

铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫、肠道微生物及酶活性的影响

龙承星^{1,2}, 贺璐¹, 郭艳芳¹, 刘又嘉¹, 于子真³, 任婷^{1*}, 谭周进^{1*}¹湖南中医药大学, 长沙 410208; ²湖南人文科技学院数学与金融学院, 娄底 417000; ³湖南省荣军医院, 长沙 410119

摘要:为了探讨铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫、肠道微生物及酶活性的影响,明确多糖对脾虚便秘的治疗作用,通过灌胃番泻叶水煎液 7 d 后控制饮食,饥饿失常 8 d,建立小鼠脾虚便秘模型。造模成功后,正常组和模型组灌胃等量无菌水,治疗组灌胃铁皮石斛多糖溶液,分析小鼠体重、脾脏系数、胸腺系数、肠道菌群和酶活性的变化情况。结果表明,模型组的小鼠体重、体重变化率、脾脏指数、胸腺指数、五类可培养微生物(细菌总数、大肠杆菌、乳酸菌、双歧杆菌和真菌)数量与正常组比较差异显著($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。治疗完成后,小鼠体重和体重变化率显著增高,高于正常组($P < 0.05$);小鼠脾脏指数和胸腺指数均有不同程度恢复,接近正常组($P > 0.05$);大肠杆菌大量得到恢复,但远没有达到正常组水平($P < 0.01$);乳酸菌和双歧杆菌明显地减少,但总数显著超过正常组($P < 0.01$);木聚糖酶和蛋白酶接近正常组,淀粉酶显著增加,纤维素酶显著减少($P < 0.01$)。说明铁皮石斛多糖对增强机体免疫力、调控肠道微生态平衡和肠道酶活性方面有一定的促进作用,能优化肠道环境,改善脾虚便秘症状。

关键词:铁皮石斛;多糖;脾虚便秘;肠道微生物;酶活性

中图分类号: R378

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.020

Effects of *Dendrobium candidum* Polysaccharide on Immunity, Intestinal Microbiota and Enzyme Activity in Mice with Spleen Deficiency Constipation

LONG Cheng-xing^{1,2}, HE Lu¹, GUO Yan-fang¹, LIU You-jia¹, YU Zi-zhen³, REN Ting^{1*}, TAN Zhou-jin^{1*}

¹Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ²College of Mathematics and Finance, Hunan University of Humanities Science and Technology, Loudi 417000, China;

³Rongjun Hospital of Hunan Province, Changsha 410119, China

Abstract: To explore the effects of *Dendrobium candidum* polysaccharide on immunization, intestinal microbes and enzyme activities in mice with spleen deficiency constipation, and clear the role of polysaccharide in the treatment of spleen deficiency constipation. The mouse spleen deficiency constipation model was established by giving senna water decoction for 7 days, and then restricting their diet to make them hunger satiety disordered for 8 days. After the success of modeling, normal group and model group mice were treated with sterilized water by intragastric administration, the treatment groups were fed with *D. candidum* polysaccharide solution. Several indicators were analyzed including body weight, spleen coefficient, thymus coefficient, intestinal flora and enzyme activity. The results showed that there were significant differences in body weight, changing rate of body weight, spleen index, thymus index and the quantities of five culturable microorganisms (bacteria, *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Fungi*) in the model group compared with these of normal group. After treatment, the body weight and changing rate of body weight increased significantly, higher than these of normal group; the spleen index and thymus index recovered to different degrees, closed to these of normal group; *Escherichia coli* recovered a lot, but far from the normal level; *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were significantly decreased, but the total number was significantly higher than the normal group; xylanase and protease were close to normal group, amylase was significantly increased, but cellulase significantly reduced. The results showed that *D. candidum* polysaccharides can promote body immunity, regulate the balance of intestinal microbiota and intestinal enzyme activity, optimize the intestinal environment and improve the symptoms of spleen constipation.

