

灵芝菌丝体三萜及其药理活性的研究进展

冯娜^{1*}, 岳亚文², 程池露³, 杨梅², 汪昆⁴, 张劲松^{1*}

1 上海市农业科学院食用菌研究所 国家食用菌工程技术研究中心 农业部南方食用菌资源利用重点实验室 上海市农业遗传育种重点开放实验室, 上海 201403

2 华东理工大学药学院制药工程与过程化学教育部工程研究中心 上海市新药设计重点实验室, 上海 200237

3 上海海洋大学食品学院, 上海 201306

4 华东理工大学化工学院, 上海 200237

摘要: 菌丝体作为灵芝生长发育过程中的一个特定生理阶段, 会产生不同于子实体和孢子的特定结构的灵芝酸类三萜化合物。本文总结了灵芝菌丝体中已发现和鉴定的三萜化合物结构、生物活性及其构效关系的研究进展, 以期对灵芝菌丝体三萜在生物合成、代谢调控等的基础研究及相关产品的开发应用提供科学参考。

关键词: 灵芝; 菌丝体; 四环三萜; 药理活性

[引用本文] 冯娜, 岳亚文, 程池露, 杨梅, 汪昆, 张劲松, 2022. 灵芝菌丝体三萜及其药理活性的研究进展. 菌物学报, 41(9): 1341-1353

Feng N, Yue YW, Cheng CL, Yang M, Wang C, Zhang JS, 2022. Research progress of triterpenes from mycelia of *Ganoderma lingzhi* and its pharmacological effects. *Mycosystema*, 41(9): 1341-1353

Research progress of triterpenes from mycelia of *Ganoderma lingzhi* and its pharmacological effects

FENG Na^{1*}, YUE Yawen², CHENG Chilu³, YANG Mei², WANG Chan⁴, ZHANG Jingsong^{1*}

1 Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, National Engineering Research Center of Edible Fungi, Key Laboratory of Edible Fungal Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture of P.R. China, Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding of Shanghai, Shanghai 201403, China

2 Engineering Research Centre of Pharmaceutical Process Chemistry, Ministry of Education, Shanghai Key Laboratory of New Drug Design, School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

3 School of Food Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

4 School of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China

Abstract: During vegetative growth and development of *Ganoderma lingzhi* (or *Ganoderma lucidum*), mycelia produce triterpenes with specific structures, which are different from the

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科创字(2018)第 1-1 号)

Supported by Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program, China (G20180101).

*Corresponding authors. E-mail: fengna006@163.com, syja16@saas.sh.cn

Received: 2022-01-24, accepted: 2022-02-25

triterpenes in fruiting bodies and basidiospore. This paper summarized the progress of researches on structures, bioactivities and structure-activity relationship of triterpenes isolated and identified from mycelia of *G. lingzhi* in order to provide scientific reference for the basic research in biosynthesis, metabolic regulation and application of triterpenes and their related products.

Keywords: *Ganoderma lingzhi*; mycelia; tetracyclic triterpenes; pharmacological activity

灵芝 *Ganoderma lingzhi* Sheng H. Wu, Y. Cao & Y.C. Dai 是担子菌门 Basidiomycota、伞菌纲 Agaricomycetes、多孔菌目 Polyporales、多孔菌科 Polyporaceae、灵芝属 *Ganoderma* 真菌, 俗称赤芝。长久以来, 东亚地区的灵芝一直被认为与欧洲灵芝 *G. lucidum* 是同一种。直到 1994 年, Moncalvo *et al.* (1994, 1995)对来自不同地域的所谓的“*Ganoderma lucidum*”进行了分子学研究, 证实了欧洲、亚洲和美洲的灵芝实际上可被分类为 2 个物种。经过系统的研究和比较, 分类学家们将分布在东亚地区(包括中国、日本等)的灵芝命名为 *G. lingzhi* (Cao *et al.* 2012; 戴玉成等 2021)。目前, 在中国广泛人工栽培的灵芝, 大多数属于 *G. lingzhi*。野外生境下, 除了灵芝 *G. lingzhi* 外, 欧洲灵芝 *G. lucidum* (Curtis) P. Karst.在中国也有分布(戴玉成等 2013; Si & Dai 2016)。

20 世纪 80 年代初, 包括欧洲、亚洲在内的很多学者对野生和人工栽培的灵芝进行了化学成分的研究, 三萜作为其中一类重要的活性物质, 一直是植化学家们分离和研究的对象。由于当时认知水平的限制, 很多研究对象都被归属为欧洲灵芝 *G. lucidum*。Nishitoba *et al.* (1986)发现采集自日本 Hasuta 和 Ageo 地区的 2 个灵芝菌株的子实体分别产生了 C30 灵芝酸和 C27 赤芝酸 2 种不同类型的三萜化合物, 这是最早从化学成分方面发现 2 个灵芝菌株之间存在差异的报道。

灵芝菌丝体中的三萜,除了少数几个三萜醇类化合物在子实体和孢子中也有发现外,作为主要成分的灵芝酸类三萜化合物,几乎都是菌丝体所特有的。灵芝菌丝体中这些灵芝酸类化合物,

在抗肿瘤活性上有着优异的表现。虽然过去诸多研究中的灵芝种学名为 *G. lucidum*, 但研究的对象实际是目前的灵芝或东亚灵芝 *G. lingzhi*, 故本文所整理归纳的灵芝 *G. lingzhi* 菌丝体中的三萜化合物,实际也包括了过去相关文献中学名为 *G. lucidum* 的文献,并总结了其生物活性和构效关系研究进展,以期对灵芝菌丝体三萜的生物合成、代谢调控方面的研究和抗肿瘤先导化合物的开发提供帮助。

1 灵芝菌丝体三萜的来源与发酵方式

Toth *et al.* (1983)首次从采自法国 Gif-sur-Yvette 地区的灵芝菌丝体中分离得到羊毛甾烷型三萜化合物,但未具体说明菌种来源、培养基配方和发酵过程。Tseng *et al.* (1984)将来自中国台湾的灵芝菌株 NTU G001 进行了液体发酵条件的优化,在 $(28\pm 2)^\circ\text{C}$ 全光照的条件下将菌丝体静置 14 d, 然后比较 6 种合成培养基(synthetic media)和 7 种完全培养基(complete media)对菌丝体生物量的影响,结果发现该菌在完全培养基上生长最佳,尤其是 PDB (马铃薯 250 mg/mL, 葡萄糖 20 mg/mL)和 PCSB (马铃薯 125 mg/mL, 玉米 125 mg/mL, 蔗糖 20 mg/mL),生物量分别达到了 (451 ± 19) mg/100 mL 和 (467 ± 41) mg/100 mL。随后,几位学者对灵芝菌丝体的化学成分展开了研究,并发表了一系列化合物的结构。但在这些研究中,研究的对象逐渐从 TP-1 (中国台湾种)、AT-4 (ATCC 32471)、AT-5 (未说明来源)和 CJ-3 (未说明来源)4 个菌株,集中在中国台湾采集的菌株 TP-1 上,发酵过程调整为 $(28\pm 1.5)^\circ\text{C}$ 的温

度下, 菌丝体静置培养 30 d。培养基的配方为: 葡萄糖 30 mg/mL, 麦芽提取物 20 mg/mL, 蛋白胨 1 mg/mL, pH 6.5 (Lin & Shiao 1987; Shiao *et al.* 1987; Lin *et al.* 1988a, 1988b; Shiao *et al.* 1988a, 1988b)。

