

铁皮石斛免疫调节作用及相关活性成分多糖的研究进展

吴蓓丽, 吴月国, 赵铮蓉, 刘 骅*

浙江省医学科学院, 浙江 杭州 310013

摘 要: 基于近年来国内外铁皮石斛免疫调节功能的研究, 综述了铁皮石斛对机体的免疫调节作用, 并从提取、分离纯化、结构组成及含量测定 4 个层面, 总结了铁皮石斛免疫调节相关的重要活性成分多糖的研究进展, 以为铁皮石斛保健产品的研究和开发提供理论依据。

关键词: 铁皮石斛; 免疫调节; 多糖; 保健品; 提取分离

中图分类号: R285; R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)21-5373-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.034

Advances in immunoregulatory effects and bioactive compounds of polysaccharides from *Dendrobium officinale*

WU Bei-li, WU Yue-guo, ZHAO Zheng-rong, LIU Hua

Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China

Abstract: Based on the previous studies in recent years, this advances made a summary of immunoregulatory effects from *Dendrobium officinale*. And the research advances on related bioactive compounds of polysaccharides in extraction, separation and purification, structural composition and content determination were systemically reviewed. This paper intended to provide a theoretical basis for reasonable research and exploitation of related health foods of *D. Officinale*.

Key words: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; immunoregulation; polysaccharides; health products; extraction and separation

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 为我国传统名贵中药材,《本草正义》记载:“必以皮色深绿,质地坚实,生嚼之脂膏黏舌,味厚味甘者为上品,名铁皮鲜斛,价亦较贵”^[1]。其茎入药,有益胃生津、滋阴清热的功效。《中国药典》2015 年版^[2]石斛品种收载了金钗石斛 *D. nobile* Lindl.、鼓槌石斛 *D. chrysotoxum* Lindl. 或流苏石斛 *D. fimbriatum* Hook. 的栽培品及其同属植物近似种,而将铁皮石斛单独列出。

由于其全面的滋阴补益作用和广泛的保健功效,近年来以铁皮石斛为原料开发研究的保健产品市场应用广泛。通过查询国家食品药品监督管理局保健食品数据库,截止到 2019 年 2 月,已获得国家批准的铁皮石斛相关产品有 99 种,包括铁皮石斛胶囊、铁皮石斛颗粒、铁皮枫斗晶等。这些产品的功能描述主要包括增强免疫力(免疫调节)、缓解体

力疲劳(抗疲劳)、清咽(清咽润喉)等,其中具增强免疫功能的产品获批最多,占比超过 8 成。本文就近年来铁皮石斛对机体免疫功能的调节作用及免疫调节作用的活性成分多糖 2 个方面的文献进行综述,以为铁皮石斛保健产品的研究和开发提供理论依据。

1 铁皮石斛对机体免疫功能的调节作用

铁皮石斛味甘,性微寒,补肝悦脾,能提高机体免疫力,增强体质^[3]。多项药理学研究表明,铁皮石斛可通过多途径、多层面面对机体的特异性及非特异性免疫发挥调节作用^[4],见表 1。

T、B 淋巴细胞是机体维持正常免疫功能的主要细胞,细胞因子则是由免疫细胞和某些非免疫细胞合成分泌的细胞间信号传递分子。铁皮石斛可通过刺激 T、B 淋巴细胞的增殖、调节某些细胞因子(如 IL-2、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 等)的水平和活化

收稿日期: 2019-03-10

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2017KY039)

