7显著减小了肿瘤的大小,并且与T细胞数量的显著增加有关。由此可见,桑黄多糖有开发为肿瘤治疗药的潜力,其抗肿瘤机制值得深入探讨。

2.2 免疫调节

桑黄具有增强免疫和免疫恢复作用,其中多糖是影响生物体内免疫系统中淋巴细胞增殖和活性的重要物质。通过大量实验证明,桑黄多糖能激活许多免疫细胞,例如T淋巴细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞等,并能刺激体内各种细胞因子的产生,激活补体,有助于特异性抗体的产生,从而提高机体免疫活性^[39]。Liu等^[40]从桑黄子实体中得到了桑黄多糖PPB,并用肿瘤HeLa、SGC-7901和RAW264.7细胞系研究体外抗肿瘤和免疫活性,以 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的5-氟尿嘧啶(5-Fu)作为阳性对照组,HEK293、HeLa、SGC-7901、RAW264.7细胞系在DMEM培养基中培养,并补充10%胎牛血清、 $100\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素、 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素,培养温度为

37 °C,环境湿度为5%CO₂,并进行以下实验,细胞以每孔 5×10^3 个的密度接种(RAW264.7细胞为每孔 4×10^3 个),在96孔板中培养24 h,然后用PPB/DMEM梯度($12.5 \sim 600 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)处理,以 $100 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的5-Fu作为阳性对照,处理48 h后,将CCK-8/DMEM(1:9,每孔100 μL)添加到96孔板中,并孵育2~4 h,通过酶标仪在450 nm处测吸光度值,并计算增殖率和增殖抑制率。结果表明,PPB显著抑制HeLa、SGC-7901细胞的增殖,也可以调节细胞周期G₀/G₁期和S期,PPB对HEK293和RAW264.7细胞具有促增殖作用,表明PPB对正常细胞具有较低的细胞毒性。此外,PPB也能发挥免疫调节作用,促进RAW264.7细胞的生长和吞噬功能,激活肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)等细胞因子的分泌。

还有实验研究了桑黄子实体的热水提取物对PMNC产生干扰素的作用,而且发现桑黄多糖还能提高脾、腹膜自然杀伤(NK)细胞以及骨髓细胞活性、细胞因子水平和T淋巴细胞数量,促进免疫细胞增殖和TNF- α 和IL-6的分泌,特异性刺激Toll样受体4(TLR4)并激活MyD88和TRIF信号通路,明显增加血清鸡卵白蛋白(OVA)特异性抗体和脾细胞的增殖^[41]。

2.3 降血糖

桑黄多糖具有降血糖作用,主要通过糖代谢、调节胰岛 β 细胞和增强胰岛素敏感性、增强抗氧化应激进而达到降血糖效果^[42]。史得君等^[43]以链脲佐菌素(STZ)建模的1型糖尿病(DM)昆明种小鼠为研究对象,给小鼠ig给药,单剂量为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,研究了低、中、高剂量桑黄多糖(20 、 40 、 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)对其产生的影响,除空白对照组,糖尿病对照组用蒸馏水ig,低、中、高剂量组每天ig桑黄多糖溶液1次,连续给药3周。结果表明,高剂量组小鼠各项指标均优于糖尿病组,高剂量组的饮水量低于糖尿病组,高剂量组的脏器指数高于糖尿病组,低、中、高剂量组的肾脏指数无明显差异,但都高于糖尿病组,由此可见,高剂量的桑黄多糖有助于降血糖。

Cheng等^[31]从桑黄孔菌的培养菌丝体中分离出了多糖组分SSIPS1,建立IR-HepG2细胞模型以确定SSIPS1的降血糖活性,二苯基四氮唑溴盐(MTT)法测定细胞活力。MTT检测结果显示,SSIPS1在 $0.2 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度下对HepG2细胞的活力没有明显的影响,因此,在细胞实验中,多糖的剂量为 $0.2 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,模型组葡萄糖的消耗量远低于

