

生物技术在雷公藤减毒增效中的应用

唐圆圆¹, 刘谦¹, 张景红^{1, 2*}

(1. 华侨大学 分子药理学研究所, 福建 泉州 362021;

2. 分子药物教育部工研究中心, 福建 泉州 362021)

[摘要] 目的: 阐述生物技术在雷公藤 *Tripterygium wilfordii hook* 减毒增效研究中的应用概况。方法: 总结国内外相关文献, 从生物靶向给药、酶和细胞对单体进行修饰、内生菌中分离有效成分以及整体发酵等方面归纳生物技术在雷公藤减毒增效研究中的应用。结果: 通过将药物靶向运输到病变部位、对单体有效成分进行结构修饰、整体转化雷公藤以及从内生菌中分离有效成分等手段, 生物技术能在单体有效成分和雷公藤整体水平上对雷公藤进行减毒增效。结论: 采用模式菌和重组基因工程菌转化雷公藤各种减毒增效成分, 同时积极筛选生物脱毒相关基因或毒理作用的最佳靶点并合成其抑制剂得到减毒成分将是雷公藤减毒增效研究的一个重要方向。

[关键词] 生物靶向给药; 生物修饰; 内生菌; 生物转化

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)09-0214-05

Application of Biotechnology for Decreasing Toxicity and Increasing Efficacy of *Tripterygium wilfordii*

TANG Yuan-yuan¹, LIU Qian¹, ZHANG Jing-hong^{1, 2*}

(1. Institute of Molecular Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China;

2. Engineering Research Center of Molecular Medicine, Ministry of Education, Quanzhou 362021, China)

[Abstract] Objective: To outline the application of biotechnology in decreasing the toxicity and increasing the efficacy of *Tripterygium*. **Method:** The related literatures, including articles concerning biologically targeting drug delivery, modifying a ingredient by enzymes or cells, isolating effective components from endophytes and the overall fermentation of *Tripterygium*. **Result:** By delivering drugs to the lesion site, modifying an ingredient, isolating effective components from endophytes and overall fermenting of *Tripterygium*, the biotechnology could decrease the toxicity and increase the efficacy of *Tripterygium* at both monomer and overall level. **Conclusion:** The application of biotechnology, including biotransforming effective ingredients of *Tripterygium* by type and genetic engineering bacteria, screening the best targets from the related genes of biotical detoxification and toxicological effects, and synthesizing their inhibitors to get the efficacy components, will be an important direction in the research of *Tripterygium*.

[Key words] biologically targeting drug delivery; biological modification; endophytes; biotransformation

[收稿日期] 2010-3-10

[基金项目] 福建省重点资助项目(2008Y0055); 福建省自然科学基金项目(2008J0102); 泉州市科技资助项目(2008Z76); 泉州市基金项目(2008Z12), 华侨大学人才引进启动项目(BS105)

[第一作者] 唐圆圆, 研究方向: 中药生物工程, Tel: 13055675677, E-mail: tatum@hqu.edu.cn

[通讯作者] * 张景红, 副教授, 博士, 硕导, 研究方向中药生物工程和肿瘤免疫学, Tel: 13506922986, Fax: 0595-22691829, E-mail: zjh@hqu.edu.cn

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook 作为一种传统中药, 具有祛风除湿, 活血通络, 消肿定痛等功效, 广泛用于风湿痹痛, 关节僵硬, 屈伸不利, 腰膝疼痛等。近年来雷公藤的药理学研究进展迅速, 特别是雷公藤诸多成分在肿瘤治疗中表现出的突出疗效(表 1), 引起众多研究者的广泛兴趣。与此同时, 有关雷公藤甲素(triptolide, TP)、雷公藤乙素(triptdiolide) 和雷公藤红素(celastrol) 等成分的毒性报道也同样引起了研究者的普遍关注, 但与药理活性的研究范围、力度、深度相比, 降低毒性的研究相对滞后, 其中主要原因在于雷公藤抗癌谱较广, 但治疗窗狭窄。研究表明雷公藤的多种抑肿瘤成分同时也可能是其毒性成分, 因此现行的方法难以从根本上解决其毒性问题。虽然已经采用传统炮制、配伍、化学结构修饰等研究手段对雷公藤进行减毒增效研究, 但效果并不理想。最近有学者提出雷公藤的药效与毒性和雷公藤的一种或几种成分的协同作用有关^[1], 但涉及的具体的方法仍不够明确。笔者认为采用生物技术从整

