

淫羊藿多糖的研究进展及开发前景

付亮¹, 袁璟亚², 周永红², 丁春邦^{1,*}

(1. 四川农业大学生命科学与理学院, 四川 雅安 625014;

2. 四川农业大学作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室, 四川 成都 611130)

摘要: 淫羊藿多糖是淫羊藿的主要有效成分之一, 具有调节免疫、抗病毒、抗氧化等功能, 且安全无毒, 具有良好的开发前景。现从化学组成及含量、生物活性、安全性、炮制方法对含量的影响以及提取5个方面, 对淫羊藿多糖的研究进展进行综述, 探讨淫羊藿多糖的开发前景, 为淫羊藿多糖的合理开发利用提供参考。

关键词: 淫羊藿; 多糖; 研究进展; 开发前景

Research Progress and Development Prospects of *Epimedium* Polysaccharides

FU Liang¹, YUAN Jing-ya², ZHOU Yong-hong², DING Chun-bang^{1,*}

(1. College of Life and Basic Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 2. Key Laboratory of Crop Germplasm Resources and Gene Improvement, Ministry of Education, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: *Epimedium* polysaccharides are one of the major groups of active ingredients in *Epimedium* with immunoregulatory, anti-virus and anti-oxidant functions. The polysaccharides are safe and non-poisonous and have excellent development prospects. Here we review recent research progress in the chemical composition and contents, bioactivity, safety and extraction of *Epimedium* polysaccharides and the effect of traditional Chinese medicine processing on polysaccharide content in *Epimedium*. Besides, further prospects for exploitation of *Epimedium* polysaccharides are probed.

Key words: *Epimedium*; polysaccharide; research progress; prospects

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)03-0261-06

淫羊藿又名仙灵脾, 始载于《神农本草经》, 是小檗科(Berberidaceae)淫羊藿属(*Epimedium*)多年生草本植物, 为我国传统补益中药。《本草纲目》记载: 茎、叶入药, 辛温无毒, 有坚筋骨、益精气、补腰膝、强心力等作用。目前全世界约有55个种^[1], 中国有48个种^[2]。在日本、韩国、东南亚和地中海等地区, 淫羊藿也被作为药用植物^[3]。近年来关于淫羊藿的药理研究表明, 淫羊藿对心脑血管系统、血液系统、免疫系统、生殖系统、骨髓系统等有一定的保健作用^[4], 具有调节雄性发育、调节免疫、抑制肿瘤、改善心血管系统功能、缓解妇女更年期症状、调节内分泌、抗骨质疏松、抗肝毒素、抗氧化、抗衰老等多种生理活性^[5-8]。

多糖是生物有机体内普遍存在的一类生物大分子物质, 由10个以上的单糖分子聚合而成(通常由几百甚至几千个单糖分子组成), 它不仅参与细胞骨架的构成,

而且是多种内源性生物活性分子的重要组成部分^[9-10]。研究发现, 多糖能控制细胞分裂和分化, 调节细胞的生长与衰老, 尤其在抗肿瘤、抗病毒、降血脂、增强免疫功能等方面作用更为明显^[11-12], 如香菇多糖、猪苓多糖和灵芝多糖等的抗肿瘤活性, 黄芪多糖、人参多糖的免疫增强活性等。到目前为止, 已有300多种多糖类化合物从天然产物中被提取出来, 其中从中药中提取的水溶性多糖更是引起中医药和食品工业研究人员的重视^[13]。

淫羊藿的主要成分是黄酮类和多糖, 此外还含有生物碱、木脂素类、萜醌类、花青素、植物甾醇、萜类化合物、绿原酸、必需脂肪酸、微量元素等营养成分或生物活性成分^[9]。目前对淫羊藿属植物的化学研究多集中于黄酮类成分, 也有对含量较少的挥发油、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚麻酸的报道, 但对淫羊藿多糖的报道相对较少。近年来, 由于生物学、化学等

收稿日期: 2011-03-19

基金项目: 教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0453); 四川省科技厅应用基础项目(2008JY0094-2)