作者简介: 吴蓓丽,女,研究实习生,研究方向为中药及大健康产品研发。Tel: (0571)88215630 E-mail: 302901880@qq.com

*通信作者 刘 骅,男,副研究员。E-mail: xizhuliu@163.com

表 1 铁皮石斛免疫调节作用研究情况

Table 1 Studies on immunoregulatory effects of *D. officinale*

实验样品	给药形式	实验动物/细胞	免疫调节作用及机制	参考文献
铁皮石斛	水煎液	环磷酰胺模型小鼠	有效协同刀豆蛋白 (ConA)、脂多糖 (LPS) 刺激脾脏 T、B 淋巴细胞的增殖	5
铁皮石斛	水煎液	环磷酰胺模型小鼠	显著提高白细胞介素-2 (IL-2)、 γ 干扰素 (IFN- γ) 含量	6
铁皮石斛纯粉	纯粉加植物油	环磷酰胺模型小鼠	上调血清中 IL-2、IL-6、IFN- γ 、促肾上腺皮质激素 (ACTH)、环磷酸腺苷 (cAMP) 等细胞因子的表达水平	7
铁皮石斛超微粉末、原药材	超微粉末加蒸馏水、原药材水煎液	绵羊红细胞 (SRBC)、ConA 诱导小鼠	4.5 g·kg ⁻¹ 剂量增强 SRBC 引起的小鼠迟发型变态反应、增强小鼠淋巴细胞增殖能力、明显增强巨噬细胞吞噬能力和 NK 细胞活性; 1.5、4.5 g·kg ⁻¹ 剂量增强小鼠产生抗体生成细胞的能力和血清溶血素的能力	8
铁皮石斛细粉	细粉加生理盐水	动脉粥样硬化 (AS) 模型小鼠	降低血清和主动脉内肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 的表达	9
铁皮石斛多糖	2,3-O-乙酰化-1,4- β -D-葡甘露聚糖	THP-1 细胞	通过 Toll 样受体 4 (TLR4) 信号通路介导的核转录因子- κ B (NF- κ B) 诱导免疫应答, CC 趋化因子配体 4 (CCL4) 和干扰素诱导蛋白 10 (IP10) 可能是由 O-乙酰化葡甘露聚糖刺激的免疫应答的新靶标	10
铁皮石斛多糖	多糖加生理盐水	链脲佐菌素诱导的糖尿病模型大鼠	降低炎症因子 IL-6、TNF- α 的表达, 进而抑制血管内皮生长因子 (VEGF) 表达上调, 其作用机制可能与 NF- κ B 通路有关	11
铁皮石斛多糖	多糖加 DMSO, 临用前再加培养液稀释	阿司匹林损伤型人胃黏膜上皮细胞 GES-1	下调 TNF- α 、IL-6 的分泌和相关 mRNA 的表达、降低 NF- κ B 通路中核因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B α)、p65 磷酸化以及增加 I κ B α 、p65 的蛋白表达量	12

NF- κ B 发挥特异性免疫调节作用。巨噬细胞的吞噬能力和 NK 细胞的活性高低均可以反映机体非特异性免疫功能状况。铁皮石斛亦可增加巨噬细胞和 NK 细胞等非特异性免疫细胞的活性, 发挥非特异性免疫调节功能。

2 铁皮石斛免疫调节活性成分多糖研究

铁皮石斛含有多糖、联苳类和菲类、生物碱类、黄酮类化合物以及氨基酸和微量元素等化学成分^[13]。文献报道中与铁皮石斛免疫调节有关的活性成分多为石斛多糖^[14-16]。

2.1 铁皮石斛多糖的提取、分离纯化

传统的石斛质量评价多以质重、黏齿、无渣者为佳。铁皮石斛是质量上乘的石斛品种, 多糖是其主要的功效成分。现代研究表明铁皮石斛多糖具有抗氧化、免疫调节、抗肿瘤、降血糖等生物活性^[17]。在石斛类保健产品研制时, 应尽可能将多糖等活性成分提取出来, 以提高产品质量和临床效果。目前对铁皮石斛多糖的提取主要有以下 6 种方法: (1) 热水提取是石斛多糖提取应用最多的一种传统提取方法, 包括热水浸提和加热回流提取; (2) 酶解提取是利用酶水解细胞壁, 使细胞中含有的物质充分

溶解到水中, 达到高效提取的技术, 近年来应用比较广泛^[18]; (3) 超声提取是利用超声波的空化效应和震动原理将细胞壁破坏, 加速目标成分进入溶剂, 近年来普遍用于中药材有效成分的提取; (4) 微波提取法利用微波电磁场加快分子的运动速率、增多分子间的碰撞频率, 使细胞壁和细胞膜破裂, 有利于天然活性成分迅速浸出、扩散; (5) 闪式提取是一种较新的快速常温提取技术^[17,19]; (6) 超高压提取是利用超高压作用破坏细胞壁, 促进胞内多糖溶出^[17]。铁皮石斛多糖提取方法见表 2。各提取方法的优缺点^[34-35,38-39]见表 3。