Yang *et al.* (2002)对中国台湾糖业公司研究所保有的灵芝菌丝体进行分离鉴定, 发现得到的三萜化合物中有 3 个是 3 位被酮基取代的新化合物, 但在研究中, 菌种的来源和发酵的过程未有叙述。

几乎在中国台湾学者开始研究的同时, 日本 2 个研究团队也开展了灵芝菌丝体中次生代谢产物的分离工作。Hirotani *et al.* (1986, 1987)对灵芝菌丝体也进行了液体静置发酵。其发酵的条件为: 25 °C 黑暗条件下, 静置培养 6 周。培养基配方为: 葡萄糖 15.00 mg/mL, 大豆蛋白胨 1.00 mg/mL, 酵母提取物 0.50 mg/mL, KH_2PO_4 0.50 mg/mL, NaCl 0.10 mg/mL, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 mg/mL, CaCl_2 0.11 mg/mL, pH 5.5 (1 mol/L HCl 调节)。该研究中, 用于发酵的灵芝菌种来源不明。Nishitoba *et al.* (1987a, 1987b)对采集自日本 Hasuta 地区的灵芝菌株进行固体发酵, 从菌丝体中分离得到了一系列以往没有报道的灵芝酸类三萜。值得注意的是, 此研究采用的菌种在子实体生长过程中, 其菌柄会形成 3 个分叉, 且产生了 C27 类型的赤芝酸(Nishitoba *et al.* 1986)。

国内对灵芝菌丝体中化学成分的研究起步较晚。毋艳(2004)对山东四维制药股份有限公司提供的泰山灵芝菌丝体进行了分离纯化, 获得了 4 个新的三萜化合物和 5 个已知的甾醇化合物。但该研究中, 灵芝菌种的来源和菌丝体的发酵过程并没有提及。

钟建江教授带领的团队对灵芝菌种 CGMCC5.616 (中国普通微生物菌种保藏管理中心)进行了发酵条件的优化, 创建了两阶段发酵方法, 即第一阶段为液体振荡培养, 第二阶段

培养时, 菌丝体先液体振荡培养 4 d 后再转入静置培养 12 d。此培养模式下, 灵芝酸的含量可以由对照的 1.36 mg/100 mg (干重)上升到 3.19 mg/100 mg (Fang & Zhong 2002)。从该菌种中, 汤亚杰、李英波等人先后分离得到 10 个三萜化合物(Li *et al.* 2009; Wang *et al.* 2010; 李英波 2013; Li *et al.* 2013)。

岳亚文等(2020)采用先液体发酵再固体发酵的方法, 对浙江一种无孢灵芝(即一种孢子产量较低的灵芝品种龙芝 2 号)进行了菌丝体的发酵并分离鉴定了其中的化合物, 得到了 10 个已知三萜化合物和 1 个首次发现的天然灵芝酸化合物。该实验中, 液体发酵的种子培养基为: 1 000.0 mL 水中加入豆饼粉 20.0 g, 葡萄糖 25.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1.5 g, KH_2PO_4 3.0 g, 自然 pH。固体培养基为: 大米 98%, 1% CaSO_4 , 1%蔗糖。

2 灵芝菌丝体三萜的结构类型

从以上灵芝的发酵菌丝体中, 共分离得到了 70 种三萜化合物(表 1), 均为羊毛甾烷型四环三萜(图 1, 图 2)。由于研究工作和文章发表的时间比较集中, 出现了同一化合物有不同名称的现象, 例如: ganoderic acid Q、ganoderic acid Mk 和 ganodermic acid P1 实际上为同一化合物。虽然 ganoderic acid Mk 的 C22 位上连接的乙酰氧基(-OAc)构型未定, 但从化合物的化学位移数据可以判断, 其构型同 ganoderic acid Q 和 ganodermic acid P1 相同, 都是 α 型(Hirotani *et al.* 1987; Nishitoba *et al.* 1987b; Shiao *et al.* 1988a)。此外, 也有作者没有仔细核对文献, 误将 ganoderic acid P 当成一个新的化合物从而用其化学名 (22S,24E)-3 α -hydroxy-15 α , 22 β -diacetoxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid 发表(Yang *et al.* 2002)。菌丝体中的这些化合物大多数为三萜酸, 在 C26 位上存在一个羧基, 且 C24、C25 位上存在一个双键结构, 仅个别化

表 1 灵芝菌丝体中的三萜化合物
Table 1 Triterpenes in mycelia of *Ganoderma lingzhi*

编号 No.	化合物名称 Compound names	分子式 Formulas	分子量 Molecular weights	参考文献 References
1	Ganoderic acid U	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	472	Toth <i>et al.</i> 1983
2	Ganoderic acid V	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	528	Toth <i>et al.</i> 1983
3	Ganoderic acid W	C ₃₄ H ₅₂ O ₇	572	Toth <i>et al.</i> 1983
4	Ganoderic acid X	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Toth <i>et al.</i> 1983
5	Ganoderic acid Y	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	454	Toth <i>et al.</i> 1983
6	Ganoderic acid Z	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456	Toth <i>et al.</i> 1983
7	Ganoderic acid R	C ₃₄ H ₅₀ O ₆	554	Hirovani <i>et al.</i> 1986
8	Ganoderic acid S	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Hirovani <i>et al.</i> 1986
9	Ganoderic acid T	C ₃₆ H ₅₂ O ₈	612	Hirovani <i>et al.</i> 1986
10	Ganoderic acid O	C ₃₆ H ₅₄ O ₉	630	Hirovani <i>et al.</i> 1987
11	Ganoderic acid P	C ₃₄ H ₅₀ O ₇	570	Hirovani <i>et al.</i> 1987
12	Ganoderic acid Q	C ₃₄ H ₅₀ O ₇	570	Hirovani <i>et al.</i> 1987
	Ganoderic acid Mk			Nishitoba <i>et al.</i> 1987b
	Ganodermic acid P1			Shiao <i>et al.</i> 1988a
13	7-O-methyl ganoderic acid O	C ₃₇ H ₅₆ O ₉	644	Hirovani <i>et al.</i> 1987
14	Ganoderic acid Ma	C ₃₄ H ₅₂ O ₇	572	Nishitoba <i>et al.</i> 1987a
15	Ganoderic acid Mb	C ₃₆ H ₅₄ O ₉	630	Nishitoba <i>et al.</i> 1987a
16	Ganoderic acid Mc	C ₃₆ H ₅₄ O ₉	630	Nishitoba <i>et al.</i> 1987a
17	Ganoderic acid Md	C ₃₅ H ₅₄ O ₇	586	Nishitoba <i>et al.</i> 1987a
18	Ganoderic acid Me	C ₃₄ H ₅₀ O ₆	554	Nishitoba <i>et al.</i> 1987a
19	Ganoderic acid Mf	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Nishitoba <i>et al.</i> 1987a
20	Ganoderic acid Mg	C ₃₅ H ₅₄ O ₈	602	Nishitoba <i>et al.</i> 1987b
21	Ganoderic acid Mh	C ₃₄ H ₅₂ O ₈	588	Nishitoba <i>et al.</i> 1987b
22	Ganoderic acid Mi	C ₃₃ H ₅₂ O ₆	544	Nishitoba <i>et al.</i> 1987b
23	Ganoderic acid Mj	C ₃₅ H ₅₄ O ₇	586	Nishitoba <i>et al.</i> 1987b
24	Ganodermic acid S	C ₃₄ H ₅₀ O ₆	554	Shiao <i>et al.</i> 1987
25	Ganodermic acid R	C ₃₄ H ₅₀ O ₆	554	Shiao <i>et al.</i> 1987
26	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 α -ol-26-oic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	454	Lin & Shiao 1987
27	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 α -acetox-26-oic acid	C ₃₂ H ₄₈ O ₄	496	Lin & Shiao 1987; Zhu <i>et al.</i> 2020
28	22 β -acetox-3 α ,15 α -dihydroxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	528	Lin <i>et al.</i> 1988a
29	22 β -acetox-3 β ,15 α -dihydroxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	528	Lin <i>et al.</i> 1988a
30	3 α ,15 α -diacetox-22 α -hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₄ H ₅₀ O ₇	570	Lin <i>et al.</i> 1988a
31	3 α ,15 α ,22 α -trihydroxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	486	Lin <i>et al.</i> 1988a
32	3 β , 15 α ,22 β -trihydroxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	486	Lin <i>et al.</i> 1988a
33	3 β ,15 α -diacetox-22 α -hydroxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₄ H ₅₀ O ₇	570	Lin <i>et al.</i> 1988a
34	3 β ,15 α -diacetoxylanosta-8,24-dien-26-oic acid	C ₃₄ H ₅₂ O ₆	556	Lin <i>et al.</i> 1988a
35	Ganodermic acid N	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Shiao <i>et al.</i> 1988a
36	Ganodermic acid O	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Shiao <i>et al.</i> 1988a
37	Ganodermic acid Q	C ₃₂ H ₄₆ O ₅	510	Shiao <i>et al.</i> 1988a
38	Ganodermic acid P2	C ₃₄ H ₅₀ O ₇	570	Shiao <i>et al.</i> 1988a
39	Ganodermic acid Ja	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470	Shiao <i>et al.</i> 1988a
40	Ganodermic acid Jb	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470	Shiao <i>et al.</i> 1988a
41	Ganodermic acid T-N	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Lin <i>et al.</i> 1988b