体角度考虑雷公藤的多种成分的靶向制剂、生物位点修饰和整体转化可能为其减毒增效研究提供有效的思路和方法。近年来国内外的学者在这个领域进行了积极有效的尝试, 取得了可喜的进展。

1 雷公藤成分的毒性和活性的关系

雷公藤属中含有多种成分, 目前已报道 380 余种, 主要是生物碱类、二萜类、三萜类、倍半萜类及糖, 而且迄今已发现其中约 50 种成分具有抗肿瘤活性, 研究较多的包括二萜类的雷公藤甲素、雷公藤甲素衍生物(如雷公藤乙素、雷公藤氯内酯醇(tripchlorolide)) 以及三萜类的雷公藤红素等。在雷公藤属所有成分中, 起药理作用的主要是二萜类成分, 其次为生物碱类^[2], 但二萜类和生物碱类的毒性也最强。因此不能单独考虑某些成分的毒性, 而是要将其与活性的研究结合起来, 综合考虑。由于单一成分中, TP 抑癌活性最强, 但它的毒副作用也最大, 因此在雷公藤的毒性或者活性研究中往往以 TP 作为研究的重点。

表 1 雷公藤的部分抗癌成分及其抑癌谱

抗癌成分	抗癌谱	文献
雷公藤甲素	黑色素瘤、乳腺癌、胃癌、膀胱癌、直肠癌、表皮样癌、粒细胞白血病、T 细胞淋巴瘤、肝细胞癌、胆管癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌及中枢神经系统肿瘤等	[3]
雷公藤乙素	人口腔表皮样癌、肺癌、白血病等	[2]
雷公藤氯内酯醇	宫颈癌、胃腺癌等	[4]
雷公藤红素	鼻咽癌、结肠癌、前列腺癌、肺癌、肝癌、乳腺癌、胃癌、头颈鳞状细胞癌等	[2, 5]
雷公藤碱	鼻咽癌、白血病等	[4]

2 利用生物分子修饰提高雷公藤制剂靶向性以达到减毒增效的目的

生物靶向给药系统的原理在于通过药物制剂的改造使雷公藤同某些能够识别特定细胞的标识物结合, 从而改变其在体内的分布途径, 使药物主要聚集在病变组织中, 以此减小在正常组织的蓄积毒性, 从而达到降低毒性的目的; 同时, 由于靶向制剂能延长药物在靶部位的滞留时间, 因而可起到增强疗效的作用。近年来雷公藤靶向制剂的报道大多集中在 TP 的靶向制剂研究中, 靶向制剂的生物分子标识物涉及叶酸、转体蛋白、透明质酸^[6] 和溶菌酶^[7] 等(表 2)。尽管上

述生物靶向给药系统均能够不同程度的增强 TP 的药理作用, 但前 3 种生物靶向给药系统并未能降低 TP 本身的毒性, 虽然报道雷公藤内酯醇-溶菌酶结合物能够降低 TP 所致的毒性(雷公藤内酯醇-溶菌酶结合物对肝脏的毒性为 TP 的 78%), 但效果并不十分明显。从目前研究的总体效果来看, 4 种生物靶向给药系统对 TP 的减毒增效的作用, 以雷公藤内酯醇-溶菌酶结合物最好, 但 TP-溶菌酶复合物制备过程较为复杂, 同时溶菌酶为小分子蛋白, 其来源受到一定的限制, 且原料保存的要求较高, 如能在解决来源的同时简化制备工艺, 这将是一种极具潜力的技术。