正常组;与模型组相比,在SSIPS1处理的IR-HepG2细胞中,葡萄糖随着SSIPS1浓度的增加而显著增加,在质量浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,其葡萄糖吸收可达到 $5.08 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这些结果表明,SSIPS1具有改善HepG2细胞葡萄糖代谢的能力,也发现它可以抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的活性。

2.4 抗炎

炎症反应是疾病常见的并发症,为了进一步了解炎症与桑黄多糖TCM之间的关系,用脂多糖(LPS)作用RAW264.7细胞构建了炎症细胞模型,发现桑黄多糖TCM可以降低促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-2、IL-6和IL-12)的含量和mRNA的表达水平,增加抗炎细胞因子(IL-4、IL-10)的含量和mRNA的表达水平。此外核因子- κB (NF- κB)转位水平显著降低,这与I $\kappa\text{B}\alpha$ 磷酸化水平降低和腺苷酸激活蛋白激酶 α (AMPK α)磷酸化水平升高有关,所以桑黄多糖TCM能减轻LPS诱导的炎症细胞模型和炎症反应,可能与抑制NF- κB 的转位,调节抗炎因子和促炎因子的平衡有关^[44]。

Hu等^[45]通过动物模型研究桑黄多糖PLP的抗炎作用,在研究中使用葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎模型,将60只ICR小鼠随机分成3组(包括对照组、DSS组、DSS+桑黄多糖PLP组),DSS组和DSS+PLP组每天ig 2%DSS和 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ PLP,对照组给予饮用水,每天观察小鼠的体质量。结果,对照组小鼠的活动和摄食正常,小鼠体质量逐渐增加,未观察到腹泻和便血;给予DSS后,小鼠出现体质量减轻,食物摄入量减少,运动量减少,甚至便血;ig $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ PLP,小鼠的症状明显改善,DSS+桑黄多糖PLP组给药后比DSS组体质量增加,由此可见,桑黄多糖PLP能明显减轻结肠炎引起的症状改变,可能具有抗炎作用。

2.5 抗氧化

自由基是导致人体疾病和衰老的原因之一,而清除自由基的抗氧化作用是防止生物损害的有效途径。Zhang等^[46]采用了新型的超声波法来提高桑黄多糖PIPS的产量,优化条件以获得高产量的PIPS,在超声波处理下,PIPS具有较高的碳水化合物和糖醛酸的含量,PIPS比对照组有更强的自由基清除能力和抗氧化活性,超声波处理可以促进代谢,因此,桑黄多糖可作为新型天然的抗氧化剂用于食品或药品中。李宜明等^[47]采用固态发酵的培养基来提取桑黄多糖,ig给予CTX创伤小鼠,将实验小鼠随机分为5组,即桑黄多糖高、中、低剂量组,

阴性组,阳性组,每组10只,阴性、阳性组用0.2 mL生理盐水ig,实验组ig 0.2 mL的桑黄多糖,阳性组和实验组都注射40 mg·kg⁻¹CTX,再分别ig桑黄多糖稀释液0.2 mL,每天1次,连续15 d。末次给药后,摘眼球取血,离心得到血清,取出肝脏,测血清中和肝脏组织中的超氧化物歧化酶(SOD)活性以及丙二醛(MDA)质量分数。实验结果表明,桑黄多糖能够提高SOD的活性,降低MDA水平,从而增强机体的抗氧化功能。

2.6 调血脂

桑黄多糖具有很好调血脂作用,Feng等^[48]通过SD大鼠喂饲高脂饲料和桑黄多糖PLP来研究其调血脂作用时,将24只小鼠随机分成3组,第1组8只小鼠用正常食物喂养,其余16只用高脂高果糖饲料(HFD)喂养16周,从第12周开始,将HFD喂养的小鼠随机分为2组,1组每天ig 50 mg·kg⁻¹ PLP,持续4周,另1组给予生理盐水。结果发现,HFD喂养增加了小鼠的体质量和肝质量,而桑黄多糖PLP给药降低了小鼠的肝质量,无论是桑黄菌丝体还是细胞外多糖都有明显的调血脂活性,但是胞内多糖效果更佳,桑黄多糖的功效可能是由于其能够促进肝胆循环、提高酮体利用率和加速脂肪分解,同时它还是水溶性纤维,所以可以显著调节血脂水平。

