

姜黄素抗前列腺癌的药理学研究进展

石 群, 马淑梅, 陈秀华*

中国医药工业研究总院上海医药工业研究院创新药物和制药工艺国家重点实验室, 上海 2000437

摘要: 前列腺癌是欧美国家发病率最高的恶性肿瘤之一, 寻求新颖、有效的预防措施具有十分重要的意义。姜黄素是从姜科植物中提取的酸性酚类物质, 近年来发现其具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多方面的药理作用。凭借其多元化的药理学作用及毒副作用小的特点, 众多科研工作者对其作用于前列腺癌进行了大量研究。本文将姜黄素预防及治疗前列腺癌的机制、药动学、临床研究进展进行总结。

关键词: 天然产物; 姜黄素; 前列腺癌

中图分类号: R966

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.S.044

Review on Pharmacological Activity of Curcumin on Prostate Cancer

SHI Qun, MA Shu-mei, CHEN Xiu-hua*

(State Key Lab of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437 China)

Abstract: Prostate cancer is one of the most prevalent malignancies in men in Western countries. The burden of increasing morbidity and mortality due to prostate cancer imposes a need for new, effective measures of prevention in daily life. Curcumin, derived from the root of *Curcuma longa*, possess anti-inflammatory, antioxidant, anti-angiogenic properties. Extensive research indicated that this natural product can both prevent and treat prostate cancer. This article summarized the mechanism, pharmacokinetic and clinical research progress of curcumin's prevention and treatment of prostate cancer.

Key words: natural product; curcumin; prostate cancer

前列腺癌 (Prostate cancer, PCa) 是男性常见恶性肿瘤之一。全球发病率居于男性恶性肿瘤的第二位, 死亡率居于癌症相关死亡原因的第六位, 且发达国家的发病率明显高于发展中国家^[1]。但近年来, 发展中国家前列腺癌发病率也在不断上升^[2], 其中人们生活的日益西方化是导致其发病率升高的重要原因之一^[2,3]。姜黄素 (Curcumin) 是从姜科植物姜黄中提取的一种黄色酸性酚类物质。自公元前 1990 年, 姜黄素就广泛应用于印度草药疗法和传统中药的治疗。近年来研究表明, 姜黄素具有多方面的药理作用, 如抗炎、抗癌、降糖、抑制神经系统病变等^[4]。另外, 姜黄素安全性较高, 美国国立肿瘤所已将其列为第三代癌化学预防药。正是由于其多元化药理学作用及毒副作用小的特点, 众多科研工作者对其作用于前列腺癌进行了大量研究, 本文将对

姜黄素预防及治疗前列腺癌的机制、临床研究进展进行总结。

1 姜黄素对前列腺癌的药理学作用

1.1 对雄激素受体的作用

雄激素受体 (androgen receptor, AR) 对前列腺癌的发生、发展具有重要作用, 尤其是对于激素非依赖型前列腺癌。长期的雄激素阻断 (内分泌) 治疗会使 AR 基因突变、扩增及其共激活因子过表达等, 从而导致激素非依赖型前列腺癌的发生。姜黄素及其类似物能降低多种前列腺癌细胞内 AR 水平^[5-7]。Nakamura K 等人^[8]证实姜黄素能够通过抑制前列腺癌 LNCaP 和 PC-3 细胞内 AR 和 AR 共激活因子 (AP-1、NF- κ B、CBP) 的表达, 降低细胞内 AR 水平。Choi HY 等人^[9]证实姜黄素还能作用于 LNCaP 细胞的 Wnt/ β -catenin 通路, 降低该信号通路中 β -catenin 水平而使 AR 表达受抑制。姜黄素可以通过抑制 AR 表达及降低其与 DNA 的结合活性, 抑制雄激素介导的同源框基因 NKX3.1 的表达^[10], 该基因与