在利用上述提取方法优化最佳提取工艺时, 采用的评价指标一般为多糖提取率, 考察方式有单因素实验、正交试验、均匀设计等, 也有单因素和正交试验、单因素和响应面法联用, 其中以单因素和正交试验联用居多。热水提取通常考察料液比、提取温度、提取时间、提取次数 4 个因素; 酶解提取常使用的酶有纤维素酶、果胶酶、木瓜蛋白酶等或上述的复合酶; 考虑功率过高会破坏多糖结构, 超声波或微波辅助提取则需考察功率; 闪式提取及超高压提取都是新型方法, 在提取时间上具有明显优

表 2 铁皮石斛多糖提取方法研究情况

Table 2 Studies on extraction methods of polysaccharides from *D. officinale*

提取方法	考察方式	考察因素	最佳提取工艺	提取率/%	参考文献
热水提取	均匀设计	料液比、提取温度、提取时间、提取次数	1 : 70、90 ℃、78.5 min、2 次	41.31	20
	单因素+正交试验	料液比、浸提温度、提取次数	1 : 40、90 ℃、3 次	24.60	21
		料液比、浸提温度、提取时间	1 : 30、70 ℃、5 h	3.55	22-23
			1 : 120、70 ℃、90 min	55.20	24
		料液比、提取时间、提取次数	1 : 40、2 h、3 次	—	25
		料液比、浸提温度、浸提时间、提取次数	1 : 40、70 ℃、4 h、1 次	4.67	26
	单因素+响应面法	液料比、提取时间、提取次数	1 : 75、2 h、3 次	34.96	27
		料液比、提取温度、提取时间	1 : 30、90 ℃、2 h	30.56	28
酶解提取	单因素实验	酶解温度、酶解时间、加酶量	40 ℃、1 h、2.5% α -L-鼠李糖苷酶	38.40	29
	单因素+正交试验	酶解温度、酶解时间、酶浓度、pH	50 ℃、135 min、1%纤维素酶-果胶酶 (1 : 1)、pH 6.5	40.76	18
		酶解温度、酶解时间、酶浓度、酶配比、pH、料液比	55 ℃、3 h、10%中性蛋白酶-纤维素酶 (2 : 1)、pH 6.0、1 : 120	43.85	30
		酶解温度、酶浓度、pH	60 ℃、1 500 U·L ⁻¹ 果胶酶、pH 6.0	14.89	31
超声波或微波辅助提取	正交试验	料液比、浸提时间、提取次数	1 : 20、0.5 h、8 次	—	32
	单因素+正交试验	料液比、提取温度、提取时间、微波功率	1 : 45、95 ℃、30 min、900 W	9.77	33
		超声温度、超声时间、超声频率	25 ℃、20 min、24 kHz	15.78	31
	单因素+响应面法	料液比、提取温度、超声时间	1 : 50、40 ℃、30 min	25.28	34
闪式提取	单因素+正交试验	液料比、闪式提取时间、闪式提取转速	1 : 15、2 min、4 000 r·min ⁻¹	31.42	35
	正交试验	液料比、提取温度、提取次数	1 : 30, 浸泡 30 min 后常温提取 3 次, 每次提取 2 min	27.70	36
超高压提取	单因素+正交试验	粉碎度、液料比、压力、时间	粉碎到 80 目后, 液料比 1 : 20, 300 MPa 压力提取 6 min	19.27	37

表 3 铁皮石斛多糖提取方法优缺点

Table 3 Advantages and disadvantages on extraction methods of polysaccharides from *D. officinale*