Key words: *Dendrobium candidum*; polysaccharides; spleen-deficiency constipation; intestinal enzyme activity

收稿日期: 2017-02-13 接受日期: 2017-03-30

基金项目: 湖南中医药大学研究生科研创新项目; 国家自然科学基金(81573951)

* 通信作者 E-mail: tanzhjin@sohu.com; hnu cm_rt@163.com

伴随着社会的高速发展,现代人的饮食结构、精

神状况、心理压力等严重地影响着人的健康。便秘作为一种常见的胃肠功能失调症,成为影响现代人健康和生活质量的又一重要因素,更是许多致命性疾病的诱导因素。现代研究表明,便秘的形成与肠道菌群失调有关^[1];与正常小鼠相比,脾虚便秘小鼠的肠道微生物和酶差异显著^[2]。铁皮石斛具有独特的药用价值,是滋阴补益的名贵草本植物,其化学成分复杂,对胃肠道等疾病有很好的疗效^[3]。多糖是铁皮石斛的主要成分,水溶性多糖含量高达22.7%,在很大程度上多糖的含量高低决定了铁皮石斛的质量好坏。铁皮石斛的来源、品种、生理年龄、采收时间和部位,均影响着多糖含量的差异^[4-7]。铁皮石斛多糖主要由葡萄糖、半乳糖、木糖、甘露糖、鼠李糖和葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等单糖组成^[8],具有抗肿瘤、抗氧化、增强机体免疫力等重要药理作用^[9],对超氧阴离子自由基和羟基自由基也有很好的清除效果。同时,石斛多糖通过对乳酸杆菌和双歧杆菌等有益菌的增殖作用,达到抑制大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽胞杆菌等菌的过度繁殖^[10]。非淀粉多糖虽不能被人类等大多数单胃动物所消化,但能被乳酸菌和双歧杆菌等有益菌作为营养物质所利用。这些多糖能促进有益细菌的增殖,产生短链脂肪酸,降低肠道pH值,抑制有害菌的生长^[11,12]。本研究旨在分析铁皮石斛在脾虚便秘疗效中,其主要成分多糖对肠道微生物及活性酶的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物

购于上海斯莱克斯实验动物有限公司的清洁型昆明小鼠[SCXK(湘)2013-0004]18只,体重为20±2g,雌、雄各半。

1.1.2 药物

取500g产自云南的番泻叶(购于湖南中医药大学附属第一医院),加沸水10倍量浸泡大约10min后过滤,将收集滤液放于75℃水浴中蒸发浓缩,制备成100%(1g/mL生药)的水煎液^[13]。4℃保存备用。

铁皮石斛多糖溶液的制备,铁皮石斛由湖南龙石山铁皮石斛基地有限公司提供,根据《中华人民共和国药典》2015年一部^[14]中介绍,按照成人9g/d铁皮石斛的临床等效用量进行换算,称取等效用量的铁皮石斛,并采用《中华人民共和国药典》2015

年一部^[14]记载的水提醇沉法提取铁皮石斛多糖,并加入适量的蒸馏水,配制成铁皮石斛多糖溶液,经硫酸-苯酚法定量^[15],其浓度为0.045g/mL。

1.1.3 培养基^[16]

细菌总数:牛肉膏蛋白胨培养基。大肠杆菌:EC肉汤固体培养基。乳酸菌:MRS琼脂培养基。双歧杆菌:BBL培养基。真菌:马丁孟加拉红-链霉素培养基。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组

在适宜的环境下(相对湿度50%~70%,室温23~25℃,清洁安静),将18只清洁型昆明小鼠适应性饲养2d后随机分成3组,即正常组(6只,以下简称A组)、模型组(6只,以下简称B组)、铁皮石斛多糖治疗组(6只,以下简称C组),雌、性各半。

1.2.2 造模方法^[17]

B、C两组小鼠连续灌胃7d番泻叶水煎液0.4mL/(只·次),2次/天,正常饮水喂食,造成脾虚模型;第8d起停用番泻叶水煎液,控制饮食,采用饥饿失常方法使脾虚状态延续,隔天喂4-8g低纤维饲料生大米,自由饮水1次,0.5h,连续8d;共15d,建立小鼠脾虚便秘模型,粪便变得稀湿软即造模成功。A组小鼠给予生理盐水0.4mL/(只·次)灌胃7d后,正常饮水喂食饲养8d。