作者简介: 付亮(1984—), 男, 硕士研究生, 主要从事药用植物资源研究。E-mail: fuliangrain@126.com

* 通信作者: 丁春邦(1966—), 女, 教授, 博士, 主要从事植物学研究。E-mail: dcb@sicau.edu.cn

学科的飞速发展,人们对多糖及其复合物的活性作用有了越来越深入的认识,使得多糖的研究已成为目前生命科学中最活跃的研究领域之一^[14]。药理学研究显示,淫羊藿多糖具有抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、调节免疫、延缓衰老等多种活性^[8,15-16]。现从淫羊藿多糖的化学组成及含量、生物活性、安全性、提取方法、炮制方法对其含量的影响以及开发前景等方面将淫羊藿多糖近十几年的研究进展综述如下。

1 淫羊藿多糖的化学研究

1.1 化学组成

淫羊藿经水提醇沉后得到粗多糖,再经 Sevag 法除蛋白,透析、冷冻干燥得到精制的淫羊藿多糖,含量为 88.84%^[17]。苏瑛等^[18]将淫羊藿粗多糖经 DEAE-52 和葡聚糖凝胶柱层析分离纯化得到一具有多糖典型结构的组分, HPLC 分析发现,此组分是由鼠李糖、果糖、葡萄糖和 2 个不确定的单糖组分组成的杂多糖。饶金华等^[19]采用柱前衍生化高效液相色谱法分析其单糖组成及比例,结果为甘露糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖,物质的量之比为 0.60:0.74:1.00:0.29:2.29:1.43。而李德耀等^[20]将淫羊藿多糖分离纯化后得到 10 种组分,相对分子质量在 122~656679,其中纯度最高(97.97%)的组分相对分子质量为 70374。

1.2 含量测定

目前淫羊藿多糖的含量测定方法主要是苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法,多糖含量因药材品种、产地、药用部位不同而存在一定的差异。

采用苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法测定朝鲜淫羊藿的多糖含量,结果分别为 31.11%、25.06%,说明两种测定方法存在一定的差异,可能是因为淫羊藿多糖为杂多糖,用葡萄糖做对照品造成了一定的误差^[21]。

采用苯酚-硫酸法测定朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿的多糖含量,结果朝鲜淫羊藿的含量最高^[22]。对来自不同产地和不同品种淫羊藿的多糖含量检测结果表明,不同产地同一品种间的含量相差不大,而不同产地且不同品种的含量差异较大,在 10% 左右^[22-23]。

对贵州不同淫羊藿属植物不同部位的多糖进行含量测定,结果表明:除 1 个居群为叶>根>茎和叶柄外,其他 9 种的趋势为根>叶>茎和叶柄^[23],即淫羊藿不同部位的多糖含量存在差异。

2 淫羊藿多糖的生物活性

2.1 免疫作用

观察淫羊藿多糖对荷瘤以及环磷酰胺处理所致免疫

功能低下小鼠的效应,结果淫羊藿多糖可增大荷瘤小鼠缩小的免疫器官,提高脾指数、血清溶血水平以及空斑形成细胞的溶血能力,对小鼠的迟发性超敏反应也产生显著影响,但对其瘤质量影响不明显。表明淫羊藿多糖能提高机体的体液免疫和细胞免疫功能,刺激细胞免疫应答,但又不能直接抑制、杀伤肿瘤细胞^[15, 24-26]。

罗燕等^[27]研究发现,淫羊藿多糖可明显升高雏鸡淋巴细胞转化率、外周血中性粒细胞吞噬率和吞噬指数以及禽流感病毒和鸡新城疫病毒抗体效价和红细胞 C₃b 花环率,并降低红细胞 IC 花环率,且以中剂量效果更佳。孟宪丽等^[28]研究了淫羊藿多糖对老年大鼠神经内分泌免疫网络老年性变化的影响,结果表明淫羊藿多糖能明显提高老年大鼠下丘脑和皮质中皮质 β -内啡肽含量,并使老年大鼠白细胞介素-2、自然杀伤细胞活性明显增强。提示淫羊藿多糖能明显提高老年机体免疫功能和神经肽含量,从而延缓衰老。对此,分子水平的研究发现,含淫羊藿多糖的中药成分可以促进细胞白介素-2、T 淋巴细胞 IL-2 和 γ -干扰素相关 mRNA 的表达,进而诱导产生相应的产物^[8, 29]。