提取方法	优点	缺点
热水提取	操作简单、成本低廉	提取率低于超声提取和闪式提取, 且周期长、耗能高
酶解提取	提取时间短、过程条件温和、对环境无污染	—
超声波辅助提取	设备简单、操作方便、提取时间短、提取率高、无需加热、成本低廉	超声波功率过高会破坏多糖结构
微波辅助提取	提取量高、快速、预处理和操作成本低及对环境无污染等	微波穿透厚度有限, 应用有限
闪式提取	节能、快速高效、常温提取	—
超高压提取	提取时间短、能量消耗少等	能够影响如蛋白质、淀粉等生物大分子的立体结构, 需要特定的提取设备

势。同一提取方法中不同文献报道的最佳提取工艺, 其多糖提取率差别较大, 这可能除了与提取参数的选择不同有关外, 还与在文献中未详细描述的铁皮

石斛原料的前处理方法有很大关联。目前铁皮石斛多糖提取的主要 6 种方法各有优缺点, 选择时可依据已有设备, 综合提取效率、能耗等因素考虑。

铁皮石斛经不同提取方法得到的提取物中常含有单糖、低聚糖、蛋白质、脂类、色素等杂质,去除这些影响多糖含量、活性和功效的干扰物质至关重要。通常以 80%乙醇沉淀去除单糖、低聚糖;除去蛋白常用的方法有盐酸法、三氟乙酸法、Sevag 法、酶法和酶-Sevag 法;为减少所提取的多糖中脂类含量,可先用低极性溶剂如石油醚除去亲脂性成分,然后用水或稀醇提取;活性炭脱色法去除色素效果良好。

2.2 铁皮石斛多糖的结构组成

多糖的单糖组成分析是研究石斛生物活性的重要前提,也是进行多糖质量控制的重要依据。铁皮石斛多糖的结构组成研究现状见表 4。

水提醇沉法提取的石斛多糖,在脱蛋白的基础上采用离子交换树脂法、凝胶过滤柱色谱法等进一步分

离纯化,得到由不同单糖组成、物质的量比存在差异的多糖组分。总结现有文献发现,铁皮石斛多糖主要由甘露糖、葡萄糖、半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等单糖以不同摩尔比通过特定的结构组成。多糖的单糖组成与药理作用有着密切的关系,探究单糖组成对制定石斛多糖质量标准及研究铁皮石斛药理活性具有重要意义。

2.3 铁皮石斛多糖的含量测定

多糖、甘露糖是《中国药典》2015 年版铁皮石斛的含量测定指标^[2]。目前用于铁皮石斛多糖的含量测定方法主要有苯酚-硫酸法、蒽酮-硫酸法,也有以苯酚-硫酸法测得的总糖减去 DNS (3,5-二硝基水杨酸) 比色法测得的单糖表示多糖含量,铁皮石斛多糖含量测定方法见表 5。

表 4 铁皮石斛多糖的结构组成研究情况

Table 4 Studies on structural composition of polysaccharides from *D. officinale*

提取方法	提取条件	分离纯化手段	单糖组成	参考文献
水提醇沉法	料液比 1 : 20, 90 °C 水浴提取 2 h, 3 次	提取后酶-Sevag 法脱蛋白, 再经 DEAE-52 纤维素柱、Sephadex G-100 凝胶柱	甘露糖、葡萄糖、半乳糖 (物质的量比 1 : 0.42 : 0.27)	40
水提醇沉法	料液比 1 : 10, 80 °C 水浴提取 2 h, 3 次	提取前石油醚脱脂, 提取后 α -淀粉酶水解淀粉, 再经 DEAE-Sephacryl-400 阴离子交换柱、Sephacryl-400 凝胶柱	甘露糖、葡萄糖 (物质的量比 4.9 : 1.0)	41
水提醇沉法	75 °C 热水浸提取 3 次	提取前 85% 乙醇浸泡, 提取后 Sevag 法脱蛋白, 再经 DEAE-52 阴离子交换柱、Sephadex G-100 凝胶柱	甘露糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖 (物质的量比 3.42 : 0.11 : 1.08); 甘露糖、葡萄糖 (物质的量比 8.56 : 1.12, 4.91 : 1.09, 3.61 : 1.01)	42
水提醇沉法	料液比 1 : 5, 2 次	提取前石油醚脱脂、80% 乙醇脱单糖, 提取后 Sevag 法脱蛋白, 再经 DEAE-52 纤维素柱、Sephadex G-200 凝胶柱	D-甘露糖、L (+)-鼠李糖、D-葡萄糖 (物质的量比 1.936 : 0.856 : 0.691)	43
水提醇沉法	70 ~ 75 °C 热水提取	DEAE-52 纤维素柱、凝胶柱	甘露糖、葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖醛酸 (物质的量比 6.2 : 2.3 : 2.1 : 0.1)	44