前列腺的发育、成熟及前列腺癌的发生、发展密切相关。

1.2 对前列腺癌细胞周期的影响

姜黄素类化合物能够阻滞前列腺癌细胞 G1/S 转型,从而使 G1 期细胞增加,抑制细胞增殖。该抑制作用主要通过以下两个方面的机制来实现:1) 抑制细胞周期蛋白 D、E(cyclin D、E)。cyclin D 与周期蛋白依赖性蛋白激酶 4/6(Cyclin-dependent kinase 2, CDK4/6) 所形成的复合物 CDK4/6-CyclinD 能使包括视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, pRb)在内的一系列底物磷酸化。pRb 的磷酸化能激活转录因子 E2F,激活的 E2F 正反馈调节细胞在 S 期进程所必需的蛋白表达。经研究证实姜黄素不仅能够降低激素依赖性前列腺癌细胞 LNCaP 中 cyclin D1 的水平^[11],而且能够抑制其在激素非依赖性前列腺癌细胞 DU145 和 PC-3 中的表达^[12]。cyclin E 与 CDK2 周期蛋白依赖性蛋白激酶 2(Cyclin-dependent kinase 2, CDK2) 所形成的复合物 cyclin E-CDK2 能催化 G1/S 转换。Aggarwal BB 等人研究证实^[13],在 DU145、PC-3 细胞中,姜黄素能够有效抑制 cyclin E 的表达,从而将细胞周期阻滞在 G1 期。2) 诱导周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂(Cyclin-dependent kinase inhibitor, CKIs) 的表达。CKIs 根据其结构和 CDK 选择特异性将其分为 Ink4 (p16^{INK4a}、p15^{INK4b}、p18^{INK4c} 和 p19^{INK4d}) 和 Cip/Kip (p21^{WAF1/Cip1}、p27^{Kip1} 和 p57^{Kip2}) 两个家族。姜黄素能够诱导 p21^{WAF1/Cip1}、p27^{Kip1} 的表达^[12,13],从而抑制 CDK2-cyclinE 复合物活性,阻滞 G1/S 转型。

姜黄素对裸鼠异位移植前列腺癌细胞的预防及治疗作用研究表明,其能够有效抑制肿瘤生长^[14,15]。

1.3 对前列腺癌细胞凋亡的影响

姜黄素类化合物不仅能够诱导雄激素依赖性前列腺癌细胞 LNCaP 的凋亡,而且能够诱导雄激素非依赖性前列腺癌细胞 PC-3 和 DU 145 细胞的凋亡^[16,17]。Mukhopadhyay A^[18] 等人研究称姜黄素类化合物主要通过以下几个方面诱导激素依赖和激素非依赖性前列腺癌细胞的凋亡,1) 降低 Akt、NF- κ B 的表达及其转录活性;2) 增强 TNF 诱导的细胞凋亡;3) 抑制 c-Jun 氨基末端激酶(JNK),该酶能够介导激活 AP-1;4) 使抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xl 的水平降低,使促凋亡蛋白 Bax 和 Bak 的水平升高;5) 激活 caspase-3 和 caspase-8。

Shankar S^[14] 等人进行的裸鼠体内试验研究表明,姜黄素亦能够抑制 Bcl-2 和 Bcl-xl 的表达,增强 Bax 和 Bak 的表达。

1.4 抑制肿瘤血管生成

肿瘤的生长和转移依赖于肿瘤血管生成。其中 VEGF 是刺激肿瘤血管生长最主要的调节因子,研究证实人类前列腺癌组织内 VEGF 水平显著升高^[19]。在前列腺癌细胞内,姜黄素能从转录和蛋白水平上降低 VEGF^[15],Gupta A^[20] 等人经研究表明姜黄素在 PC-3 细胞中能够通过以下两个方面的机制降低 VEGF 水平:1) 抑制 ERK1/2 的磷酸化。姜黄素与 ERK 抑制剂对 PC-3 细胞中 VEGF 的表达具有相同的效果,故认为姜黄素能够通过抑制 ERK1/2 的磷酸化来降低 MAPK 信号通路介导的 VEGF 表达;2) 抑制 MMP9 活性。在前列腺癌组织中 MMP9 处于高度激活状态,激活的 MMP9 能够增加 PC-3 细胞分泌 VEGF。将 PC-3 细胞中的 MMP9 基因敲除,一方面减少 VEGF 的分泌及其介导的血管生成,另一方面血管抑素分泌增加。因此, MMP9 对肿瘤血管新生具有重要作用,本实验研究证实姜黄素能够抑制 MMP9 的活性。