2.2 抗病毒作用

任宇皓等^[30]将淫羊藿多糖与新城疫病毒系加入到培养 24h 的鸡胚成纤维细胞中,评价其对新城疫病毒感染细胞的影响。结果表明,淫羊藿多糖在先于病毒加入时对其有抑制作用,提示它有一定的抗病毒作用,且与其浓度有相关性。Lu Yu 等^[8]还研究发现,传染性法氏囊病毒的活性可被淫羊藿多糖成分抑制。吕岫华等^[31]采用免疫酶的方法,研究淫羊藿多糖对人类疱疹病毒早期抗原激活的抑制作用,结果表明淫羊藿多糖在一定的剂量范围内有抑制作用且呈明显的量效关系。

2.3 抗衰老作用

如上所述,孟宪丽等^[28]研究发现淫羊藿多糖能明显增强机体的免疫功能和神经肽含量,从而延缓衰老。然而,边晓丽等^[32]采用邻苯三酚自氧化法,对淫羊藿叶中多糖及水提液对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用进行测定,结果表明水提液对 $O_2^{\cdot-}$ 有明显清除作用,而多糖无清除能力。胡元亮等^[33]研究发现,淫羊藿多糖能促进细胞增殖和延缓细胞衰老,且具有一定的量效、时效关系。徐小芳等^[34]则探讨淫羊藿多糖在不同浓度、不同时间时对鸡的抗氧化作用的影响,结果表明:淫羊藿多糖能明显提高鸡血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性,并能明显降低鸡血清中丙二醛含量,表明淫羊藿多糖具有抗氧化活性。衰老是一个十分复杂的过程,其机理尚未完全揭示,一般认为,衰老可能与自由基 4 积累、免疫功能下降有关。淫羊藿多糖具有很强的免疫调节活性,但是未发现具有自由基清除活性,据此推断,淫羊藿多糖的抗衰老作用主要是通过增强机体免疫功能来实现的^[35]。

2.4 促进骨髓DNA合成的作用

刘福春等^[36]在研究淫羊藿多糖对羟基脲所致“阳虚”小鼠的骨髓细胞增殖和DNA合成率的影响时发现, 1×10^6 个细胞经 $100 \mu\text{g}$ 淫羊藿多糖处理后, 细胞增殖率提高 72%, DNA 合成率提高 68%, 而对正常的小鼠细胞作用不显著, 与淫羊藿煎剂的体内实验结果一致。

丁雁等^[37]在刘福春研究的基础上, 探讨淫羊藿多糖抵抗治疗艾滋病(AIDS)当时唯一治疗药物——叠氮胸苷(AZT)的毒副作用的效果时发现, 注射了 AZT $80\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 8d 后的小鼠在给予淫羊藿多糖 10 、 $20\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 3d 后, 其外周血白细胞数目、骨髓造血干细胞和粒单系祖细胞数量、脾淋巴细胞增殖和产生 T 淋巴细胞 IL-2 能力显著降低的毒副作用可部分或全部消失, 提示淫羊藿多糖可以减轻 AZT 的毒副作用, 有助于提高 AZT 的用药剂量和 AIDS 病的控制和治疗。

2.5 促进肝脏干细胞增殖的作用

余文景等^[13]在光镜下观察不同浓度淫羊藿多糖对肝脏干细胞的形态学变化、生长、增殖及其凋亡情况, 通过 MTT 比色法监测肝脏干细胞的生长活性。结果显示淫羊藿多糖 $500 \mu\text{g}/\text{mL}$ 对肝脏干细胞的生长有明显的促进作用, 肝脏干细胞增殖加快, 活性增强。

2.6 血小板凝集作用

李锐松等^[38]比较了淫羊藿煎剂、多糖和粗黄酮对大鼠血小板聚集性的影响, 体外实验表明, 淫羊藿煎剂和多糖都能增加其血小板的聚集率。从体内实验的强度看, 多糖是促进大鼠血小板经二磷酸腺苷(ADP)诱导聚集作用的主要成分, 多糖多次灌胃后, 循环中血小板数量增多, 表示促进血小板生成, 同时增强血小板聚集作用。

3 安全性

刘爱恒等^[39]以 Ames 实验, 体外培养细胞株(CHL)染色体畸变分析及小鼠骨髓微核实验来检测淫羊藿多糖的致突变性, 结果显示体内外各项指标未见淫羊藿多糖具有诱变性。宋宏良等^[40]进一步研究其对大鼠胚胎及致畸的影响, 结果淫羊藿多糖对妊娠大鼠体质量、黄体形成与胚胎着床、活胎总数、平均数、胎仔质量、性比例及死胎率、胎仔明显变异(外观及内脏)及骨化不全没有明显影响, 提示淫羊藿多糖没有明显的胚胎毒性和致畸性。这些研究表明, 淫羊藿多糖安全可靠, 可作为植物药或食品添加剂来源^[35]。