待续

续表 1

42	Ganodermic acid T-O	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Lin <i>et al.</i> 1988b
43	Ganodermic acid T-Q	C ₃₂ H ₄₆ O ₅	510	Lin <i>et al.</i> 1988b
44	Lanosta-7,9(11),24-trien-15 α -acetoxy-3 α -hydroxy-23-oxo-26-oic acid	C ₃₂ H ₄₆ O ₆	526	Shiao <i>et al.</i> 1988b
45	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 β ,15 α ,22 β -triacetoxo-26-oic acid	C ₃₆ H ₅₂ O ₈	612	Shiao <i>et al.</i> 1988b
46	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 α ,15 α -diacetoxo-23-oxo-26-oic acid	C ₃₄ H ₄₈ O ₇	568	Shiao <i>et al.</i> 1988b
47	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 α -acetoxy-15 α ,22 β -dihydroxy-26-oic acid	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	528	Shiao <i>et al.</i> 1988b
48	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 α -acetoxy-15 α -hydroxy-23-oxo-26-oic acid	C ₃₂ H ₄₆ O ₆	526	Shiao <i>et al.</i> 1988b
49	Lanosta-7,9(11),24-trien-3 α -hydroxy-26-oic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	454	Lin & Shiao 1989
50	(22S,24E)-3-oxo-15 α ,22 β -dihydroxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₀ H ₄₄ O ₅	484	Yang <i>et al.</i> 2002
51	(22S,24E)-3-oxo-15 α -hydroxy-22 β -acetoxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₂ H ₄₆ O ₆	526	Yang <i>et al.</i> 2002
52	(22S,24E)-3-oxo-15 α ,22 β -diacetoxylanosta-7,9(11),24-trien-26-oic acid	C ₃₄ H ₄₈ O ₇	568	Yang <i>et al.</i> 2002
53	3,22-dihydroxy-7,9,24-triene-26-oic	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470	Wu 2004
54	Ganoderic acid S2	C ₃₂ H ₄₈ O ₅	512	Wu 2004
55	Ganoderic acid S3	C ₃₀ H ₄₄ O ₄	468	Wu 2004
56	Ganoderic acid S4	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470	Wu 2004
57	3-O-acetylganoderic acid B	C ₃₂ H ₄₄ O ₈	556	Li <i>et al.</i> 2009
58	3-O-acetylganoderic acid K	C ₃₂ H ₄₄ O ₈	556	Li <i>et al.</i> 2009
59	8 β ,9 α -dihydroganoderic acid C	C ₃₀ H ₃₈ O ₇	510	Li <i>et al.</i> 2009
60	Ethyl 3-O-acetylganoderate B	C ₃₄ H ₄₈ O ₈	584	Li <i>et al.</i> 2009
61	Ethyl ganoderate J	C ₃₂ H ₄₄ O ₇	540	Li <i>et al.</i> 2009
62	Methyl O-acetylganoderate C	C ₃₅ H ₄₆ O ₁₀	626	Li <i>et al.</i> 2009
63	Methyl 3,7,11,15,23-pentaoxolanost-8-en-26-oate	C ₃₁ H ₄₀ O ₇	524	Li <i>et al.</i> 2009
64	7-O-ethyl ganoderic acid O	C ₃₈ H ₅₈ O ₉	658	Wang <i>et al.</i> 2010
65	3 α ,22 β -diacetoxo-7 α -hydroxyl-5 α -lanost-8,24E-dien-26-oic acid	C ₃₄ H ₅₀ O ₈	586	Li <i>et al.</i> 2013
66	Ganoderic acid DH	C ₃₄ H ₅₂ O ₇	572	Li 2013
67	Ganoderol B	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	440	Feng <i>et al.</i> 2015
68	Ganoderic acid T1	C ₃₄ H ₅₀ O ₇	570	Yue <i>et al.</i> 2020
69	Ganodermenonol	C ₃₀ H ₄₆ O ₂	438	Yue <i>et al.</i> 2020
70	Ganodermanondiol	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456	Yue <i>et al.</i> 2020