表 2 雷公藤的几种生物分子靶向载体

靶向制剂	靶向性能	减毒、增效效果	文献
TP-叶酸脂质体	肿瘤细胞	0.2 mg·kg ⁻¹ 剂量时对乳腺癌肺转移的抑制作用与同剂量游离 TP 药效相同。	[6]
TP-转体蛋白脂质体	肿瘤部位及脑内	含等浓度 TP(5 ng·mL ⁻¹) 时, 对 B16 黑色素瘤细胞和 4T1 乳癌细胞的抑制率大于 TP。	[6]
TP-透明质酸脂质体	肿瘤细胞	含等浓度 TP(5 ng·mL ⁻¹) 时, 对 B16 黑色素瘤细胞和 4T1 乳癌细胞的抑制率大于 TP。	[6]
TP-溶菌酶结合物	肾小球	明显缓解肾功能损伤, 对肝脏的毒性为 TP 的 78%。	[7, 8]

3 利用酶和细胞对雷公藤单体进行结构修饰, 以此得到高效低毒新产物, 达到减毒增效的目的

化学修饰研究的结果表明对 TP 的结构修饰可改变其毒性^[9-10], 但是目前 TP 的构效关系尚未研究清楚, 因此需要合成大量的 TP 衍生物并研究其活性, 弄清其构效关系的同时寻找高效低毒的新化合物。然而化学修饰需要多步反应, 步骤繁琐, 难以进行某些区位和立体的结构修饰, 而且对环境污染较大。自然界中含有多种酶, 几乎可以催化所有的反应, 同时采用生物酶对底物进行催化具有反应步骤少, 专一性和立体选择性强等优点。近年来采用生物酶对 TP 的修饰已有所报道, 如利用人和鼠肝微粒体中细胞色素 3A4 (CYP 3A4) 和 CYP 2C19 转化 TP 分别可得到 3 种和 4 种转化产物^[11]。同时酶对 TP 的代谢可通过添加该酶的诱导剂或抑制剂加以控制, 如添加 CYP3A4 的诱导剂地塞米松后可显著增加产物 M3 的比例而降低 M1, M2 的产率并在实验中出现一种新的转化产物^[12]。