裸鼠体内试验研究亦表明,姜黄素能够抑制 VEGF 的表达,降低 VEGF 阳性内皮细胞数量和微血管密度^[14,15]。

1.5 对肿瘤侵袭、转移的影响

大量实验证明,姜黄素及其类似物能够抑制肿瘤的侵袭、转移^[21-23]。首先,姜黄素抑制 MMP-2、MMP-9 的活性。胞外基质降解是肿瘤侵袭与转移的必要条件之一, MMP-2/9 能够降解胞外基质中的 IV 型胶原蛋白。Hong JH 等人^[24] 通过体外、内试验研究表明,姜黄素能够显著抑制 MMP-2/9 的活性。然后, Cheng TS 等人^[25] 证明,姜黄素能降低细胞内激活的丝氨酸蛋白酶 matriptase 水平。Matriptase 能够介导肿瘤血管生成和细胞外基质降解,在多种前列腺癌细胞及患者体内均处于高表达状态^[26]。最后,姜黄素还能通过作用于 CXCL-1/2、CCL2 等趋化因子抑制前列腺癌转移^[22,23]。Lin TH^[27] 等人进行的裸鼠原位接种肿瘤试验表明,姜黄素类似物 ASC-J9 能够显著抑制癌细胞向腰椎和肠系膜淋巴结的转移。

在前列腺癌转移部位中,骨组织是最易发生转移的部位。约 90% 的前列腺癌患者会发生骨转移^[28],且 80% 以上的前列腺癌患者死于骨转移^[29]。

肿瘤的骨转移分为溶骨性和成骨性,而前列腺癌骨转移主要表现为成骨性^[30]。骨转移过程主要分为以下几个步骤:上皮细胞间质转型(EMT);脱离和外侵;粘附于骨组织;在骨组织和骨髓中生长及增殖。其中 EMT 能使肿瘤细胞获得侵袭性,是骨转移中的关键步骤^[29]。Duangkumpha K 等^[31]人证实 BMP-7 可以通过促进 N-钙黏蛋白和 Twsit 的表达来抑制 TGF- β 诱导的 EMT。另外, Kobayashi A^[32] 等人亦证实 BMP-7 能够通过 BMP7-BMPR2-p38-NDRG1 信号通路可逆性诱导前列腺癌干细胞的凋亡。因此, BMP7 可作为治疗前列腺癌骨转移的靶点。Dorai T^[33,34] 等人证实,姜黄素类化合物不仅能够增加 BMP-7 的血浆浓度,而且还能干扰前列腺癌细胞在骨转移中产生类成骨细胞和类溶骨细胞成分。因此,姜黄素对于治疗前列腺癌骨转移具有一定疗效。

1.6 抗炎

炎症是导致前列腺癌发生和发展的一个重要因素^[35]。姜黄素在前列腺癌中的抗炎机制主要是通过以下两个方面:一方面,姜黄素通过上调丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-5 (mitogen-activated protein kinase phosphatase-5, MKP5) 而抑制炎症因子的表达。p38MAPK 是调控炎症反应的重要信号系统, MKP5 能够使 p38MAPK 去磷酸化而抑制其活性, Nonn L^[36] 等人证实,在前列腺癌细胞 DU-145、PC-3、LN-CaP 和 LAPC-4 中,姜黄素能够通过上调 MKP5 抑制 IL-1 β /TNF- α 诱导的 p38MAPK 炎症信号通路激活,从而减少 COX-2、IL-6、IL-8 等促炎因子的表达和释放。另一方面,姜黄素还可以直接抑制 NF- κ B 的活性。NF- κ B 是多种炎症反应的共同通路,其参与调节 IL-6、IL-8、COX2 等多种炎症反应相关的细胞因子、炎性介质的基因转录过程。研究表明,姜黄素作用于 IKK/ I κ B α /NF- κ B 信号通路,即姜黄素能够抑制 I κ B α 的磷酸化和降解而使 NF- κ B 不能进行核易位^[37]。