表 5 铁皮石斛多糖含量测定研究情况

Table 5 Studies on content determination of polysaccharides from *D. officinale*

测定方法	原理	对照品	供试品制备方法	测定波长/nm	参考文献
苯酚-硫酸法	多糖在强酸性条件下脱水生成糠醛或其衍生物, 再与酚类或胺类化合物缩合, 生成有特殊颜色的物质	无水葡萄糖	水提醇沉法	480、485、486、488、489、490	2,20-21,25,31,34-36, 45-47
蒽酮-硫酸法		葡萄糖	复合酶法		30
苯酚-硫酸法	多糖的还原性	葡萄糖	水提醇沉法	620	35
及 DNS 法			水提法	490、540	24

由表 5 可知, 铁皮石斛多糖含量测定以葡萄糖为对照品, 但各测定方法的测定波长存在一定差异: 苯酚-硫酸法为 480~490 nm, 蒽酮-硫酸法为 620 nm, DNS 法为 540 nm。为保证测量值的准确, 各测定方法均在测量前采用水提醇沉等方法以排除单糖、低聚糖、蛋白质、色素等的干扰。还应注意样

品显色后的稳定性问题。

铁皮石斛多糖水解后的主要单糖为甘露糖, 此外还有葡萄糖、半乳糖、木糖等。由于糖类化合物缺乏紫外特征吸收, 需要通过柱前衍生化处理使其形成具有紫外或荧光吸收的衍生物后再进行 HPLC 测定, 见表 6。

表 6 铁皮石斛单糖组成测定研究情况

Table 6 Studies on determination of monosaccharide composition from *D. officinale*

内标物	衍生化试剂	对照品 (按色谱图出峰次序)	色谱柱	流动相	检测波长/nm	参考文献
盐酸氨基葡萄糖	PMP	甘露糖	C ₁₈	乙腈-0.02 mol·L ⁻¹ 乙酸铵 20:80	250	2,48-49
			XDB-C ₁₈	乙腈-0.02 mol·L ⁻¹ 乙酸铵 22:78		46
			BDS C ₁₈	乙腈-0.02 mol·L ⁻¹ 乙酸铵 梯度洗脱		50
L-岩藻糖	PMP	D-甘露糖、D-半乳糖醛酸、D-葡萄糖、D-半乳糖、D-木糖	Kromasil 100-5C ₁₈	乙腈-0.02 mol·L ⁻¹ 乙酸铵 (冰乙酸调 pH 6.7) 梯度洗脱	250	51
盐酸氨基葡萄糖	PMP	D-甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖	ZORBAX SB-C ₁₈	乙腈-0.02 mol·L ⁻¹ 乙酸铵 梯度洗脱	250	52
	PMP	甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、	ZORBAX SB-C ₁₈	乙腈-0.02 mol·L ⁻¹ 乙酸铵 梯度洗脱	250	53
	PMP	甘露糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖	CORTECS C ₁₈	乙腈-0.02 mol·L ⁻¹ 乙酸铵 梯度洗脱	250	54

文献报道的铁皮石斛单糖组成测定的方法多为 HPLC 法, 主要步骤包括: 石斛多糖样品经三氟乙酸等酸水解并中和后, 进行柱前 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (PMP) 衍生化处理, 再采用 C₁₈ 柱、以乙腈-0.02 mol/L 乙酸铵为流动相, 在 250 nm 波长处测定。定量测定的内标物为盐酸氨基葡萄糖或 L-岩藻糖。也有报道将多糖制备成糖腈乙酸酯衍生物, 再采用 GC 分析^[40]。