2.7 其他

除了上述生物活性,桑黄多糖还具有降血压、抗辐射、抗溃疡、抗衰老、抗病毒等生物活性^[49]。

3 结语

目前,桑黄多糖的提取分离方法在继承传统技术基础上,又发展出一些新的技术,已经得到广泛的应用,本文总结了8种提取方法,即热水浸提法、超声波提取法、酶解提取法、微波提取法、低温低压法、超声波协同复合酶提取法、超声波辅助热水提取法和超声波微波协同辅助提取法。通过实验证明超声波微波协同辅助提取法效果最好,提取率最高,能提高提取的选择性,但在提取过程中要注意超声和微波的时间不要太久,否则会使多糖的成分受到破坏;酶解提取法和微波提取法工艺过程比较严格,对设备要求和成本比较高;超声波提取法和低温低压法提取过程中超声时间久或压力过大都会破坏多糖的结构,从而影响得率;超声波协同复合酶提取法和超声波辅助热水提取法成本高,容易破坏多糖的成分;热水浸提法虽工艺简单,对设备的要求也比较低,但是耗时长、得率低。所以总体来说超声波微波协同辅助提取法的提取率最高,比

较实用。但因其多糖成分复杂,提取分离困难,需要在已有提取方法的基础上进一步优化提取条件,也需要进一步探索更高效的提取分离方式,更加准确地检测桑黄中的活性成分及构效关系,为后续研究提供依据。

桑黄的活性成分对人体有多种益处,近10多年来,桑黄的抗肿瘤、降血糖、免疫调节、抗炎、抗氧化作用受到广泛关注。尤其对于癌症治疗,桑黄是已知高等真菌中抗癌效果最好的菌类,对早期癌症细胞的生长有很好的抑制作用。桑黄多糖在抗肿瘤、抗氧化、降血糖等方面的药理作用具有广阔的市场前景,但因为不同的提取方法对结构特征产生不同的影响,从而产生不同的活性多糖,抗癌活性与桑黄多糖结构之间的关系还不是十分明确,目前的药理研究只是一些药效指标的探索,对深层次的分子机制还不明确,因此需要继续了解不同的活性成分与结构之间的关系。桑黄多糖的药理研究以细胞水平的实验居多,动物在体实验相对较少,桑黄的药理作用研究应逐渐由体外试验向体内试验方向发展。目前对桑黄药效机制的研究还属于初步探索阶段,今后可以更深入地探索桑黄多糖药理作用的分子机制及其作用的靶点等,为其更加深入的临床研究及临床应用提供依据。

桑黄已广泛应用于食品、药品以及护肤品等领域,例如桑黄液体发酵茶饮料,具有桑黄特有的味道,甜爽适口^[50];用于抗衰老并保护肝脏细胞免受免疫性损伤的桑黄多糖胶囊^[51];除此之外,还有能够明显提高免疫功能的桑黄保健口服液等^[52]。相信随着基础研究的展开,桑黄能够更好地应用于生活的各个领域,并结合现代制药技术和生物技术,实现桑黄多糖产品的大规模使用,更好地应用于食品、药品、保健品和化妆品等诸多领域。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李彦颖,张祺,陈晓华,等.桑黄多糖的分离纯化、生物活性及其产品开发研究进展[J].食用菌,2022,30(1):26-31,61.
Li Y Y, Zhang Q, Chen X H, et al. Research progress in purification, bio-activity and product development of polysaccharides from *Phellinus igniarius* [J]. Edible Med Mush, 2022, 30(1): 26-31, 61.
- [2] 戴玉成,崔宝凯.药用真菌桑黄种类研究[J].北京林业大学学报,2014,36(5):1-7.
Dai Y C, Cui B K. Progress on the species of medicinal