2 药动学特点及安全耐受性

Vareed SK^[38] 等人通过 12 例健康者口服姜黄素,对其药动学进行研究。受试者中 6 人口服姜黄素 1000 mg,另外 6 人口服 12000 mg, HPLC 测定血浆。几乎未检出姜黄素,但是检测到其与葡萄糖苷酸和硫酸盐的结合物。Lao CD^[39] 等人采用剂量比例递增法研究健康人体对姜黄素的耐受量和安全

性。该项研究招募了 24 例健康受试者(13 男、11 女),每位受试者口服姜黄素提取物粉末,剂量从 500 mg/次以此增加到 12000 mg/次,只有 7 例(30%)出现轻微非剂量相关毒性作用,故认为单剂量口服姜黄素耐受性良好。

3 临床研究

根据美国临床试验网公布的数据,姜黄素正在进行的临床试验有 105 项,其中已经完成的有 45 项,完成并取得结果的有 6 项。有关姜黄素预防及治疗前列腺癌的 3 项临床试验亦在进行中。

前列腺特异性抗原 (Prostatespecific antigen, PSA) 是由前列腺上皮细胞产生,存在于前列腺腺泡及导管上皮细胞胞浆中,不表达与其他组织细胞,具有极高的组织器官特异性。PSA 作为前列腺最为重要的功能学指标,一直用于前列腺癌的筛查^[40]。Ide H^[41] 等人将 85 例受试者根据其体内 PSA 水平,以 10 ng/mL 为界随机分成两组进行双盲实验组。1 组 (PSA \leq 10 ng/mL):安慰剂 32 例,给药 28 例;2 组 (PSA > 10 ng/mL):安慰剂 10 例,给药 15 例。6 个月,2 组给药的 15 例其 PSA 由治疗前的 (18.8 \pm 12.4) ng/mL 下降至治疗后的 (10.2 \pm 6.2) ng/mL。结果表明,姜黄素能够降低患者体内 PSA 水平。

4 展望

综上所述,姜黄素对于激素依赖型和非依赖型前列腺癌均有预防和治疗作用,并且具有多靶向、无毒、副作用小的优势。另外,与传统化疗药物相比,姜黄素具有抑制骨转移的优势。Kanai M^[42,43] 等人进行的姜黄素纳米粒 (Theracurmin) 临床 I 期试验发现,虽然口服利用度显著提高,但是对 NF- κ B 几乎没有影响,这与体外试验结果存在差异。这给予了科研工作者一大挑战,即在保证其药效的基础上提高口服利用度。相信随着研究的不断深入,姜黄素会为前列腺癌患者带来希望。

参考文献

- 1 Jemal A, *et al.* Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61: 69-90.
- 2 Baade PD, *et al.* Epidemiology of prostate cancer in the Asia-Pacific region. *Prostate Int*, 2013, 1: 47-58.
- 3 Namiki M, *et al.* Prostate cancer working group report. *Japn J Clin Oncol*, 2010, 40: 70-75.