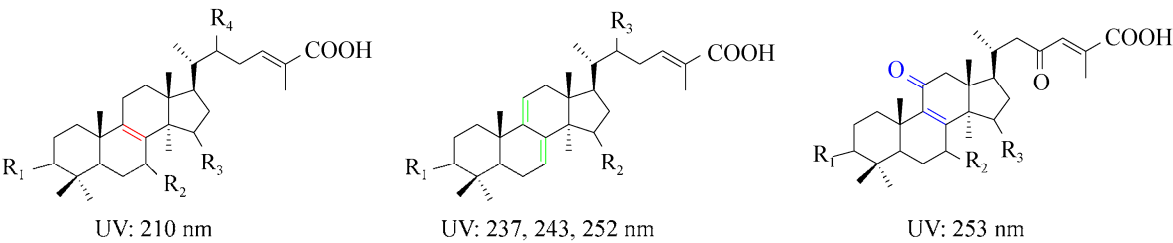
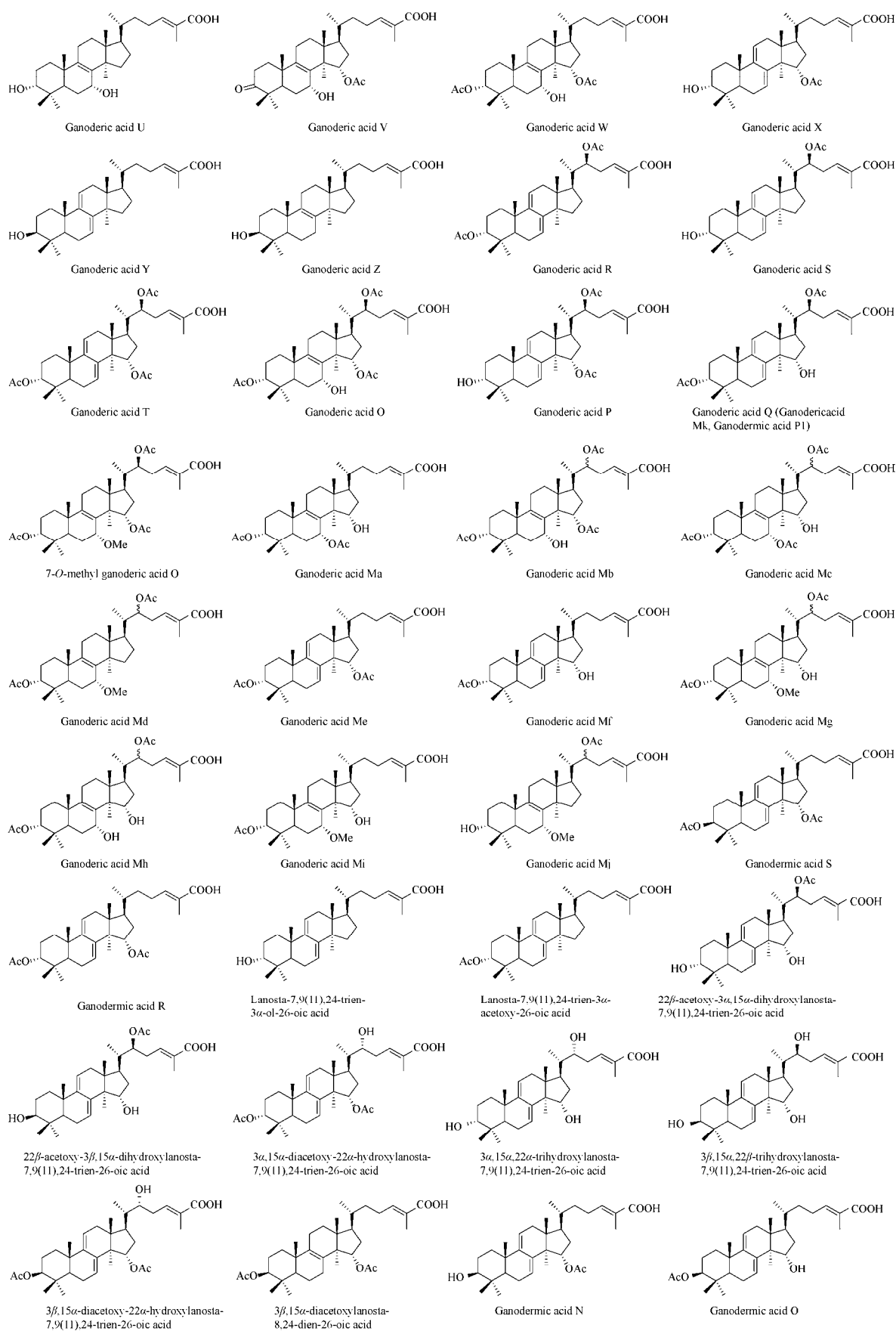


图 1 灵芝菌丝体三萜化合物结构类型
Fig. 1 Structural types of triterpenes in mycelia of *Ganoderma lingzhi*.

化合物在 C26 位上为羟基取代，属于三萜醇类物质。在三萜酸的母环上，存在有 2 种双键结构，一类是 $\Delta^{7(8)}$ 、 $\Delta^{9(11)}$ 共轭双键，另一类则是 $\Delta^{8(9)}$ 双键，这决定了 2 类三萜酸的紫外吸收不一致。母环上有共轭双键的灵芝三萜酸化合物，例如 ganodermic acid N、ganodermic acid O、ganodermic

acid Q、ganodermic acid P1、ganodermic acid P2、ganoderic acid Ja、ganoderic acid Jb、ganoderic acid TN、ganoderic acid TO、ganoderic acid TQ 等，其最大紫外吸收多集中在 235、243 和 252 nm。存在 $\Delta^{8(9)}$ 一个双键，又在 C11 位上有酮基的灵芝三萜化合物，例如 3-O-acetylganoderic



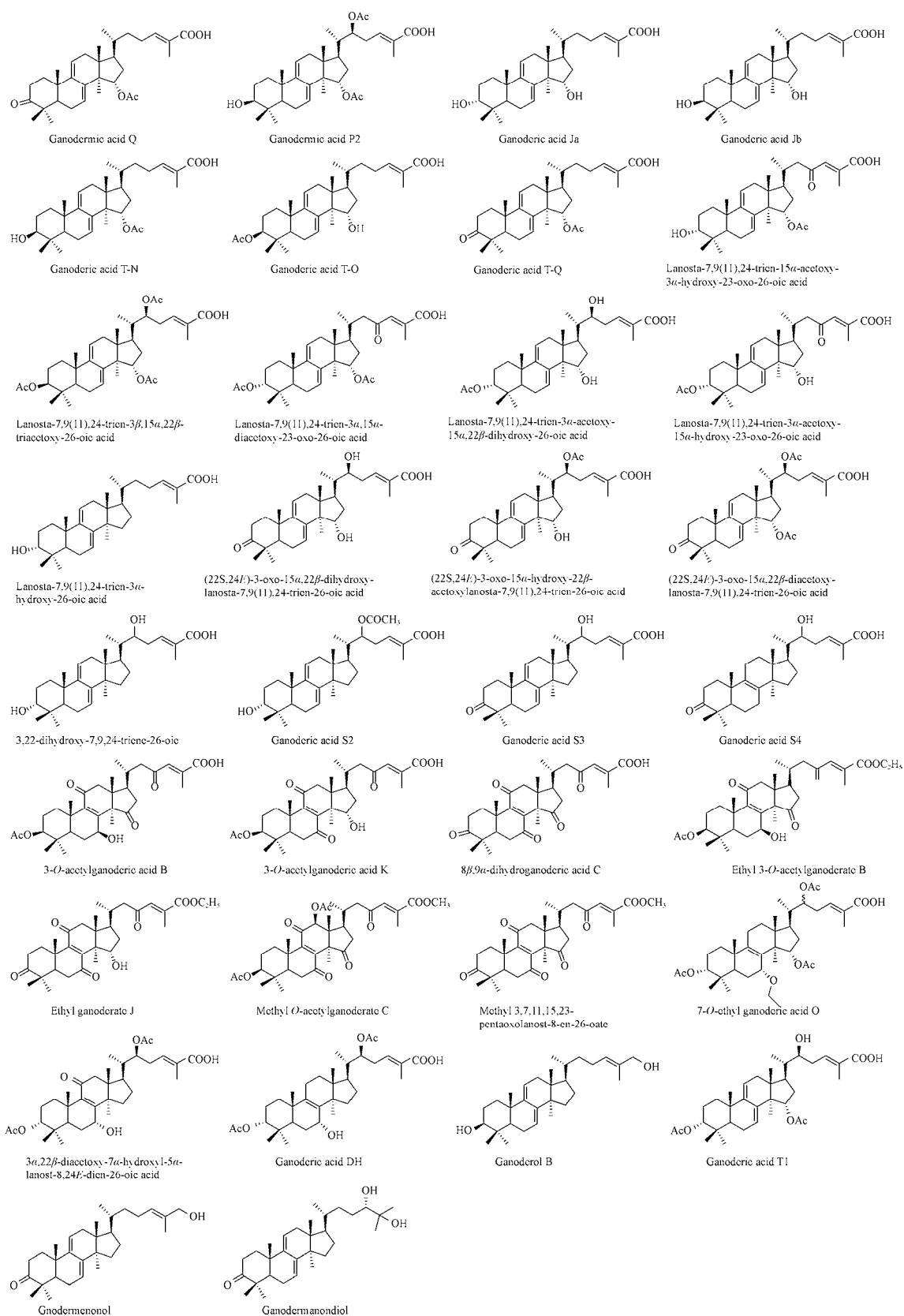


图 2 灵芝菌丝体三萜化合物的结构

Fig. 2 Structures of triterpenes isolated from mycelia of *Ganoderma lingzhi*.