- fungus inonotus sanghuang [J]. J Beijing Forestry Univ, 2014, 36(5): 1-7.
- [3] 范祺, 吴茂玉, 张博华, 等. 桑黄的主要活性成分及国内外研究进展 [J]. 中国果菜, 2022, 42(11): 50-55.
- Fan Q, Wu M Y, Zhang B H, et al. Main active components of *Phellinus linteus* and its domestic and international research progress [J]. China Fruit Veget, 2022, 42(11): 50-55.
- [4] 于艳杰, 王芳芳, 马红红, 等. 桑黄生物活性成分及药理作用研究进展 [J]. 特种经济动植物, 2022, 25(10): 94-99.
- Yu Y J, Wang F F, Ma H H, et al. Progress in the study of bioactive components and pharmacological effects of *Phellinus igniarius* [J]. Spec Econ Anim Plants, 2022, 25 (10): 94-99.
- [5] Chen H, Tian T, Miao H, et al. Traditional uses, fermentation, phytochemistry and pharmacology of *Phellinus linteus*: A review [J]. Fitoterapia, 2016, 113: 6-26.
- [6] 严红实, 金乾坤, 李鹏飞, 等. 桑黄多糖的提取及抗氧化性研究 [J]. 食品科技, 2013, 38(6): 201-205.
- Yan H S, Jin Q K, Li P F, et al. Extraction and antioxidation of polysaccharide from *Phellinus linteus* [J]. Food Sci Technol, 2013, 38(6): 201-205.
- [7] 李志涛, 梁魁景, 张志强, 等. 超声波辅助提取桑黄菌丝体多糖工艺研究 [J]. 农业科技与装备, 2018, 284(2): 42-43.
- Li Z T, Liang K J, Zhang Z Q, et al. Research on process of ultrasonic assisted extraction of *Phellinus igniarius* polysaccharide [J]. Agric Sci Technol Equip, 2018, 284 (2): 42-43.
- [8] 史玉宝, 白卫东, 赵文红, 等. 酶解辅助提取桑黄粗多糖的工艺优化 [J]. 农产品加工, 2019, 488(18): 29-32, 35.
- Shi Y B, Bai W D, Zhao W H, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis- assisted extraction of polysaccharides from *Phellinus igniarius* [J]. Farm Prod Proc, 2019, 488(18): 29-32, 35.
- [9] 秦俊哲, 任金玫, 殷红. 响应面法优化微波辅助提取桑黄子实体多糖的工艺研究 [J]. 陕西科技大学学报: 自然科学版, 2014, 32(4): 89-92, 96.
- Qin J Z, Ren J M, Yin H. Optimization of microwave assisted the extaction of *Phellinus Igniarius* polysaccharides using surface methodology [J]. J Shaanxi Univ Sci Technol, 2014, 32(4): 89-92, 96.
- [10] 李乐, 马瑶, 李亭亭, 等. 低温低压法提取桑黄菌丝体活性多糖 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(8): 49-53.
- Li L, Ma Y, Li T T, et al. Extraction of active polysaccharide from *Phellinus* species by a low temperature and pressure method [J]. Food Res Dev, 2016, 37(8): 49-53.
- [11] 程俊文, 贺亮, 魏海龙, 等. 超声波协同复合酶法提取桑黄多糖工艺优化 [J]. 浙江林业科技, 2017, 37(4): 33-38.