4 炮制对多糖含量的影响

邹桂欣等^[41]采用蒽酮-硫酸法对淫羊藿生品及羊脂

炒制品中的多糖成分进行了定性定量比较。结果表明: 炮制后淫羊藿中的多糖含量(13.72%)明显低于炮制前(18.54%), 降低率为 26%($P < 0.05$), 这可能是因为炮制过程中的高温等造成了多糖的分解; 而杨武德等^[42]研究发现, 淫羊藿炮制品中多糖的含量高于生品: 生品(2.043%)<盐炒(2.101%)<酒炙(2.124%)<酥油制(2.128%)<炒制(2.432%)<羊脂炙(2.459%), 这可能是因为淫羊藿经炮制后, 其细胞大量破壁, 促进了多糖的溶出。对此, 有待于进一步研究; 此外, 至今未见炮制方式对多糖药理影响的报道。

5 淫羊藿多糖的提取

天然多糖的提取主要有以下几种方法^[35]: 1)热水浸提法、2)水提醇沉法、3)碱提取法、4)酸提取法、5)微波辅助提取法、6)超声波辅助提取法、7)酶提取法。

目前提取淫羊藿多糖最普遍的方法是水提醇沉法。许多研究只是将干燥淫羊藿全草于蒸馏水中浸泡过夜, 然后在固定水温下提取若干时间, 再用无水或 95% 乙醇沉淀, 这种方法操作简单, 但费时费力费料, 而且提取的多糖含杂质较多, 不易达到商品要求。如刘宝岩^[43]用此方法考查了淫羊藿粗多糖最优提取方法, 得出最合理的提取分离条件为: 沸水提取, 料液比 1:15, 提取时间 1.5h, 重复提取 3 次, 提取液与 95% 乙醇体积比为 1:3, 并经考马斯亮蓝法测定所得粗多糖中的蛋白含量约为 1.33%。刘迎等^[44]用蒽酮-硫酸法测定了淫羊藿普通粉和超微粉对其多糖溶出量的影响。结果表明, 在相同的条件下, 超微粉中淫羊藿多糖提取量较普通粗粉提高了 315.15%。这可能是因为超微粉碎后药材细颗粒的相对表面积增大, 从而提高了有效成分的溶出速率; 由于细胞壁在粉碎时大部分被破坏, 有效成分不需要通过细胞壁和细胞膜就能释放出来, 这样就提高了药物的释放速度和释放量。

柳凤祥等^[45]采用超声波辅助提取法, 按正交设计研究了样水比例、超声时间和温度对淫羊藿多糖提取率的影响。结果显示, 3 种因素对多糖提取的影响程度依次为超声时间、温度和样水比例, 材料在 10 倍量水、 60°C 水浴条件下超声 40min 时所得产品中淫羊藿多糖的含量最高且耗能最低。而罗燕等^[46]研究表明影响多糖提取含量的主次因素为超声次数>超声时间>料液比>浸泡温度, 其最优水平组合为 50°C 浸泡温度、30 倍的料液比、30min 超声时间、3 次超声次数。超声波的作用是在溶剂和样品之间产生声波空化作用, 导致溶液内气泡的形成、增长和爆破压缩, 从而使固体样品分散, 增大样品与萃取溶剂之间的接触面积, 提高目标物从固相转移到液相的传质速率。苏瑛等^[47]采用酶提取法, 以淫羊

藿干粉为材料,分别考察了料液比、酶加入量及酶作用时间对淫羊藿多糖提取率的影响。结果显示,在3个因素中,提取时间为主要因素,其次是酶的加入量,而料液比影响不大。最佳工艺条件为:淫羊藿干粉加25倍的水浸泡30min,加入1.6%的纤维素酶于50℃,pH 5.0的条件下反应1.5h。酶促反应特点在于催化效率高,具有专一性,反应条件温和,所以此提取过程只破坏细胞壁,且条件稳定不影响其他成分,还大大缩短了提取时间。