acid B、ethyl 3-O-acetyl ganoderate B、ethyl ganoderate J、methyl O-acetyl ganoderate C、methyl 3,7,11,15,23-pentaoxolanost-8-en-26-oate 等,其最大紫外吸收在 253 nm 左右。而仅存在 $\Delta^{8(9)}$ 双键且 C11 位上没有任何取代的三萜酸类化合物,例如 ganoderic acid Ma、ganoderic acid Mb、ganoderic acid Mc、ganoderic acid Md、ganoderic acid Mg、ganoderic acid Mh、ganoderic acid Mi、ganoderic acid Mj、ganoderic acid DH 和 7-O-ethyl ganoderic acid O,其最大紫外吸收在 210 nm 左右。这一类化合物中, ganoderic acid Mc、ganoderic acid DH 和 7-O-ethyl ganoderic acid O 均在 C-7 位上有不同官能团的取代,在质子性溶剂(例如甲醇)中表现极不稳定,很容易生成其他三萜化合物(Wang *et al.* 2011; 李英波 2013)。

3 灵芝菌丝体三萜化合物的生物活性

早期的研究中,由于分离得到的三萜化合物的量很少,较少有人进行活性的验证和作用机制的研究。Toth *et al.* (1983)从灵芝菌丝体中得到 ganoderic acid U、ganoderic acid V、ganoderic acid W、ganoderic acid X、ganoderic acid Y、ganoderic acid Z 时,首次报道了这些化合物具有体外抑制肝癌细胞增殖的活性,这为后人对菌丝体三萜化合物的抗肿瘤研究提供了方向。

Hirotsani *et al.* (1986)发现 ganoderic acid R 和 ganoderic acid S 可以减轻半乳糖胺诱导产生的肝中毒,该研究也没有进一步更深入的探讨。

Wang *et al.* (1990)认为, ganodermic acid S 的化学结构类似于脱氧胆酸盐,而脱氧胆酸可以结合到血小板膜中导致血小板功能的抑制。因此,研究者对 ganodermic acid S 开展了一系列的对血小板凝集作用的研究。结果发现,在浓度超过 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, ganodermic acid S 会引起血小

板聚集,且细胞聚集程度与化合物浓度呈线性关系。Ganodermic acid S 浓度在 20–50 $\mu\text{mol/L}$ 之间时,会造成磷酸肌苷与花生四烯酸释放的相互转化。扫描电子显微镜显示,在聚集阈值即 20 $\mu\text{mol/L}$ 以下时,血小板形态为针状盘状;在阈值以上,血小板细胞向上聚集成不规则的穗状。为解释 ganodermic acid S 如何影响血小板对胶原蛋白的反应,进一步对作用通路进行了研究,结果发现, ganodermic acid S 主要通过抑制 TXA2 依赖性信号的 Gq-PLC β 1 受体通路而非 G1 受体通路来抑制胶原反应,而胶原反应中酪氨酸激酶依赖通路在聚集中起主要作用(Su *et al.* 1999a, 1999b)。

此外, ganodermic acid S 与前列腺素(PG)E1 联用,以浓度依赖的方式增强了血小板的环磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)合成。在 7.5 $\mu\text{mol/L}$ 剂量下, ganodermic acid S 可将 (PG)E1 单独诱发的环 AMP 合成的水平提高 1.8 倍,并通过肌球蛋白轻链和普列克底物蛋白的磷酸化、 α -颗粒的分泌、细胞聚集和蛋白质酪氨酸磷酸化等途径增强了(PG)E1 对血小板胶原反应的抑制作用。Ganodermic acid S 与(PG)E1 联用后,还基本消除了致密颗粒的分泌和血栓素(TX) B2 的形成(Su *et al.* 2000)。

刘如明(2012)采用 MTT 法检测了 ganoderic acid T、ganoderic acid Mk、ganoderic acid Me、ganoderic acid S、ganoderic acid Mf 和 7-O-ethyl ganoderic acid O 对 4 种肿瘤细胞(肺癌细胞 95D、卵巢癌细胞 HO-8910、胰腺癌细胞 SW1990 和宫颈癌细胞 HeLa)和一种正常的成纤维细胞(HF)增殖的抑制能力,结果证明 6 种化合物均具有一定的细胞毒性。

Ganoderic acid Me 可以抑制 C57BL/6 小鼠 Lewis 肺癌的肿瘤生长和肺转移。腹腔注射 ganoderic acid Me (28 mg/kg)可显著增强 NK 细胞活性,白细胞介素-2 (IL-2)和干扰素- γ (IFN- γ)

的表达增加,核因子- κ B (NF- κ B)的表达上调,这提示 ganoderic acid Me 可以通过提高免疫功能有效抑制肿瘤生长和肺转移(Wang *et al.* 2007)。Chen *et al.* (2008)发现 ganoderic acid Me 通过下调基质金属蛋白酶 2/9 (MMP2/9)基因表达抑制 95-D 肺癌细胞的浸润转移,还可抑制 Lewis 肺癌细胞的生长和扩散,且具有显著增强免疫功能作用。Ganoderic acid Me 也可诱导野生型人 P53 肿瘤细胞凋亡。吡咯胺 2,3-双加氧酶(IDO-)介导的微环境在肿瘤免疫逃逸中起着重要作用,通过建立稳定的 IDO-过度表达 2LL 细胞克隆,检测到 ganoderic acid Me 可以通过增强小鼠 lewis 肺癌细胞中 IDO-的表达和激活,诱导 T 细胞凋亡,抑制 CD8+T 细胞活化和增强 Treg 介导的免疫抑制,有助于在肺肿瘤中创造耐受性环境(Que *et al.* 2014)。此外, ganoderic acid Me 可使多药耐药癌细胞 KB-A-1/Dox 中阿霉素和罗丹明 123 的含量均增加 100%,推测其可能通过影响膜蛋白 P-gp 的活性来提高多药耐药细胞对阿霉素的敏感性(唐文 2013a)。

作为迄今为止结构式上有最多乙酰氧基的灵芝三萜, ganoderic acid T 表现出较强的抗肿瘤活性,也是至今研究比较详细的一个化合物。Ganoderic acid T 以剂量依赖性方式对多种人类癌细胞系(肺腺癌细胞 A549、PC9、PC9-IR、H1650 和 H1975,肺癌细胞 95-D,结肠癌细胞 HCT-116,肺癌 Lewis)产生细胞毒性(Lai *et al.* 2009)。

Ganoderic acid T 可能通过抑制 MMP-2 和 MMP-9 的表达,从而以剂量和时间依赖性方式抑制高转移性人类肺癌细胞 95-D 的转移。细胞聚集和粘附实验结果表明, ganoderic acid T 能促进细胞聚集,同时抑制细胞与细胞外基质(ECM)的粘附(Xu *et al.* 2010)。Ganoderic acid T 还通过诱导细胞凋亡和 G1 期细胞周期阻滞显著抑制 95-D 的增殖。在诱导凋亡过程中, ganoderic acid