- Cheng J W, He L, Wei H L, et al. Ultrasonic-assisted enzymatic method extraction of polysaccharide from *Inonotus sanghuang* [J]. J Zhejiang Fores Sci Technol, 2017, 37(4): 33-38.
- [12] 曾鹏, 黄世荣, 刘明明, 等. 应用响应面法优化超声波辅助热水提取桑黄多糖的工艺条件 [J]. 蚕业科学, 2015, 41(5): 928-933.
- Zeng P, Huang S R, Liu M M, et al. Optimization for ultrasonic-assisted hot water extracting condition of polysaccharides from *Phellinus baumii* by response surface meth-odology [J]. Sci Sericul, 2015, 41(5): 928-933.
- [13] 应瑞峰, 黄梅桂, 王耀松, 等. 桑黄子实体多糖超声波微波协同辅助提取及活性研究 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(21): 82-88.
- Ying R F, Huang M G, Wang Y S, et al. Ultrasonic-microwave synergistic assisted extraction and activity of polysaccharides from *Phellinus igniarius* [J]. Food Res Dev, 2019, 40(21): 82-88.
- [14] 薛丹, 黄豆豆, 黄光辉, 等. 植物多糖提取分离纯化的研究进展 [J]. 中药材, 2014, 37(1): 157-161.
- Xue D, Huang D D, Huang G Het al. Research progress in extraction, separation and purification of plant polysaccharides [J]. J Chin Med Mater, 2014, 37(1): 157-161.
- [15] Shao L J, Sun Y, Liang J, et al. Decolorization affects the structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharides from *Thesium chinense* Turcz: Comparison of activated carbon and hydrogen peroxide decolorization [J]. Int J Biol Macromol, 202, 155: 1084-1091.
- [16] Yuan Q X, Zhao L Y, Li Z H, et al. Physicochemical analysis, structural elucidation and bioactivities of a high-molecular-weight polysaccharide from *Phellinus igniarius* mycelia [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 120(Pt B): 1855-1864.
- [17] Zhang H N, Ma H L, Liu W, et al. Ultrasound enhanced production and antioxidant activity of polysaccharides from mycelial fermentation of *Phellinus igniarius* [J]. Carbohydr Polym, 2014, 113: 380-387.
- [18] Gao W W, Wang W D, Sun W J, et al. Antitumor and immunomodulating activities of six *Phellinus igniarius* polysaccharides of different origins [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(5): 4627-4632.
- [19] Yang N C, Wu C C, Liu R H, et al. Comparing the functional components, SOD-like activities,