3 结语

铁皮石斛不仅能刺激淋巴细胞的增殖, 还可促进某些细胞因子如 IL-2、IL-6、IFN-γ 等的生成, 具有特异性免疫调节作用; 同时也能增强巨噬细胞吞噬功能和自然杀伤 (NK) 细胞活性, 发挥非特异性免疫调节功能。目前铁皮石斛免疫调节药理作用的研究主要为提取物和石斛多糖, 其他活性成分的研究不够深入。因此, 需要加大研究铁皮石斛其他成分, 为更合理、有效利用珍稀铁皮石斛资源提供科学依据。

多糖是铁皮石斛发挥增强免疫功效的主要活性成分^[55], 其提取方法主要有热水提取、酶解提取、超声/微波辅助提取、闪式提取和超高压提取。此外, 还有冷压、冻融冷压等新技术^[56]。以上方法各有优缺点, 在优化提取工艺时, 文献报道的评价指标多数为多糖提取率这一单个指标。建议研究者根据所开发保健食品的目标功能、实际条件合理选择。有学者比较了不同提取方法铁皮石斛多糖的提取率、结构和抗氧化活性^[56], 以多指标综合考察多糖提取方法, 为铁皮石斛抗氧化保健食品的开发提供参考。

对提取的石斛多糖进行脱蛋白等除杂后, 经离子交换柱和凝胶柱等方法分离纯化, 得到均一多糖。分析该多糖的单糖组成、纯度、相对分子质量以及结构中单糖连接方式等, 并研究其药理活性, 能为铁皮石斛多糖活性研究以及构效关系提供研究思路。

铁皮石斛多糖含量测定方法有苯酚-硫酸法、蒽

酮-硫酸法及 3,5-二硝基水杨酸比色法、柱前衍生化 HPLC 法和 GC 法。有研究比较苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定铁皮石斛中多糖含量的差异,发现蒽酮-硫酸法结果偏高,该法几乎可以测定所有的碳水化合物,故苯酚-硫酸法测定结果更为合理^[57]。苯酚-硫酸法也是《中国药典》2015 年版铁皮石斛多糖含量测定采用的方法。此外,市场上存在部分企业将非药用部位叶与茎混合投料或以其他石斛属植物冒充铁皮石斛,生产保健食品。因此应进一步深入研究铁皮石斛特征性成分、质量标准,以保证铁皮石斛保健产品的品质。