以上研究归根结底只限于药材颗粒与溶剂的接触及溶质的渗出,只是缩短了提取时间和提高了提取率而并没有解决提取的粗多糖中杂质较多的问题。为了获得高纯度的淫羊藿多糖,需要除去淫羊藿粗多糖中的蛋白质、脂类、色素等杂质。在淫羊藿精制过程中,一般采用Sevag法除去蛋白质,用石油醚或乙醚除去脂质,采用透析法除去小分子杂质,用活性炭除去色素^[35]。陈建芬^[17]、陈鸿英^[21]和朱永智^[22]等采用水提醇沉法获得淫羊藿粗多糖,然后采用Sevag法重复多次除去蛋白质,透析后获得浅棕色淫羊藿多糖粉末。严赞开等^[48]在用水提醇沉法得到淫羊藿粗多糖后,将其溶于水,用石油醚除色素,Sevag法除去蛋白后得淫羊藿多糖,收率为17.6%;而杨武德等^[42]先将淫羊藿粉末用80%乙醇回流除去单糖、多聚糖及其他醇溶性杂质,然后再用水提醇沉法提取获得粗多糖,再用活性炭脱色,Sevag法除去蛋白,最后经透析、干燥等步骤获得精制淫羊藿粉末,得多糖含量为2.043%。郑晓翠等^[49]以蛋白质脱除率和多糖损失率为考察指标,比较Sevag法、氯化钠法、氯化钙法、鞣酸法及盐酸法的脱蛋白效果。结果Sevag法脱蛋白效果较好且多糖损失率最低。尽管如此,此法还是效率较低、污染高,操作繁琐且成本较高,对此李瑞军等^[50]用4种大孔吸附树脂考察了其对淫羊藿多糖中蛋白的去除作用,讨论了pH值、鞣酸、上样量等对树脂去蛋白效率的影响,结果表明,该方法对淫羊藿粗多糖中的蛋白具有较高的去除效率,淫羊藿粗多糖中的蛋白含量由1.2%下降到0.035%。Lu Yu等^[8]用水提醇沉法得淫羊藿粗多糖后,用三氯乙酸除蛋白,而后用大孔吸附树脂进一步去除蛋白质和色素,用DEAE离子交换树脂除去其他糖类,再经超滤和冷冻干燥后得含量20.59%的精制多糖。

6 淫羊藿多糖的开发前景

如上所述,淫羊藿多糖的生物活性及安全性,表明其在制药、保健品和食品工业中具有光明的开发前景。我国淫羊藿资源种类丰富,多糖含量较高,从中提取多糖并应用于生产具有较高的可行性。当前,已

有多种生物多糖,如灵芝多糖、云芝多糖、黄芪多糖、芦荟多糖、枸杞多糖、海洋多糖等实现商品化生产,因此,我们有理由相信,淫羊藿多糖的商品化生产也将会带来良好的经济和社会效益。

6.1 淫羊藿多糖开发过程中存在的问题及困难

当前,淫羊藿多糖开发过程中仍然存在许多问题,制约了其商品化生产,主要表现在:1)淫羊藿多糖的组成成分不够明确;2)淫羊藿多糖的药理活性与毒性研究不够深入;3)淫羊藿多糖产品中杂质含量较高,其提取和纯化工艺亟待改进;4)缺乏对淫羊藿多糖提取和纯化中试放大工艺及其经济效益的研究;5)缺乏针对多糖的淫羊藿野生资源质量的系统研究;6)淫羊藿野生资源有限,乱采滥挖现象严重。

6.2 淫羊藿多糖的开发策略

为了充分开发我国的淫羊藿多糖资源,实现其产业化,笔者建议,在开发过程中注重以下策略:

1)系统研究淫羊藿中多糖的药理活性与毒性,如其刺激骨髓DNA合成、血小板凝集作用及毒性的研究止于上世纪90年代,至今未有更深入的研究报道。建议在前人研究基础上,采用活性导向分离(bioactivity guided isolation)靶标技术等方法筛选、发现淫羊藿多糖活性成分并进一步深入、拓宽其药理及毒性研究,拓展药物和食品的来源,增加淫羊藿产品的科技含量、推进淫羊藿药材的现代化和国际化进程^[51]。

2)提高淫羊藿多糖的提取效率,完善其精制工艺,降低其提取成本。超声波提取法是目前公认的最简单有效的提取方法,本实验室也正在开展淫羊藿总黄酮和多糖的超声波-索氏分步提取,如此既可提高提取效率,实现资源的合理充分利用,又可大大降低提取成本。此外,杂蛋白的去除一直是淫羊藿多糖分离、纯化的瓶颈,为了克服Sevag法的缺点,今后应加强离子交换技术、膜技术和分子筛技术等淫羊藿多糖杂蛋白去除过程中的应用研究^[35]。