酶法转化虽然能够通过转化雷公藤单体成分得到所需

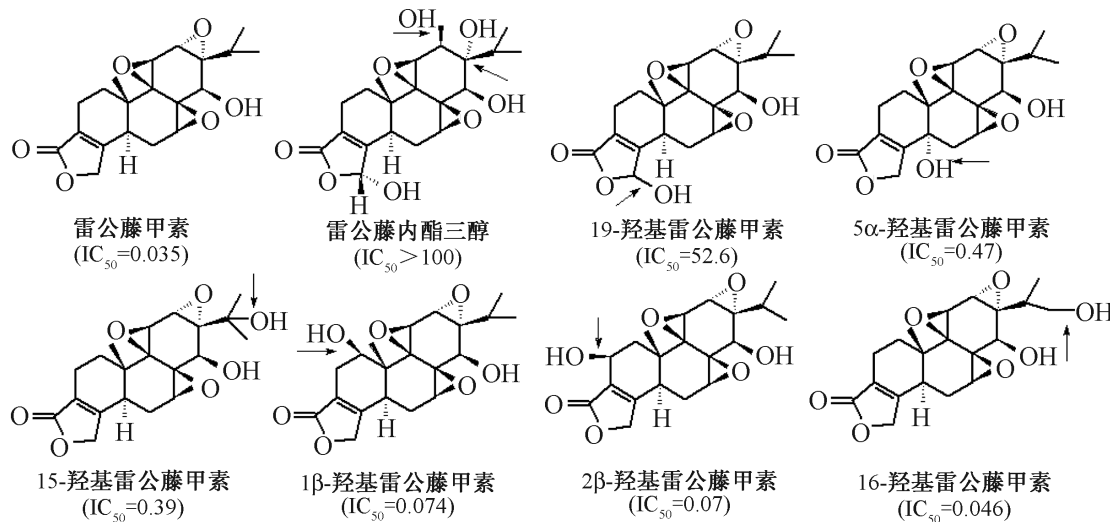


图 1 TP 的不同位点的转化产物及其毒性改变

4 从雷公藤内生菌中直接分离毒性降低的新活性成分

根据内共生理论, 内生真菌可能产生与宿主相同或相似的次生代谢产物, 因此更容易从内生真菌中筛选到新化合物^[16], 所以有学者从雷公藤中分离内生菌并分析其代谢产物的药理活性, 期望从中找到毒性降低但仍具有药理活性的化合物。目前已从雷公藤中分离到多种内生菌, 从分离的部位来看根部最多, 占所分离内生菌的一半左右, 其次是茎和叶^[17]; 对雷公藤内生菌进行分类发现以拟茎点霉属 *Phomopsis* sp.、拟盘多毛孢属 *Pestalotiopsis* sp.、赤炫 f 菌属 *Guignardia* sp.、炭疽病菌属 *Glomerella* sp. 等居多(表 3)^[18]。其中很多内生菌产生了具有抗免疫及抑癌活性的物质, 如 Siva 等^[18] 筛选出 15 株代谢产物表现出免疫抑制活性的菌株; 宋萍等^[19] 分离的 22 株内生真菌中大多数菌的代谢产物对人肿瘤细胞表现出不同程度的抑制活性。同时这些活性物质的毒性较 TP 也有不同程度的降低, 如拟盘多毛孢属 (*P. sp.*) 毛霉属 (*Mucor sp.*)、轮枝孢属 (*Verticillium sp.*) 的代谢产物对免疫细胞的抑制 [IC₅₀ 值为 (0.75 ± 0.12) ~ (0.80 ± 0.12) g · mL⁻¹] 并非基于细胞毒作用^[18], 其中又以

的目的产物, 但由于酶的分离纯化条件苛刻, 技术难度较大, 因而成本较高, 此外酶在自然状态下容易失活, 给酶的保存带来很大不便。而生物细胞, 特别是微生物来源广泛, 富含单一或多种生物转化中必须的酶, 具有易于保存、培养、扩大、立体选择性强、一次转化多步反应等优点, 因此有学者尝试直接采用生物细胞对雷公藤的单体进行转化并取得了可喜的进展^[13-15]。

从文献报道来看, 植物悬浮细胞和微生物细胞都可以对 TP 进行修饰, 但不同来源的细胞催化 TP 的能力有所不同, 如长春花和桔梗悬浮细胞都能转化 TP 而银杏悬浮细胞则无明显转化迹象; 而可转化 TP 的微生物以霉菌居多, 且不同菌株其转化能力亦有所差异, 以短刺小克银汉霉 (*Cunninghamella blakesleana* AS 3. 970) 转化效果最好。微生物细胞可在 TP 的多个位点进行转化(1, 2, 5, 15, 16, 19, 19 位羟基化及 12, 13 位开环), 同时转化产物的毒性随着转化位点的不同也发生变化(图 1), 具体表现为 IC₅₀₍₁₉₎ > IC₅₀₍₅₎ > IC₅₀₍₁₅₎ > IC₅₀₍₁₎ > IC₅₀₍₂₎ > IC₅₀₍₁₆₎ (HL-60 细胞系)。

Pestalotiopsis leucothes 的产生的代谢产物具有最强的免疫抑制活性, 说明很可能从这种内生菌中获得高效低毒的新成分。

从雷公藤内生菌中寻找抗肿瘤活性物质与对雷公藤有效成分进行修饰的目的相同, 都是为获得新的高效低毒产物。目前从药用植物内生真菌中寻找能产生抗肿瘤活性的天然活性物质已成为开发新型药物的重要研究内容, 并被认为是解决植物源药物资源短缺的最佳方法之一, 因此从雷公藤内生菌中寻找新活性物质将为解决雷公藤减毒增效问题提供一条新的思路。

5 利用微生物对雷公藤整体进行发酵以减毒增效

近年来有学者提出, 雷公藤的毒性和活性是由多种成分共同导致的, 在生理活性方面具有相互协同、互补增效的作用, 在作用范围上往往具有多靶点的特征^[1], 因此如何从整体的角度同时对雷公藤的多种成分进行改变从而减毒增效成为一个重要的问题。但雷公藤中成分多样, 化学反应由于受到催化剂的限制不能同时作用于多种底物; 而微生物因含有多种酶, 可同时催化不同的底物, 因此利用微生物做催化