- antimutagenicity, and nutrient compositions of *Phellinus igniarius* and *Phellinus linteus* mushrooms [J]. J Food Drug Anal, 2016, 24(2): 343-349.
- [20] Li SC, Yang X M, Ma H L, et al. Purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides extracted from *Phellinus igniarius* mycelia [J]. Carbohydr Polym, 2015, 133: 24-30.
- [21] Chen L, Pan J Z, Li X, et al. Endo-polysaccharide of *Phellinus igniarius* exhibited anti-tumor effect through enhancement of cell mediated immunity [J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(2): 255-259.
- [22] Yang Y, Zhang J S, Liu Y F, et al. Structural elucidation of a 3-O-methyl-D-galactose-containing neutral polysaccharide from the fruiting bodies of *Phellinus igniarius* [J]. Carbohydr Res, 2007, 342(8): 1063-1070.
- [23] Yang Y, Ye L B, Zhang J S, et al. Structural analysis of a bioactive polysaccharide, PISP1, from the medicinal mushroom *Phellinus igniarius* [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2009, 73(1): 134-139.
- [24] Cheng J W, Song J L, Liu Y, et al. Conformational properties and biological activities of α -D-mannan from *Sanghuangporus sanghuang* in liquid culture [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 164: 3568-3579.
- [25] 葛青, 毛建卫, 张安强, 等. 桑黄子实体多糖的分离纯化及结构鉴定 [J]. 食品科技, 2013, 38(3): 168-171, 175.
Ge Q, Mao J W, Zhang A Q, et al. Isolation, purification and structural elucidation of polysaccharide from the fruiting bodies of *Phellinus baumii* Pilát [J]. Food Sci Technol, 2013, 38(3): 168-171, 175.
- [26] Mei Y X, Zhu H, Hu Q M, et al. A novel polysaccharide from mycelia of cultured *Phellinus linteus* displays antitumor activity through apoptosis [J]. Carbohydr Polym, 2015, 124: 90-97.
- [27] Pei J J, Wang Z B, Ma H L, et al. Structural features and antitumor activity of a novel polysaccharide from alkaline extract of *Phellinus linteus* mycelia [J]. Carbohydr Polym, 2015, 115: 472-477.
- [28] Yan J K, Wang Y Y, Ma H L, et al. Structural characteristics and antioxidant activity *in vivo* of a polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* mycelia [J]. J Taiwan Inst Chem Eng, 2016, 65: 110-117.
- [29] Liu Y H, Liu C H, Jiang H Q, et al. Isolation, structural characterization and neurotrophic activity of a polysaccharide from *Phellinus ribis* [J]. Carbohydr Polym, 2015, 127: 145-151.
- [30] Yan J K, Wang Y Y, Wang Z B, et al. Structure and antioxidative property of a polysaccharide from an ammonium oxalate extract of *Phellinus linteus* [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 91: 92-99.
- [31] Cheng J W, Song J L, Wei H L, et al. Structural characterization and hypoglycemic activity of an intracellular polysaccharide from *Sanghuangporus sanghuang* mycelia [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 164: 3305-3314.
- [32] Song T Y, Lin H C, Yang N C, et al. Antiproliferative and antimetastatic effects of the ethanolic extract of *Phellinus igniarius* (Linnaeus: Fries) Quellet [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 115(1): 50-56.
- [33] Shon Y H, Nam K S. Inhibition of cytochrome P450 isozymes and ornithine decarboxylase activities by polysaccharides from soybeans fermented with *Phellinus igniarius* or *Agrocybe cylindracea* [J]. Biotechnol Lett, 2004, 26(2): 159-163.
- [34] 孟庆龙, 潘景芝, 陈丽等. 桑黄胞内及胞外多糖对荷瘤小鼠减毒增效作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 847-852.
Meng Q L, Pan J Z, Chen L, et al. Decreasing toxicity and synergistic effects of intracellular and extracellular polysaccharides from *Phellinus igniarius* to tumor-bearing mice [J]. China J Chin Mater Med, 2012, 37(6): 847-852.
- [35] 傅海庆, 林希, 傅华英, 等. 复方桑黄口服液粗多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 农业科学与技术, 2015, 16(6): 1290-1294.
Fu H Q, Lin X, Fu H Y, et al. Effects of compound *Phellinus igniarius* (L. ex Fr.) Quel. oral liquid's polysaccharide on the immunologic function of mice [J]. Agric Sci Technol, 2015, 16(6): 1290-1294.
- [36] 刘燕琳, 刘海燕, 常金, 等. 桑黄多糖对肉瘤S180细胞体内外的抑瘤作用 [J]. 中国药房, 2017, 28(22): 3069-3072.
Liu Y L, Liu H Y, Chang J, et al. Antitumor effect of *Phellinus linteus* polysaccharide on sarcoma S180 cells *in vivo* and *in vitro* [J]. China Pharm, 2017, 28(22): 3069-3072.
- [37] 高雯雯, 张娜, 俞淑文. 桑黄抗肿瘤及其作用机制的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(21): 4165-4168.
Gao W W, Zhang N, Yu S W. Research progress on antitumor effects and mechanisms of *Phellinus* [J]. China J Chin Mater Med, 2014, 39(21): 4165-4168.
- [38] Huang H Y, Chieh S Y, Tso T K, et al. Orally administered mycelial culture of *Phellinus linteus* exhibits antitumor effects in hepatoma cell-bearing mice [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 133(2): 460-466.
- [39] Yoo J H, Lee Y S, Ku S, et al. *Phellinus baumii* enhances the immune response in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice [J]. Nutr Res, 2020, 75: 15-31.
- [40] Liu M M, Zeng P, Li X T, et al. Antitumor and immunomodulation activities of polysaccharide from