3)在实验室提取及分离纯化结论的基础上,对淫羊藿多糖的中试放大工艺及经济效益进行研究。中试放大验证是中药制药工程技术的四要素之一,其目的是验证、复审和完善实验室工艺所确定的反应条件,为正式工业化生产选定设备结构、材质、安装条件和车间布置以及计算物质量和能量消耗等以权衡其经济效益。实验室研究转化为大规模生产的过程中一般都将发生质的变化,许多重大工程技术问题也往往出现在这一阶段^[52],因此中试放大验证至关重要,是中药现代化的关键,在食品添加剂的制备等方面上也具有重要意义。

4)系统考察淫羊藿不同种、生境、采摘时期、药用部位、贮藏方式和炮制方法等对淫羊藿多糖的影响,总结淫羊藿多糖的分布规律:大量研究表明,淫羊藿多

糖的种类与含量不仅受到遗传因子和环境因子的影响,还可能受到加工技术和栽培技术的制约^[53]。研究淫羊藿多糖的分布和变异规律,有助于其提取和制备,并为药材道地性机制的阐明提供科学依据^[51]。

5)实现淫羊藿野生资源的保护与抚育及人工栽培。在淫羊藿自然分布的群落类型中实施野生抚育或者人工半抚育,对于保护淫羊藿野生资源、扩大种群数量和生存地域、突出物种生物学特性与产地生态适宜性、弥补人工栽培的局限性以及保证道地药材供应等都具有一定的现实意义;用标准化农业规范(GAP)人工栽培的淫羊藿代替或部分代替野生药材是淫羊藿野生药材保护与可持续利用的重要途径,不仅具有可观的经济效益,而且具有巨大的社会效益^[54]。

7 结 语

随着社会进步和知识水平的提高,人们越来越深刻地认识到化学合成药物、保健品及食品添加剂的缺陷,也将目光越来越多地投入到以植物内含物为代表的天然活性产物中;从药用植物中提取、分离和纯化天然药物成分,特别是对防治癌症、心脑血管疾病等重大疾病的生物活性成分的研究,一直是国际医药学研究领域的热点之一^[55]。淫羊藿多糖作为中药淫羊藿的主要成分有着不容忽视的地位,在癌症、心脑血管疾病等重大疾病的防治方面具有广阔的开发前景,在许多药理指标上,其效果优于或作用特点不同于淫羊藿苷或总黄酮,但多糖的研究与黄酮类相比尚不够深入,所以笔者建议对淫羊藿多糖的研究投入更多的精力,从化学、药学、生物学、农学等角度加大其研究力度,推动我国医药工业和食品工业的发展。

参考文献:

- [1] STEARN W T. The genus *Epimedium* and other herbaceous berberidaceae, including the genus *Podophyllum*[M]. Oregon: Timber Press, 2002, 1-336.
- [2] 杨子松,黎云祥,钱宝英,等.淫羊藿属植物研究[J].西南民族大学学报,2008,34(4):716-720.
- [3] ZHANG Huanfeng, YANG Tianshun, LI Zuozhou, et al. Simultaneous extraction of epimedin A, B, C and icariin from *Herba Epimedii* by ultrasonic technique[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2008, 15(4): 376-385.
- [4] WU Hao, LIEN E J, LIEN L L. Chemical and pharmacological investigations of *Epimedium* species: a survey[J]. Prog Drug Res, 2003, 60: 1-57.
- [5] MENG F H, LI Y B, XIONG Z L, et al. Osteoblastic proliferative activity of *Epimedium brevicornum* Maxim[J]. Phytomedicine, 2005, 12: 189-193.
- [6] CHEN K K, CHIU J H. Effect of *Epimedium brevicornum* Maxim extract on elicitation of penile erection in the rat[J]. Urology, 2006, 67: 631-635.
- [7] PAN Ying, KONG Lingdong, LI Yucheng, et al. Icariin from *Epimedium brevicornum* attenuates chronic mild stress-induced behavioral and neuroendocrinological alterations in male Wistar rats[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2007, 87: 130-140.
- [8] LU Yu, WANG Deyun, HU Yuanliang, et al. Sulfated modification of epimedium polysaccharide and effects of the modifiers on cellular infectivity of IBDV[J]. Carbohydr Polym, 2008, 71: 180-186.
- [9] 宋小妹,唐志书.中药化学成分提取分离与制备[M].2版.北京:人民卫生出版社,2009:51.
- [10] 田庚元,冯宇澄,林颖.植物多糖的研究进展[J].中国中药杂志,1995,20(7):441-444.
- [11] 刘锐.多糖类物质的研究进展[J].安徽农业科学,2005,33(9):1722-1725.
- [12] 陈旋,张翼,张剑波.植物多糖的研究进展[J].中国新药杂志,2007,16(13):1000-1004.
- [13] 余文景,杨松涛,胡晓梅.地黄多糖、淫羊藿多糖、菟丝子多糖对成体大鼠肝脏干细胞生长活性的影响[J].四川中医,2010,28(5):67-69.
- [14] 罗祖友,吴季勤,吴谋成.植物多糖的抗氧化与抗病毒活性[J].湖北民族学院学报:自然科学版,2007,25(1):77-81.
- [15] KONG Xiangfeng, HU Yuanliang, RUI Rong, et al. Effects of Chinese herbal medicinal ingredients on peripheral lymphocyte proliferation and serum antibody titer after vaccination in chicken[J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4: 975-982.
- [16] WANG Deyun, LI Xiangrui, XU Lixin, et al. Immunologic synergism with IL-2 and effects of cCHMIs on mRNA expression of IL-2 and IFN- γ in chicken peripheral T lymphocyte[J]. Vaccine, 2006, 24: 7109-7114.
- [17] 陈建芬,郭辉,马瑞彬,等.淫羊藿多糖的精制实验研究[J].时珍国医国药,2006,17(7):1241-1242.
- [18] 苏瑛,郑晓翠,刘鹏举,等.淫羊藿多糖的纯化及其结构初步鉴定[J].生产与科研经验,2009,35(12):93-96.
- [19] 饶金华,刘文英,江佳峪.柱前衍生化高效液相色谱法分析淫羊藿多糖中单糖的组成[J].时珍国医国药,2007,18(2):366-367.
- [20] 李德耀.淫羊藿多糖的分离纯化结构分析和免疫活性研究[D].郑州:郑州大学,2005.
- [21] 陈鸿英,朱永智,吴乃居,等.朝鲜淫羊藿多糖的含量测定[J].中草药,2003,34(9):810-811.
- [22] 朱永智,陈旭.不同品种、产地淫羊藿多糖的含量测定[J].天津中医药,2004,21(1):68-69.
- [23] 王悦云,徐文芬,何顺志.贵州产淫羊藿药材不同药用部位中多糖的含量测定[J].时珍国医国药,2009,20(2):367-368.
- [24] 徐颖,牟孝硕,王刚,等.淫羊藿多糖对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响[J].沈阳药科大学学报,2000,17(6):434-437.
- [25] 王刚,徐颖.淫羊藿多糖对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J].武警医学院学报,2003,12(13):194-196.
- [26] 张述斌,薛掌林,刘瑞生,等.黄芪多糖、淫羊藿多糖对鸡新城疫疫苗免疫增强作用的研究[J].甘肃畜牧兽医,2004,177(4):24-25.
- [27] 罗燕,邵永斌,谷新利,等.淫羊藿多糖对鸡免疫功能及疫苗免疫效果的影响[J].中国家禽,2009,37(1):22-26.
- [28] 孟宪丽,李建亚,张艺,等.淫羊藿多糖对老年大鼠神经内分泌免疫调节作用的研究[J].中药药理与临床,1998,14(3):19-20.
- [29] 卢宇,王凯民,郭振环,等.硫酸化淫羊藿多糖对鸡外周血淋巴细胞IL-2和IFN- γ 的mRNA表达的影响[J].江苏农业学报,2009,25(5):1073-1077.
- [30] 任宇皓,胡元亮,刘家国,等.黄芪多糖、淫羊藿多糖和淫羊藿总黄酮对新城疫病毒感染细胞的影响[J].南京农业大学学报,2001,24(2):102-105.
- [31] 吕岫华,刘伟,郝冬梅,等.中药多糖对EB病毒早期抗原激活的抑制作用[J].北京工业大学学报,2010,36(1):92-96.
- [32] 边晓丽,王苑桃,王晓美.淫羊藿多糖及水提液清除 O_2^- 作用研究[J].西北药学杂志,1999,14(2):79.