表 3 从雷公藤中分离到的内生菌

内生菌属分类	内生菌种属	分离的株数
小支顶孢属(<i>Acremonia</i> sp.)	小支顶孢属(<i>A</i> sp.)	1
支顶孢属(<i>Acremonium</i> sp.)	支顶孢属(<i>A</i> sp. A)	14
	支顶孢属(<i>A</i> sp. B)	5
	支顶孢属(<i>A</i> sp. C)	2
链格孢属(<i>Alternaria</i> sp.)	链格孢(<i>A. alternata</i>)	2
曲霉属(<i>Aspergillus</i> sp.)	曲霉属(<i>A</i> sp.)	1
腔体菌属(<i>Coelomyces</i> sp.)	腔体菌属(<i>C</i> sp. 1)	1
	腔体菌属(<i>C</i> sp. 2)	1
	腔体菌属(<i>C</i> sp. 3)	1
	腔体菌属(<i>C</i> sp. 4)	1
	腔体菌属(<i>C</i> sp. 5)	1
刺盘孢属(<i>Colletotrichum</i> sp.)	香蕉炭疽菌(<i>C. musae</i>)	1
	刺盘孢属(<i>C</i> sp. 1)	4
	刺盘孢属(<i>C</i> sp. 2)	1
炭疽病菌属(<i>Glosterella</i> sp.)	油茶炭疽菌(<i>G. circulata</i>)	36
赤炫 f 菌属(<i>Guignardia</i> sp.)	赤炫 f 菌属(<i>G</i> sp.)	41
单格孢属(<i>Mordictys</i> sp.)	单格孢属(<i>M</i> sp.)	2
毛霉属(<i>Mucor</i> sp.)	毛霉属(<i>M</i> sp.)	2
拟盘多毛孢属(<i>Pestalotiopsis</i> sp.)	拟盘多毛孢属(<i>P. creunata</i>)	30
	广布拟盘多毛孢(<i>P. disseminata</i>)	15
	拟盘多毛孢属(<i>P. leucothes</i>)	1
	窒息拟盘多毛孢(<i>P. suffocata</i>)	1
拟盘多毛孢属(<i>P. visimiae</i>)	拟盘多毛孢属(<i>P. visimiae</i>)	4
	瓶霉属(<i>Phialophora</i> sp.)	瓶霉属(<i>P</i> sp.)
茎点霉属(<i>Phoma</i> sp.)	茎点霉属(<i>P</i> sp. 1)	22
	茎点霉属(<i>P</i> sp. 2)	1
拟茎点霉(<i>Phomopsis</i> sp.)	拟茎点霉(<i>P</i> sp. A)	15
	拟茎点霉(<i>P</i> sp. B)	16
	拟茎点霉(<i>P</i> sp. C)	3
	拟茎点霉(<i>P</i> sp. D)	14
	拟茎点霉(<i>P</i> sp. E)	6
	拟茎点霉(<i>P</i> sp. F)	5
轮枝孢属(<i>Verticillium</i> sp.)	轮枝孢属(<i>V</i> sp.)	2

剂对雷公藤中各种有机质进行分解和转化,使其成分及成分间的比例发生改变,通过调整这些物质,利用配伍成分间的协同和对抗作用,可使雷公藤的功效和毒性发生变化^[20]。目前已有报道利用真菌采用固态发酵的方法对雷公藤整体进行转化并得到了毒性降低的产物(表 4)。