- Phellinus baumii* [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 91: 1199-1205.
- [41] Wang Y Q, Mao J B, Zhou M Q, et al. Polysaccharide from *Phellinus igniarius* activates TLR4-mediated signaling pathways in macrophages and shows immune adjuvant activity in mice [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 123: 157-166.
- [42] Lung M Y, Tsai J C, Huang P C. Antioxidant properties of edible basidiomycete *Phellinus igniarius* in submerged cultures [J]. J Food Sci, 2010, 75(1): E18-24.
- [43] 史得君, 崔清美, 齐欣, 等. 桑黄多糖对I型糖尿病小鼠模型的影响 [J]. 延边大学农学学报, 2017, 39(3): 33-38.
- Shi D J, Cui Q M, Qi X et al. Effect of *Phellinus igniarius* polysaccharide on type I diabetes mice model [J]. Agric Sci J Yanbian Univ, 2017, 39(3): 33-38.
- [44] Xie Z L, Wang Y, Huang J Q, et al. Anti-inflammatory activity of polysaccharides from *Phellinus linteus* by regulating the NF- κ B translocation in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 129: 61-67.
- [45] Hu T, Lin Q L, Guo T, et al. Polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* mycelia exerts anti-inflammatory effects via MAPK and PPAR signaling pathways [J]. Carbohydr Polym, 2018, 200: 487-497.
- [46] Zhang H N, Ma H L, Liu W, et al. Ultrasound enhanced production and antioxidant activity of polysaccharides from mycelial fermentation of *Phellinus igniarius* [J]. Carbohydr Polym, 2014, 113: 380-387.
- [47] 李宜明, 沈业寿, 季俊虬, 等. 桑黄菌质多糖的固态发酵及其抗氧化作用 [J]. 合肥工业大学学报: 自然科学版, 2006(12): 1580-1583.
- Li Y M, Shen Y S, Ji J Q, et al. Solid fermentation of polysaccharide from *Phellinus igniarius* and its effects on SOD and MDA in blood of mice [J]. J Hefei Univ Technol: Nat Sci Ed, 2006(12): 1580-1583.
- [48] Feng H, Zhang S J, Wan J M, et al. Polysaccharides extracted from *Phellinus linteus* ameliorate high-fat high-fructose diet induced insulin resistance in mice [J]. Carbohydr Polym, 2018, 200: 144-153.
- [49] 陆春霞, 董桂清, 梁贵秋, 等. 桑黄活性成分的药理作用及人工栽培研究进展 [J]. 广西蚕业, 2019, 56(4): 42-51.
- Lu C X, Dong G Q, Liang G Q, et al. Research progress on pharmacological action and artificial cultivation of active components of *Phellinus igniarius* [J]. Guangxi Sericul, 2019, 56: 42-51.
- [50] 邵伟, 陈良辉, 熊泽, 等. 桑黄液体发酵茶饮料工艺研究 [J]. 中国酿造, 2016, 35(12): 184-187.
- Shao W, Chen L H, Xiong Z, et al. Study on the process *Phellinus igniarius* tea beverage with submerged fermentation [J]. China Brewing, 2016, 35(12): 184-187.
- [51] Ku Y H, Kang J H, Lee H. Effects of *Phellinus linteus* extract on immunity improvement: A consort-randomized, double-blinded, placebo-controlled trial [J]. Medicine, 2022, 101(34): e30226.
- [52] 傅海庆. 桑黄保健口服液的研制 [D]. 福州: 福建农林大学, 2005.
- Fu H Q. A research and development of health care oral liquid of *Phellinus igniarius* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2005.

[责任编辑 李红珠]