T 通过与线粒体功能障碍和 p53 表达相关的内在途径诱导转移性肺肿瘤细胞凋亡(Tang *et al.* 2006)。

在对人结肠癌细胞 HCT-116 的实验中, ganoderic acid T 同样表现出对细胞增殖的抑制能力,且以剂量依赖性方式抑制 HCT-116 细胞的迁移、促进细胞同型聚集以及抑制 HCT-116 细胞与细胞外基质的粘附。此外,通过比较 ganoderic acid T 作用于 HCT-116 的 p53+/+ 和 p53-/- 两种类型细胞后的结果,可以发现 ganoderic acid T 引起的细胞毒性依赖于 p53 基因, p53 基因可能是 ganoderic acid T 抑制人癌细胞抗侵袭的重要靶点(Chen & Zhong 2008; Chen & Zhong 2011)。

体内实验证实, ganoderic acid T 在体内能够抑制 Lewis 肺癌肿瘤的生长和转移。将 ganoderic acid T (28 mg/kg)皮下注射到 C57BL/6 小鼠体内后,其对 Lewis 肺癌肿瘤生长和肺转移的抑制率分别达到 63.35% ($P<0.001$)和 78.33% ($P<0.001$)。从肿瘤组织中提取 mRNA 进行 qRT-PCR 分析后,发现 ganoderic acid T 通过下调 MMP-2 和 MMP-9 mRNA 在体内的表达来抑制肿瘤的转移(Chen *et al.* 2010)。Lai *et al.* (2009)通过给药后小鼠的体重、肿瘤的大小、小鼠的存活率、肿瘤的重量以及小鼠的肝脏和肺的转移性肿瘤菌落几个方面,验证了 ganoderic acid T 能有效抑制 A549 肺腺癌肿瘤的生长与癌细胞的转移。

用不同浓度的 ganoderic acid T 处理后,再用 γ 射线照射 HeLa 宫颈癌细胞,研究其对辐射敏感性的影响。结果证实 ganoderic acid T 增加了肿瘤细胞的 DNA 损伤,干扰了 DNA 修复,阻断细胞周期在 G1 期,增加 ROS 生成,并降低线粒体膜电位。Ganoderic acid T 在辐射条件下还可诱导 ATP 耗竭,从而在促进细胞凋亡的同时增加细胞坏死(Shao *et al.* 2021)。

Ganoderic acid T 处理后,使得多药耐药

KB-A-1/Dox 细胞中阿霉素和罗丹明 123 的含量分别增加了 40%和 20%，表明 ganoderic acid T 同 ganoderic acid Me 类似，也可以提高多药耐药 KB-A-1/Dox 细胞对阿霉素的敏感性(唐文 2013b)。

4 灵芝菌丝体三萜化合物的构效关系研究

由于灵芝菌丝体三萜具有相似的结构特征，多个化合物仅存在取代基(羟基或乙酰氧基)个数的不同、取代位点的不同、 α/β 立体构型的不同，通过实验可以比较和总结这些取代基、取代位点或构型对化合物活性的影响，因此灵芝菌丝体三萜是研究构效关系的绝佳对象。有关的研究取得了一定的进展。

8 个三萜化合物：ganodermic acid S、ganodermic acid R、ganoderic acid N、ganoderic acid X、ganoderic acid O、ganoderic acid Mf、ganoderic acid Jb 和 ganoderic acid Ja，其中有 4 对是 C-3 α/β 立体异构体，2 对是 C-3/C-15 位置异构体，所有化合物均含有一个共同的 C-26 羧基，其构效关系通过激活血小板磷脂酶 C (PLC)的试验进行了阐明。试验结果表明，这些化合物的激活能力强弱与其取代基相关的关系为：2 个乙酰氧基取代基>一个乙酰氧基取代基>2 个羟基取代基。此外，含有 C-3 β 取代基的三萜类化合物比 C-3 α 类化合物更有效。Ganoderic acid Ja 是一种具有 C-3 α 和 C-15 α 羟基取代基的三萜化合物，实验结果证实，即使在较高浓度下，其活性也不足以诱导血小板聚集(Wang *et al.* 1994)。

作为同分异构体，ganoderic acid Mf 和 ganoderic acid S 均通过线粒体介导的途径诱导人 HeLa 细胞凋亡，但它们具有不同的细胞周期阻滞特异性。Ganoderic acid Mf 将肿瘤细胞阻滞于 G1 期，而 GAS 将肿瘤细胞阻滞于 S 期(Liu & Zhong 2011)。

刘如明(2012)以宫颈癌细胞 HeLa 为模型，考察了 ganoderic acid T 及其羧基端衍生物(TLTO-A、TLTO-Me、TLTO-Ee、TLTO-Pe)的抗肿瘤活性和作用机制。结果表明，酰胺衍生物 TLTO-A 的细胞毒性最强，3 种酯化衍生物 TLTO-Me、TLTO-Ee、TLTO-Pe 的细胞毒性与 GA T 相似，其毒性顺序为：TLTO-A>GA T $\approx$ TLTO-Me $\approx$ TLTO-Ee $\approx$ TLTO-Pe。5 种化合物均将 HeLa 细胞周期阻滞于 G1 期，且都可以通过线粒体途径诱导肿瘤细胞发生凋亡，其中以 TLTO-A 的促凋亡活性最强。从结构上来看，5 种化合物的区别仅在 C-26 位的取代基不同，因此，推测 ganoderic acid T 的 C-26 羧基是一个活性修饰位点。

5 展望

本文所述灵芝菌丝体是指处于营养生长阶段的次级菌丝，该生物体不同于灵芝生殖生长过程中的三级菌丝(即子实体)，在灵芝的生长过程中执行不同的生理生化功能，因此产生了独特结构的三萜代谢产物。灵芝子实体中的三萜酸结构中，母环结构上多数为 C8、9 双键与 C11 位酮基。而在灵芝菌丝体中，半数以上的三萜酸在母环上有共轭双键。这种母环上有共轭双键且具有多个乙酰氧基取代的三萜酸化合物，有着优异的抗肿瘤活性，是抗肿瘤药物先导化合物发现的一个重要来源。灵芝菌丝体中还有很多三萜化合物的活性和作用机制研究尚存在空白，有必要对这些结构类型不同的化合物进行活性的筛选和比较，探讨其构效关系，为高效低毒抗肿瘤药物的开发提供更充分的研究基础。

与灵芝子实体相比，灵芝发酵的生产周期短，条件精准可控，且三萜化合物产量高，灵芝菌丝体因此被用作研究三萜生物合成和代谢调控的对象。很多学者采用了外源物添加、增强/敲除某个基因、或导入外源基因等多种方式，来

探讨三萜合成转化以及高产的可能性(Xu & Zhong 2011; Xu *et al.* 2013; Li *et al.* 2016; Xu *et al.* 2019)。在这些研究中,迫切需要建立灵芝菌丝体特有的三萜化合物的定量分析方法,通过化合物的有无或含量变化,来解释说明其生物合成过程中的上下游关系,从而精准获得影响三萜生物合成的关键基因和代谢通路。

以往灵芝命名的混淆造成了灵芝菌丝体中这些三萜化合物来源的混乱,有研究发现,*Ganoderma lingzhi* 和 *Ganoderma lucidum* 的子实体不仅存在分子生物学和形态学上的差异,在三萜的组成和含量上也有很大不同,*Ganoderma lucidum* 中的三萜含量明显低于 *Ganoderma lingzhi* (Hennicke *et al.* 2016)。因此,有必要在分别制备出 2 个灵芝种的菌丝体化合物后,进行系统的分析和比较,从化学分类的角度进一步补充说明 2 个物种的区别。