参考文献

- [1] 赵玉姣, 韩邦兴, 彭华胜, 等. 石斛的历代质量评价沿革与变迁 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(7): 1348-1353.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 詹忠根. 铁皮石斛基因组学、转录组学与功能基因研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3979-3989.
- [4] 梁柳丹, 杨发奋. 铁皮石斛调控机体免疫功能的研究进展 [J]. 右江医学, 2017, 45(2): 240-243.
- [5] 陈星星, 李 焰, 杨小燕, 等. 铁皮石斛对免疫抑制模型小鼠脾脏淋巴细胞体外增殖的影响 [J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(4): 100-103.
- [6] 林福新, 邹奕恒, 张连妹, 等. 铁皮石斛对免疫抑制模型小鼠血清抗氧化酶活性及细胞因子含量的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(5): 39-42.
- [7] 李 伟, 张 静, 周 雯, 等. 铁皮石斛对免疫抑制小鼠的免疫调节作用和血清细胞因子的影响 [J]. 卫生研究, 2016, 45(1): 137-139.
- [8] 吴维佳, 庞 璐, 胡曰红, 等. 铁皮石斛对小鼠免疫功能的影响 [J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(2): 113-114.
- [9] 李亚梅, 吴 萍, 谢雪姣, 等. 铁皮石斛对 ApoE^{-/-}小鼠血脂及 TNF- α , IL-6 的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 270-274.
- [10] Huang Y P, He T B, Cuan X D, et al. 1, 4- β -D-glucomannan from *Dendrobium officinale* activates NF- κ B via TLR4 to regulate the immune response [J]. *Molecules*, 2018, 23(10): 2658-2672.
- [11] 李静文, 李国文, 秦 瑜, 等. 铁皮石斛多糖对糖尿病大鼠视网膜炎症因子表达干预的研究 [J]. 中国中医眼科杂志, 2016, 26(1): 7-11.
- [12] 吴 耽, 江婷婷, 赵 青, 等. 铁皮石斛多糖抗阿司匹林诱导人胃黏膜上皮细胞 GES-1 损伤的保护作用机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(10): 1479-1480.
- [13] 范传颖, 季艳琴. 铁皮石斛化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 当代医药论从, 2017, 15(22): 40-41.
- [14] 李明智, 童 微, 胡婕伦, 等. 铁皮石斛多糖不同级分的制备、性质分析及免疫调节活性比较 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 10-14.
- [15] 刘亚娟, 王诗豪, 张 铭, 等. 铁皮石斛多糖抗癌及免疫活性研究 [J]. 广州化工, 2014, 42(10): 58-60.
- [16] 黄 杰, 章 莹, 严 婧, 等. 铁皮石斛多糖对脂多糖诱导的巨噬细胞免疫调节作用 [J]. 中国药学杂志, 2017, 52(7): 548-552.
- [17] 胡贤春, 郭永兵, 向劲松, 等. 铁皮石斛多糖的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(15): 78-80.
- [18] 唐 政, 陈小香, 黄献珠. 混合酶法提取铁皮石斛中石斛多糖的优化工艺研究 [J]. 北方园艺, 2014(6): 132-134.
- [19] 李智俊, 何旭君, 赵静. 铁皮石斛多糖研究进展 [J]. 生物化工, 2017, 3(6): 91-93.
- [20] 单冰冰, 陈 宽, 李 婷, 等. 均匀设计法优化黔产铁皮石斛多糖热水浸提工艺 [J]. 遵义医学院学报, 2017, 40(5): 560-563.
- [21] 李程程, 丁长春. 水提法优化广南铁皮石斛多糖的提取工艺 [J]. 文山学院学报, 2015, 28(3): 8-10.
- [22] 谢金华. 铁皮石斛多糖提取、纯化及滴眼剂配制的工艺参数分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(32): 83.
- [23] 肖 颖. 铁皮石斛多糖提取工艺的研究 [J]. 信阳农林学院学报, 2014, 24(1): 121-123.
- [24] 吴 迪, 蔡成岗, 沙如意. 铁皮石斛多糖提取工艺优化研究 [J]. 浙江科技学院学报, 2016, 28(6): 444-449.
- [25] 黄 丽, 文凤娟, 李桂琼, 等. 铁皮石斛多糖提取工艺及优化研究 [J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2017, 32(5): 884-888.
- [26] 梅威威, 吴绍康, 张 浩, 等. 铁皮石斛多糖提取工艺及脱蛋白方法研究 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(12): 2869-2872.
- [27] 王建明, 古 力, 康智明, 等. 铁皮石斛多糖的提取工艺优化及其抗氧化活性研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2013, 41(12): 143-148.
- [28] 黄晓君, 聂少平, 王玉婷, 等. 铁皮石斛多糖提取工艺优化及成分分析 [J]. 食品科学, 2013, 34(22): 21-26.
- [29] 杨 岩, 李利君, 吴妙灵, 等. 酶法提取铁皮石斛多糖工艺优化及对挥发性成分的影响研究 [J]. 激光生物学报, 2017, 26(3): 274-280.
- [30] 薛 燕, 耿小双, 黄开丽, 等. 铁皮石斛多糖复合酶法提取工艺及其抗氧化活性 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(3): 215-219.
- [31] 韩 冉, 李 卿, 王汝华, 等. 铁皮石斛多糖提取工艺优化及分子量分析 [J]. 农产品加工, 2017(9): 28-32.
- [32] 肖 胤, 肖 林, 杨 军, 等. 铁皮石斛多糖的提取工艺及其治疗原发性干燥综合征疗效观察 [J]. 临床口腔医学杂志, 2017, 33(6): 363-365.
- [33] 陈盛余, 赵丹丹, 谢 瑜, 等. 铁皮石斛多糖的微波辅