- 4 Aggarwal BB, *et al.* Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases; an age-old spice with modern targets. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30: 85-94.
- 5 Guo H, *et al.* Curcumin induces cell cycle arrest and apoptosis of prostate cancer cells by regulating the expression of I κ B α , c-Jun and androgen receptor. *Pharmazie*, 2013, 68: 431-434.
- 6 Fajardo AM, *et al.* The curcumin analog ca27 down-regulates androgen receptor through an oxidative stress mediated mechanism in human prostate cancer cells. *Prostate*, 2012, 72: 612-625.
- 7 Zhou DY, *et al.* Curcumin analogues with high activity for inhibiting human prostate cancer cell growth and androgen receptor activation. *Mol Med Rep*, 2014, 10: 1315-1322.
- 8 Nakamura K, *et al.* Curcumin down-regulates AR gene expression and activation in prostate cancer cell lines. *Int J Oncol*, 2001, 21: 825-830.
- 9 Choi HY, *et al.* Curcumin interrupts the interaction between the androgen receptor and Wnt/ β -catenin signaling pathway in LNCaP prostate cancer cells. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2010, 13: 343-349.
- 10 Zhang HN, *et al.* Curcumin downregulates homeobox gene NKX3. 1 in prostate cancer cell LNCaP. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28: 423-430.
- 11 Mukhopadhyay A, *et al.* Curcumin-induced suppression of cell proliferation correlates with down-regulation of cyclin D1 expression and CDK4-mediated retinoblastoma protein phosphorylation. *Oncogene*, 2002, 21: 8852-8861.
- 12 Srivastava RK, *et al.* Linkage of curcumin-induced cell cycle arrest and apoptosis by cyclin-dependent kinase inhibitor p21^{WAF1/CIP1}. *Cell Cycle*, 2007, 6: 2953-2961.
- 13 Aggarwal BB, *et al.* Curcumin induces the degradation of cyclin E expression through ubiquitin-dependent pathway and up-regulates cyclin-dependent kinase inhibitors p21 and p27 in multiple human tumor cell lines. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73: 1024-1032.
- 14 Shankar S, *et al.* Curcumin sensitizes TRAIL-resistant xenografts; molecular mechanisms of apoptosis, metastasis and angiogenesis. *Mol Cancer*, 2008, 7: 16.
- 15 Dorai T, *et al.* Therapeutic potential of curcumin in human prostate cancer. III. Curcumin inhibits proliferation, induces apoptosis, and inhibits angiogenesis of LNCaP prostate cancer cells *in vivo*. *Prostate*, 2001, 47: 293-303.
- 16 Dorai T, *et al.* Therapeutic potential of curcumin in human prostate cancer-I. curcumin induces apoptosis in both androgen-dependent and androgen-independent prostate cancer cells. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2000, 3: 84-93.
- 17 Yang CH, *et al.* The curcumin analog EF24 targets NF- κ B and miRNA-21, and has potent anticancer activity *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One*, 2013, 8: 1-12.
- 18 Mukhopadhyay A, *et al.* Curcumin downregulates cell survival mechanisms in humans prostate cancer cell lines. *Oncogene*, 2001, 20: 7597-7609.
- 19 Yang J, *et al.* Increased expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-C and VEGF receptor-3 in prostate cancer tissue are associated with tumor progression. *Asian J Androl*, 2006, 8: 169-175.
- 20 Gupta A, *et al.* Osteopontin and MMP9: Associations with VEGF expression/secretion and angiogenesis in PC3 prostate cancer cells. *Cancers*, 2013, 5: 617-638.
- 21 Ni X, *et al.* Demethoxycurcumin inhibits cell proliferation, migration and invasion in prostate cancer cells. *Oncol Rep*, 2012, 28: 85-90.
- 22 Killian PH, *et al.* Curcumin inhibits prostate cancer metastasis *in vivo* by targeting the inflammatory cytokines CXCL1 and -2. *Carcinogenesis*, 2012, 33: 2507-2519.
- 23 Herman JG, *et al.* Curcumin blocks CCL2-induced adhesion, motility and invasion, in part, through down-regulation of CCL2 expression and proteolytic activity. *Int J Oncol*, 2009, 34: 1319-1327.
- 24 Hong JH, *et al.* The effects of curcumin on the invasiveness of prostate cancer *in vitro* and *in vivo*. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2006, 9: 147-152.
- 25 Cheng TS, *et al.* Curcumin-targeting pericellular serine protease matriptase role in suppression of prostate cancer cell invasion, tumor growth, and metastasis. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2013, 6: 495-505.
- 26 Saleem M, *et al.* A novel biomarker for staging human prostate adenocarcinoma: overexpression of matriptase with concomitant loss of its inhibitor, hepatocyte growth factor activator inhibitor-1. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15: 217-227.
- 27 Lin TH, *et al.* Differential androgen deprivation therapies with anti-androgens casodex/bicalutamide or MDV3100/Enzalutamide versus anti-androgen receptor ASC-J9 (R) Lead to promotion versus suppression of prostate cancer metastasis. *J Biol Chem*, 2013, 288: 19359-19369.
- 28 Butoescu V, *et al.* Practical guide to bone health in the spectrum of advanced prostate cancer. *Can J Urol*, 2014, 21: 84-92.
- 29 Ibrahim T, *et al.* Pathogenesis of osteoblastic bone metastases from prostate cancer. *Cancer*, 2010, 116: 1406-1418.
- 30 Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med*, 2004, 35: 1655-1664.