致谢:感谢北京林业大学戴玉成教授在灵芝分类方面提供的文献和指导,上海交通大学钟建江教授和中国中医科学院青蒿素研究中心马昂博士在灵芝活性研究方面提供的指导。

[REFERENCES]

- Cao Y, Wu SH, Dai YC, 2012. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “Lingzhi”. *Fungal Diversity*, 56(1): 49-62
- Chen NH, Liu JW, Zhong JJ, 2008. Ganoderic acid Me inhibits tumor invasion through down-regulating matrix metalloproteinases 2/9 gene expression. *Journal of Pharmacological Sciences*, 108(2): 212-216
- Chen NH, Liu JW, Zhong JJ, 2010. Ganoderic acid T inhibits tumor invasion *in vitro* and *in vivo* through inhibition of MMP expression. *Pharmacological Reports*, 62(1): 150-163
- Chen NH, Zhong JJ, 2008. Ganoderic acid T from a traditional Chinese medicinal herb induces cell cycle arrest and P53 expression, down-regulates MMP2/9, and inhibits tumor cell invasion and metastasis. *Journal of Biotechnology*, 136(Suppl.): S97-S98
- Chen NH, Zhong JJ, 2011. p53 is important for the anti-invasion of ganoderic acid T in human carcinoma cells. *Phytomedicine*, 18(8-9): 719-725
- Dai YC, Cao Y, Zhou LW, Wu SH, 2013. Notes on the nomenclature of the most widely cultivated *Ganoderma* species in China. *Mycosystema*, 32(6): 947-952 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, Cui BK, Wu G, Yuan HS, Zhou LW, He SH, Ge ZW, Wu F, Wei YL, Yuan Y, Si J, 2021. Diversity and systematics of the important macrofungi in Chinese forests. *Mycosystema*, 40(4): 770-805 (in Chinese)
- Fang QH, Zhong JJ, 2002. Two-stage culture process for improved production of ganoderic acid by liquid fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum*. *Biotechnology Progress*, 18(1): 51-54
- Feng N, Zhang JS, Feng J, Wei YT, Tian Z, 2015. Preparation method of ganoderol B: China, CN105111267A. 2015-12-02 (in Chinese)
- Hennicke F, Cheikh-Ali Z, Liebisch T, Maciá-Vicente JG, Bode HB, Piepenbring M, 2016. Distinguishing commercially grown *Ganoderma lucidum* from *Ganoderma lingzhi* from Europe and East Asia on the basis of morphology, molecular phylogeny, and triterpenic acid profiles. *Phytochemistry*, 127: 29-37
- Hirofani M, Asaka I, Ino C, Furuya T, Shiro M, 1987. Ganoderic acid derivatives and ergosta-4,7,22-triene-3,6-dione from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 26(10): 2797-2803
- Hirofani M, Ino C, Furuya T, Shiro M, 1986. Ganoderic acids T, S and R, new triterpenoids from the cultured mycelia of *Ganoderma lucidum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 34(5): 2282-2285
- Lai HH, Huang CP, Chen DH, Chen KD, Lin SB, 2009. *Ganoderma* triterpenoid ganoderic acid T inhibits growth and metastasis of A549 lung adenocarcinoma *in vitro* and *in vivo*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 25(6): 413-420
- Li HJ, Zhang DH, Hand LL, Yu XY, Zhao P, Li T, Zhong JJ, Xu JW, 2016. Further improvement in ganoderic acid production in static liquid culture of *Ganoderma lucidum* by integrating nitrogen limitation and calcium ion addition. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(1): 75-80
- Li YB, Liu RM, Zhong JJ, 2013. A new ganoderic acid from *Ganoderma lucidum* mycelia and its stability. *Fitoterapia*, 84: 115-122
- Li YB, 2013. Highly efficient preparation of ganoderic acids from *Ganoderma lucidum* mycelia. PhD Dissertation, East China University of Science and Technology, Shanghai. 1-143 (in Chinese)
- Li YY, Mi ZY, Tang Y, Wang G, Li DS, Tang YJ, 2009. Lanostanoids isolated from *Ganoderma lucidum* mycelium cultured by submerged fermentation. *Helvetica*

- Chimica Acta, 92(8): 1586-1593
- Lin LJ, Shiao MS, 1987. Separation of oxygenated triterpenoids from *Ganoderma lucidum* by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 410(1): 195-200
- Lin LJ, Shiao MS, 1989. ¹³C-NMR correlation of stereochemistry in lanostanoid triterpenes. *Journal of Natural Products*, 52(3): 595-605
- Lin LJ, Shiao MS, Yeh SF, 1988a. Seven new triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Natural Products*, 51(5): 918-924
- Lin LJ, Shiao MS, Yeh SF, 1988b. Triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 27(7): 2269-2271
- Liu RM, 2012. Structure modification of ganoderic acids and study on anti-tumor mechanism of novel ganoderic acid derivatives. PhD Dissertation, East China University of Science and Technology, Shanghai. 1-117 (in Chinese)
- Liu RM, Zhong JJ, 2011. Ganoderic acid Mf and S induce mitochondria mediated apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells. *Phytomedicine*, 18(5): 349-355
- Moncalvo JM, Wang HF, Hseu RS, 1995. Gene phylogeny of the *Ganoderma lucidum* complex based on ribosomal DNA sequences. Comparison with traditional taxonomic characters. *Mycological Research*, 99(12): 1489-1499
- Moncalvo JM, Wang HF, Wang HH, Hseu RS, 1994. The use of ribosomal DNA sequence data for species identification and phylogeny in the Ganodermataceae. In: Buchanan PK, Hseu RS, Moncalvo JM (eds.) *Ganoderma: systematics, phytopathology and pharmacology*. Proceedings of Contributed Symposium 59A, B, 5th International Mycological Congress, Vancouver, August 14-21, 1994. National Taiwan University, Taipei. 31-44
- Nishitoba T, Sato H, Sakamura S, 1987b. Novel mycelial components, ganoderic acid Mg, Mh, Mi, Mj and Mk, from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(4): 1149-1153
- Nishitoba T, Sato H, Shirasu S, Sakamura S, 1986. Evidence on the strain-specific terpenoid pattern of *Ganoderma lucidum*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50(8): 2151-2154
- Nishitoba T, Sato H, Shirasu S, Sakamura S, 1987a. Novel triterpenoids from the mycelial mat at the previous stage of fruiting of *Ganoderma lucidum*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(2): 619-622
- Que ZJ, Zou FY, Zhang AL, Zheng YH, Bi L, Zhong JJ, Tian JH, Liu JW, 2014. Ganoderic acid Me induces the apoptosis of competent T cells and increases the proportion of Treg cells through enhancing the expression and activation of indoleamine 2,3-dioxygenase in mouse lewis lung cancer cells. *International Immunopharmacology*, 23(1): 192-204
- Shao CS, Feng N, Zhou S, Zheng XX, Wang P, Zhang JS, Huang Q, 2021. Ganoderic acid T improves the radiosensitivity of HeLa cells via converting apoptosis to necroptosis. *Toxicology Research*, 10(3): 531-541
- Shiao MS, Lin LJ, Yeh SF, 1988a. Triterpenes in *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 27(3): 873-875
- Shiao MS, Lin LJ, Yeh SF, 1988b. Triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 27(9): 2911-2914
- Shiao MS, Lin LJ, Yeh SF, Chou CSS, 1987. Two new triterpenes of the fungus *Ganoderma lucidum*. *Journal of Natural Products*, 50(5): 886-890
- Si J, Dai YC, 2016. Wood-decaying fungi in eastern Himalayas 5. polypore diversity. *Mycosystema*, 35(3): 252-278
- Su CY, Shiao MS, Wang CT, 1999a. Differential effects of ganoderic acid S on the thromboxane A2-signaling pathways in human platelets. *Biochemical Pharmacology*, 58(4): 587-595
- Su CY, Shiao MS, Wang CT, 1999b. Predominant inhibition of ganoderic acid S on the thromboxane A2-dependent pathway in human platelets response to collagen. *Biochimica Biophysica Acta*, 1437(2): 223-234
- Su CY, Shiao MS, Wang CT, 2000. Potentiation of ganoderic acid S on prostaglandin E1-induced cyclic AMP elevation in human platelets. *Thrombosis Research*, 99(2): 135-145
- Tang W, 2013a. Ganoderic acid Me improves the sensitivity of multidrug resistant KB-A-1/Dox cells to doxorubicin. *Science and Technology of Food Industry*, 34(23): 97-100 (in Chinese)
- Tang W, 2013b. Ganoderic acid T improves sensitivity of multidrug resistant KB-A-1/Dox cells to doxorubicin. *Natural Product Research and Development*, 25(8): 1052-1055 (in Chinese)
- Tang W, Liu JW, Zhao WM, Wei DZ, Zhong JJ, 2006. Ganoderic acid T from *Ganoderma lucidum* mycelia induces mitochondria mediated apoptosis in lung cancer cells. *Life Science*, 80(3): 205-211
- Toth JO, Bang L, Ourisson G, 1983. Les acides ganoderiques t  : triterpenes cytotoxiques de *Ganoderma lucidum* (Polyporac  e). *Tetrahedron Letters*, 24(10): 1081-1084
- Tseng TC, Shiao MS, Shieh YS, Hao YY, 1984. Study on *Ganoderma lucidum* 1. liquid culture and chemical composition of mycelium. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 25: 149-157
- Wang CN, Chen JC, Shiao MS, Wang CT, 1990. The effect of ganoderic acid S on human platelets. *Fibrinogen, Thrombosis, Coagulation, and Fibrinolysis*, 281: 265-269