表 4 微生物固体发酵雷公藤减毒增效效果

分类	发酵微生物	减毒增效效果	参考文献
普通真菌	曲霉菌(<i>Aspergillus</i> sp.)	甲醇总提取物抗炎作用增强,对细胞免疫的抑制作用明显增强;毒性明显小于雷公藤原药	[20, 21]
	根霉菌(<i>Rhizopus</i> sp.)、酵母(<i>Saccharomyces</i> sp.)与毛霉菌(<i>Mucor</i> sp.)混合	甲醇总提取物抗炎作用增强;毒性与雷公藤原药相似	[20, 21]
食用真菌(双向发酵)	根霉菌(<i>R</i> sp.)、酵母(<i>S</i> sp.)与毛霉菌(<i>M</i> sp.)混合	甲醇总提取物抗炎作用增强;毒性与雷公藤原药相似	[20, 21]
	桑黄(<i>Phellinus igniarius</i>)	发酵提取液具有防护小鼠急性 CCl ₄ 肝损伤的作用,毒性较雷公藤有所降低	[22]
	灵芝(<i>Ganoderma lucidum</i>)	发酵产物保持免疫抑制作用;毒性下降明显(LD ₅₀ 由 4 g·kg ⁻¹ 升至 28.5 g·kg ⁻¹)	[23-25]

注:由于所用营养辅料(大豆粉、米粉和麦麸)不同导致转化产物药理活性不同。

目前主要采用固态生物转化的方式用微生物对雷公藤整体进行转化,但采用的微生物各不相同,如马伟光等采用普通的真菌,通过菌种的组合及改变培养基实现改变雷公藤的不同有机成分从而达到减毒增效的目的;庄毅认为采用药用真菌对药材进行发酵,药材不但可以为真菌提供所需营养,而且成分可因真菌所含酶的作用而发生变化,从而改变其药效、毒性(即双向发酵)^[26],因此其主要采用药用真菌对雷公藤进行转化。由于药用真菌如灵芝等本身含有有益成分(如抗肿瘤成分灵芝多糖),这些成分也有可能与雷公藤配伍而达到减毒增效的效果,因而从减毒增效的效果来看,虽然上述两种方法均能够降低雷公藤的毒性,但后者能够显著效果更为显著,雷公藤的 LD₅₀值明显升高。利用药食两用菌双向发酵,炮制处理雷公藤整体药材、可鞣是一种比较理想的减毒方法。

6 展望

雷公藤药效独特,但广泛、多系统的器官损伤限制了它的临床应用,因此如何在保持雷公藤活性的同时降低其毒副作用成为迫切需要解决的问题。采用生物技术对雷公藤的减毒增效集中在生物靶向给药、活性单体生物修饰、从内生菌中寻找新产物及对雷公藤进行整体转化等方面。从减毒的效果来看以微生物对雷公藤的转化最佳,鉴于雷公藤甲素、雷公藤乙素等成分既是活性成分又是毒性成分,是一把双刃剑,为此雷公藤的减毒措施要从其整体出发,考虑多部位的修饰或者采用基因工程技术组合多种工程菌来充分的达到减毒增效的目的。由于目前筛选的微生物品种还比较少,需要考虑的修饰位点较多,笔者认为应从以下 3 方面综合考虑雷公藤的增效减毒问题:应用具有模拟人体代谢的模式微生物(小克银汉霉属、酵母属)整体转化雷公藤的多种减毒增效成分,优化筛选,确定最佳的减毒增效工艺。重组基因工程菌,采用生物合成、生物修饰、生物催化方式定点得到增效和减毒的目标成分,直接发挥药理作用。筛选生物脱毒相关基因或毒理作用的最佳靶点,直接合成、转化、修饰靶点抑制剂,得到雷公藤的减毒成分,达到增效减毒目的。目前上述研究仍未取得较大的进展,但笔者认为采用生物技术对雷公藤增效减毒仍将是雷公藤研究中的一个重点发展方向。

[参考文献]

[1] 李家明. 从构效关系角度探讨中药雷公藤的药效和毒性的关系 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (20): 1638.

[2] Brinker A M, Ma J, Lipsky P E, et al. Medicinal chemistry and pharmacology of genus tripterygium (celastraceae) [J]. Phytochemistry, 2007, 68 (6): 732.

[3] 骆永伟, 施畅, 廖明阳. 雷公藤甲素抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34 (16): 2024.

[4] 金言. 雷公藤氯内酯醇诱导肿瘤细胞凋亡的分子机制探讨 [D]. 上海: 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 2005.

[5] 周光飏, 马亮, 吴福群, 等. 雷公藤红素在制药中的新应用 [P]. 200810198485. 2009/01/28.