- 助提取工艺研究 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(6): 49-52.
- [34] 邱现创, 赵宁, 李晨, 等. 铁皮石斛多糖提取工艺优化及对果蝇抗氧化能力的影响 [J]. 食品科学, 2018, 39(2): 273-280.
- [35] 李娇, 荣永海, 荣龙. 闪式提取铁皮石斛多糖 [J]. 中药材, 2013, 36(9): 1524-1527.
- [36] 李贝贝, 陈岳亭, 朱孟夏, 等. 铁皮石斛多糖的闪式提取工艺及质量评价 [J]. 药学研究, 2018, 37(5): 270-274.
- [37] 纵伟, 李翠翠. 石斛多糖超高压提取工艺条件的优化 [J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2012, 27(4): 36-39.
- [38] 周晶, 冯淑华. 中药提取分离新技术 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2010.
- [39] 杨明, 付超美, 邱明丰. 中药制剂工艺技术图解表 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [40] 王琳炜, 欧阳臻, 张碧娟, 等. 霍山铁皮石斛多糖的脱蛋白工艺及结构分析 [J]. 食品科学, 2017, 38(12): 164-170.
- [41] 高云霄, 胡小龙, 王月荣, 等. 铁皮石斛多糖的初级结构分析 [J]. 高等学校化学学报, 2018, 39(5): 934-940.
- [42] 罗秋莲, 唐专辉, 张雪凤, 等. 铁皮石斛多糖的分离纯化及其结构研究 [J]. 广西大学学报: 自然科学版, 2016, 41(6): 2060-2066.
- [43] 宾宇波, 王亚芸, 安欣, 等. 铁皮石斛多糖分离纯化及单糖组成测定 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(4): 122-125.
- [44] Luo Q L, Tang Z H, Zhang X F, *et al.* Chemical properties and antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide from *Dendrobium officinale* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 89: 219-227.
- [45] 戴传勇, 周媛, 李泰球, 等. 不同产地铁皮石斛多糖的提取与含量的测定 [J]. 食品工业, 2017, 38(7): 69-71.
- [46] 张雨婷, 郭赛, 张莉, 等. 不同干燥方法对铁皮石斛多糖和甘露糖含量的影响 [J]. 安徽中医药大学学报, 2017, 36(2): 68-71.
- [47] 余丽丽, 汪娇梅, 黄锁义. 广西凌云野生铁皮石斛多糖含量测定及抗氧化性研究 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(12): 2842-2845.
- [48] 颜美秋, 陈素红, 周桂芬, 等. 不同种植年限铁皮石斛多糖、甘露糖含量的测定及其他化学成分比较研究 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(4): 878-881.
- [49] 王建方, 袁玉鲜, 王如伟, 等. 采收期内铁皮石斛多糖类成分含量比较 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(19): 1691-1692.
- [50] 赵立, 阚永军, 庞文生, 等. 市售铁皮石斛多糖及甘露糖含量比较研究 [J]. 海峡药学, 2017, 29(7): 29-31.
- [51] 梁盛, 严慕贤. 6种石斛的水溶性多糖和碱溶性多糖的含量测定与分析 [J]. 广东药科大学学报, 2018, 34(2): 142-147.
- [52] 龚庆芳, 周浩, 王新桂, 等. 7种石斛多糖质量分数的测定及单糖组成分析 [J]. 食品科技, 2013, 38(3): 172-175.
- [53] 邓辉一, 韩邦兴, 陈乃东, 等. 安徽霍山产3种石斛多糖组成的比较研究 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1300-1304.
- [54] 谭丹, 杨传玉, 胡琨, 等. 贵州不同产地铁皮石斛的单糖组成 [J]. 贵州农业科学, 2016, 44(9): 105-108.
- [55] 张雪琴, 赵庭梅, 刘静, 等. 石斛化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(13): 3174-3182.
- [56] He L, Yan X, Liang J, *et al.* Comparison of different extraction methods for polysaccharides from *Dendrobium officinale* stem [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 198: 101-108.
- [57] 范传颖, 陶正明, 吴志刚. 苯酚硫酸法与蒽酮硫酸法测定铁皮石斛中多糖含量的比较 [J]. 浙江农业科学, 2013(7): 799-801.