- [33] 胡元亮, 任宇皓, 宋大鲁, 等. 黄芪多糖和淫羊藿多糖对培养细胞增殖和衰老的影响[J]. 中国兽医学报, 2005, 25(3): 304-306.
- [34] 徐小芳, 罗燕, 赵民, 等. 淫羊藿多糖对鸡抗氧化功能的影响[J]. 中国兽医杂志, 2009, 45(3): 27-28.
- [35] 杨晓华, 张华峰, 王瑛. 淫羊藿多糖的功能、提取及开发前景[J]. 中国食品添加剂, 2008(增刊 1): 184-187.
- [36] 刘福春, 丁光霞, 李菊仙. 淫羊藿多糖对羟基脲所致“阳虚”动物骨髓细胞 DNA 合成率的影响[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(10): 620-622.
- [37] 丁雁, 陈萍, 邢善田, 等. 淫羊藿多糖对叠氮胸苷抑制小鼠造血和免疫功能的对抗作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1994, 8(3): 203-205.
- [38] 李锐松, 李吉来, 许俊杰. 淫羊藿煎剂、多糖与粗黄酮对大鼠血小板聚集性的影响[J]. 中药通报, 1987, 12(8): 40-42.
- [39] 刘爱恒, 宋宏良. 淫羊藿多糖的致突变研究[J]. 癌变·畸变·突变, 1993, 5(6): 15.
- [40] 宋宏良, 刘爱恒. 淫羊藿多糖对大鼠胚胎毒性及致畸的实验研究[J]. 癌变·畸变·突变, 1993, 5(6): 54.
- [41] 邹桂欣, 姚燕. 淫羊藿炮制前后多糖含量比较[J]. 中成药, 1995, 17(8): 19.
- [42] 杨武德, 胡高翔. 粗毛淫羊藿及其不同炮制品中多糖的测定[J]. 中草药, 2005, 36(4): 543-544.
- [43] 刘宝岩. 淫羊藿多糖提取方法的优化[J]. 广西轻工业: 食品与生物, 2009(12): 7-8; 23.
- [44] 刘迎, 史万玉, 杨明, 等. 超微粉碎技术对黄芪多糖、淫羊藿多糖溶出的影响[J]. 中兽医医药杂志, 2006(1): 14-16.
- [45] 柳凤祥, 张万福. 淫羊藿多糖的超声波提取与含量测定研究[J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2008, 39(4): 533-535.
- [46] 罗燕, 邵永斌, 谷新利, 等. 淫羊藿多糖提取工艺的优化及对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 动物保健品, 2009(5): 104-106.
- [47] 苏瑛, 郑晓翠, 唐咏, 等. 淫羊藿多糖的酶法提取及其抗氧化作用的研究[J]. 食品科技: 提取物与应用, 2009, 34(4): 200-203.
- [48] 严赞开, 邱虎. 淫羊藿多糖的提取工艺研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(12): 90-91.
- [49] 郑晓翠, 苏瑛, 唐咏, 等. 淫羊藿多糖的提取及其蛋白的脱除[J]. 华西药理学杂志, 2009, 24(2): 155-157.
- [50] 李瑞军, 李德耀, 张现峰, 等. 大孔吸附树脂法去除淫羊藿多糖中蛋白的研究[J]. 高等学校化学通报, 2006, 27(1): 67-70.
- [51] 张华峰, 杨晓华. 淫羊藿的生物活性成分及其开发策略研究[J]. 中草药, 2010, 41(2): 329-332.
- [52] 曹光明, 俞子行. 论中药工业中的中试放大验证[J]. 世界科学技术: 中药现代化与工业工程技术, 2002, 4(6): 19-23.
- [53] 张华峰, 杨晓华. 淫羊藿药材质量控制的问题与对策[J]. 中草药, 2009, 40(1): 160-163.
- [54] 张华峰, 杨晓华, 郭玉蓉, 等. 药用植物淫羊藿资源可持续利用现状与展望[J]. 植物学报, 2009, 44(3): 363-370.
- [55] YANG Huanjie, CHEN Di, CUI Qiuzhi Cindy, et al. Celastrol, a triterpene extracted from the Chinese “Thunder of God Vine” is a potent proteasome inhibitor and suppresses human prostate cancer growth in nude mice[J]. Cancer Res, 2006, 66(9): 4758-4765.