- Wang CN, Chen JS, Shiao MS, Wang CT, 1994. Activation of human platelet phospholipases C and A2 by various oxygenated triterpenes. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology Section*, 267(1): 33-42
- Wang G, Zhao J, Liu JW, Huang YP, Zhong JJ, TangW, 2007. Enhancement of IL-2 and IFN- γ expression and NK cells activity involved in the anti-tumor effect of ganoderic acid Me *in vivo*. *International Immunopharmacology*, 7(6): 864-870
- Wang JL, Li YB, Liu RM, Zhong JJ, 2010. A new ganoderic acid from *Ganoderma lucidum* mycelia. *Journal of Asian Natural Products Research*, 12(8): 727-730
- Wang JL, Li YB, Qin HL, Zhong JJ, 2011. Kinetic study of 7-O-ethyl ganoderic acid O stability and its importance in the preparative isolation. *Biochemical Engineering Journal*, 53(2): 182-186
- Wu Y, 2004. Chemical constituents and bioactivity of *Calophyllum inophyllum*, *Calophyllum membranaceum* and mycelium of *Ganoderma lucidum*. PhD Dissertation, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing. 1-183 (in Chinese)
- Xu JW, Yue TH, Yu X, Zhao P, Li T, Li N, 2019. Enhanced production of individual ganoderic acids by integrating *Vitreoscilla* haemoglobin expression and calcium ion induction in liquid static cultures of *Ganoderma lingzhi*. *Microbial Biotechnology*, 12(6): 1180-1187
- Xu K, Liang X, Gao F, Zhong JJ, 2010. Antimetastatic effect of ganoderic acid T *in vitro* through inhibition of cancer cell invasion. *Process Biochemistry*, 45(8): 1261-1267
- Xu YN, Xia XX, Zhong JJ, 2013. Induced effect of Na⁺ on ganoderic acid biosynthesis in static liquid culture of *Ganoderma lucidum* via calcineurin signal transduction. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(7): 1913-1923
- Xu YN, Zhong JJ, 2011. Impacts of calcium signal transduction on the fermentation production of antitumor ganoderic acids by medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. *Biotechnology Advances*, 30(6): 1301-1308
- Yang PGM, Wang HH, Cheng TL, Liou JJ, 2002. Ganoderic acid derivatives, 3-oxo-lanostane-type triterpenoids from *Ganoderma lucidum*. Report of the Taiwan Sugar Research Institute, 175-176: 21-31
- Yue YW, Zhou S, Feng J, Wang JY, Tang QJ, Liu YF, Zhang JS, Feng N, Han W, 2020. Active components in mycelia of sporeless *Ganoderma lingzhi*. *Mycosystema*, 39(1): 128-136 (in Chinese)
- Zhu XL, Yue YW, Zhang JS, Feng J, Tang QJ, Feng N, Han W, 2020. NMR attribution and bioactivity evaluation of a triterpene in mycelia of *Ganoderma lingzhi*. *Mycosystema*, 39(8): 1551-1558 (in Chinese)

[附中文参考文献]

- 戴玉成, 曹云, 周丽伟, 吴声华, 2013. 中国灵芝学名之管见. *菌物学报*, 32(6): 947-952
- 戴玉成, 杨祝良, 崔宝凯, 吴刚, 袁海生, 周丽伟, 何双辉, 葛再伟, 吴芳, 魏玉莲, 员瑗, 司静, 2021. 中国森林大型真菌重要类群多样性和系统学研究. *菌物学报*, 40(4): 770-805
- 冯娜, 张劲松, 冯杰, 魏雨恬, 田振, 2015. 一种灵芝醇 B 的制备方法: 中国, CN105111267A. 2015-12-02
- 李英波, 2013. 从灵芝菌丝体中高效分离制备抗肿瘤灵芝酸单体的研究. 华东理工大学博士学位论文, 上海. 1-143
- 刘如明, 2012. 灵芝酸的结构修饰及其新型衍生物的抗肿瘤机制研究. 华东理工大学博士学位论文, 上海. 1-117
- 唐文, 2013a. 灵芝酸 Me 提高多药耐药性 KB-A-1/Dox 细胞对阿霉素敏感性的初步研究. *食品工业科技*, 34(23): 97-100
- 唐文, 2013b. 灵芝酸 T 提高多药耐药性肿瘤细胞对阿霉素敏感性的初步研究. *天然产物研究与开发*, 25(8): 1052-1055
- 毋艳, 2004. 红厚壳、薄叶红厚壳和泰山赤灵芝菌丝体化学成分及生物活性研究. 中国医学科学院、北京协和医学院博士论文, 北京. 1-183
- 岳亚文, 周帅, 冯杰, 王金艳, 唐庆九, 刘艳芳, 张劲松, 冯娜, 韩伟, 2020. 一种无孢灵芝菌丝体的活性成分. *菌物学报*, 39(1): 128-136
- 朱晓璐, 岳亚文, 张劲松, 冯杰, 唐庆九, 冯娜, 韩伟, 2020. 灵芝菌丝体中一个三萜类化合物的核磁归属及活性初探. *菌物学报*, 39(8): 1551-1558