- 31 Duangkumpha K, *et al.* BMP-7 blocks the effects of TGF- β -induced EMT in cholangiocarcinoma. *Tumour Biol*, 2014, 35: 9667-9676.
- 32 Kobayashi A, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *J Exp Med*, 2011, 208: 2641-2655.
- 33 Dorai T, *et al.* Curcumin inhibits prostate cancer bone metastasis by up-regulating bone morphogenic protein-7 *in vivo*. *J Cancer Ther*, 2014, 5: 369-386.
- 34 Dorai T, *et al.* Therapeutic potential of curcumin in prostate cancer--V: Interference with the osteomimetic properties of hormone refractory C4-2B prostate cancer cells. *Prostate*, 2004, 60: 1-17.
- 35 Nakai Y, *et al.* Inflammation and prostate carcinogenesis. *Int J Urol*, 2013, 20: 150-160.
- 36 Nonn L, *et al.* Chemopreventive anti-inflammatory activities of curcumin and other phytochemicals mediated by MAP kinase phosphatase-5 in prostate cells. *Carcinogenesis*, 2007, 28: 1188-1196.
- 37 Dorrah D, *et al.* Curcumin sensitizes prostate cancer cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2L by inhibiting nuclear factor-kappaB through suppression of I κ B α phosphorylation. *Mol Cancer Ther*, 2004, 3: 803-812.
- 38 Vareed SK, *et al.* Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Pre*, 2008, 17: 1411-1417.
- 39 Lao CD, *et al.* Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Comple Altern Med*, 2006, 6: 10.
- 40 Nogueira L, *et al.* Prostatic specific antigen for prostate cancer detection. *Int Braz J Urol*, 2009, 35: 521-531.
- 41 Ide H, *et al.* Combined inhibitory effects of soy isoflavones and curcumin on the production of prostate-specific antigen. *Prostate*, 2010, 70: 1127-1133.
- 42 Kanai M, *et al.* Dose-escalation and pharmacokinetic study of nanoparticle curcumin, a potential anticancer agent with improved bioavailability, in healthy human volunteers. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69: 65-70.
- 43 Kanai M, *et al.* A phase I study investigating the safety and pharmacokinetics of highly bioavailable curcumin (Theracurmin) in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2013, 71: 1521-1530.

(上接第 186 页)

- 23 Zhang AQ, *et al.* Purification and structural investigation of a water-soluble polysaccharide from *Flammulina velutipes*. *Carbohydr Polym*, 2012, 87: 2279-2283.
- 24 Wu M (伍明), *et al.* The study on active components of *Flammulina velutipes* and its effect. *Edible Fungi China* (中国食用菌), 2011, 30(3): 6-8.
- 25 Chang HL (常花蕾), *et al.* Effect of *Flammulina velutipes* polysaccharides on production of cytokines by murine immunocytes and serum levels of cytokines in tumor bearing mice. *J Chin Med Mater* (中药材), 2009, 32: 561-563.
- 26 Liu D (刘冬), *et al.* Protective effects of *Flammulina velutipes* polysaccharides containing germanium on mice liver. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2006, 37: 565-568.
- 27 Li YF (李怡芳), *et al.* The protective effects of polysaccharides of *Flammulina velutipes* on acute liver injury in mice. *J Guangdong Pharm Coll* (广东药学院学报), 2010, 26: 162-165.
- 28 Li SM (李守勉), *et al.* Extraction of *Flammulina velutipes* polysaccharide and evaluation of cosmetic efficacy. *Edible Fungi* (食用菌), 2009, 5: 72-73.
- 29 Pan HH (潘鸿辉), *et al.* Research on improving learning memory of *Flammulina velutipes* polysaccharides in mice. *Edible Fungi China* (中国食用菌), 2014, 33(5): 40-42.
- 30 Yang WJ, *et al.* Optimization of ultrasonic extraction of *Flammulina velutipes* polysaccharides and evaluation of its acetylcholinesterase inhibitory activity. *Food Res Int*, 2011, 44: 1269-1275.
- 31 Zhang ZF, *et al.* Effects of extraction methods on the antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Flammulina velutipes*. *Carbohydr Polym*, 2013, 98: 1524-1531.