[6] Yang S, Su Y, Xiao Z, et al. Inhibitory effects of triptolide nanovehicles on tumor growth and metastases [J]. AACR Meeting Abstracts, 2006, 47 (1): 1283.

[7] Zhang Z R, Zheng Q, Han J, et al. The targeting of 14-succinate triptolide-lysozyme conjugate to proximal renal tubular epithelial cells [J]. Biomaterials, 2009, 30 (7): 1372.

[8] Zheng Q, Gong T, Sun X, et al. Synthesis, characterization and in vitro evaluation of triptolidelysozyme conjugate for renal targeting delivery of triptolide [J]. Arch Pharm Res, 2006, 29 (12): 1164.

[9] Li Z, Zhou Z, Miao Z, et al. Design and synthesis of novel c14-hydroxyl substituted triptolide derivatives as potential selective antitumor agents [J]. J Med Chem, 2009, 52 (16): 5115.

[10] Aoyagi Y, Hitotsuyanagi Y, Hasuda T, et al. Fluorination of triptolide and its analogues and their cytotoxicity [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18 (7): 2459.

[11] Li W, Liu Y, He Y Q, et al. Characterization of triptolide hydroxylation by cytochrome p450 in human and rat liver microsomes [J]. Xenobiotica, 2008, 38 (12): 1551.

[12] Ye X, Li W, Yan Y, et al. Effects of cytochrome p4503A inducer dexamethasone on the metabolism and toxicity of triptolide in rat [J]. Toxicol Lett, 2010, 23 (1): 65.

[13] Ning L, Zhan J, Qu G, et al. Biotransformation of triptolide by cunninghamella blakesleana [J]. Tetrahedron, 2003, 59 (23): 4209.

[14] Ning L L, Han J, Zhang X Y, et al. Biotransformation of triptolide and triptonide by cell suspension cultures of catharanthus roseus. [J]. J Asian Nat Prod Res, 2004, 6 (2): 93.

[15] 宁黎丽. 雷公藤甲素和雷公藤内酯酮的生物转化研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003.

[16] 陈利军, 陈月华, 史洪中, 等. 药用植物内生真菌研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34 (11): 2438.

[17] 申屠旭萍, 陈宵峰, 俞晓平. 雷公藤内生真菌的分离及活性菌株的筛选 [J]. 浙江农业学报, 2006, 18 (5): 308.

[18] Siva S K D, Cheung H Y, Lau C S, et al. *In vitro* studies of endophytic fungi from tripterygium wilfordii with anti-proliferative activity on human peripheral blood mononuclear cells. [J]. J Ethnopharmacol, 2004, 94 (2/3): 295.

[19] 宋萍, 洪伟, 吴承祯, 等. 雷公藤内生真菌的分离及抗肿瘤活性研究 [J]. 北华大学学报: 自然科学版, 2009, 10 (4): 310.

[20] 马伟光, 毕云, 黄之镨, 等. 雷公藤固态生物转化产物的初步毒性研究 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24 (7): 943.

[21] 马伟光, 毕云, 黄之镨, 等. 雷公藤固态生物转化产物的初步药理研究 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24 (3): 373.

[22] 侯玉如. 柳松菇的功效性研究和桑黄的双向性新型发酵研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2005.

[23] 谢小梅, 苏明声, 罗阔丹, 等. 雷公藤解毒持效双向固体发酵工艺的建立 [C]. 武汉: 中国菌物学会第四届会员代表大会暨全国第七届菌物学学术讨论会, 2008.

[24] 王卫倩, 戴丹丹, 罗阔丹, 等. 灵雷菌质的急性毒性实验研究 [J]. 中国食用菌, 2008, 27 (3): 36.

[25] 庄毅, 谢小梅. 药用真菌新型 (双向性) 固体发酵工程对雷公藤解毒持效的初步研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34 (16): 2083.

[26] 庄毅. 药用真菌新型 (双向型) 固体发酵工程 [J]. 中国食用菌, 2002, 21 (4): 3.

[责任编辑 蔡仲德]