1.2.3 治疗方法

造模完成后,C组小鼠灌胃已制备好的铁皮石斛多糖溶液0.25mL/(只·次),A、B两组小鼠都灌胃等量的无菌水,每天2次,连续7d。

1.2.4 对小鼠免疫器官胸腺、脾脏指数的影响

小鼠称重,取脾脏、胸腺,称重,并计算脏器指数,计算公式如下:

$$\text{脾指数}(\%) = \text{脾重量}(\text{g}) / \text{小鼠体重}(\text{g}) \times 100$$

$$\text{胸腺指数}(\%) = \text{胸腺重量}(\text{g}) / \text{小鼠体重}(\text{g}) \times 100$$

1.2.5 肠道内容物的提取

治疗完成后,将处死的小鼠放置于超净工作台上,无菌采集各组盲肠段内容物,将同组小鼠的肠道内容物进行无菌操作混匀^[17],备用。

1.2.6 小鼠肠道微生物的测定

无菌操作称取一定量的肠道内容物,按组别分别放入装有玻璃珠的无菌水瓶中,摇床120rpm振摇30min,等微生物充分分散后,选择合适的稀释度,采用混菌法计数(细菌和大肠菌群在37℃培养箱中培养24h后计数菌落,真菌在30℃培养箱中培

养 96 h 后计算菌落,乳酸菌和双歧杆菌在 37 °C 厌氧培养箱中培养 48 h 后计数菌落),每一个稀释度重复 3 次,求其平均值并计算每克肠道内容物所含的菌数^[17]。

1.2.7 小鼠肠道酶活性的测定

取肠道内容物,用无菌水稀释后,在 40 °C 水浴中保温 30 min,充分溶出酶蛋白,2000 rpm 离心 10 min 取上清液,分析纤维素酶、木聚糖酶、淀粉酶和蛋白酶的活性^[18]。采用 DNS 比色法测定纤维素酶活、淀粉酶活和木聚糖酶活,用福林-酚法测定蛋白酶活^[19]。纤维素酶活以 1 g 肠道内容物在 46 °C 作用 30 min 生成 1 μg 还原糖定义为一个酶活单位 U,淀粉酶活以 1 g 肠道内容物在 37 °C 作用 60 min 生成 1 μg 还原糖定义为一个酶活单位 U,木聚酶活以 1 g 肠道内容物在 46 °C 作用 60 min 生成 1 μg 还原糖定义为一个酶活单位 U,蛋白酶活以 1 g 肠道内容物在 37 °C 作用 40 min 生成 1 μg 还原糖定义为一

个酶活单位 U。

1.2.8 统计学分析

各分组所得计量数据采用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用 DPS v7.05 软件进行统计学分析,不同实验组之间的差异分析采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有极显著性统计学意义。

2 实验结果

2.1 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠体重的影响

从表 1 可见,造模完成后,模型组和铁皮石斛多糖组小鼠体重和体重变化率都显著小于正常组 ($P < 0.05$),且铁皮石斛多糖组比模型组的变化更小 ($P > 0.05$)。治疗完成后,小鼠的体重和体重变化率,模型组和铁皮石斛多糖组都显著高于正常组 ($P < 0.05$),且铁皮石斛多糖组的变化更大,高于模型组 ($P > 0.05$)。

表 1 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠体重的影响

Table 1 Effects of *D. candidum* polysaccharide on body weight in mice with spleen deficiency constipation

组别 Group	造模后 After modeling		治疗后 After treatment	
	体重变化 Weight change (g)	体重变化率 Weight change rate (%)	体重变化 Weight change (g)	体重变化率 Weight change rate (%)
A 组 A group	7.9475 ± 2.2887	22.9046 ± 4.9419	2.1725 ± 1.0077	5.9514 ± 2.5776
B 组 B group	2.5050 ± 3.2891 ^a	8.1972 ± 10.5433 ^a	4.4950 ± 1.4745 ^a	13.5032 ± 4.3354 ^a
C 组 C group	1.8450 ± 4.1257 ^a	5.4195 ± 14.4755 ^a	6.2025 ± 2.7555 ^a	18.4260 ± 7.8554 ^a

注:与 A 组相比,A: $P < 0.01$,a: $P < 0.05$;与 B 组相比,B: $P < 0.01$,b: $P < 0.05$ 。下同。

Note:Compare with A group,A: $P < 0.01$,a: $P < 0.05$;Compare with B group,B: $P < 0.01$,b: $P < 0.05$. Same as below.

2.2 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫器官的影响

表 2 中可以看出,造模后,小鼠的脾脏系数和胸腺系数都显著下降,低于正常组 ($P < 0.05$)。经铁

皮石斛多糖治疗后,小鼠的脾脏系数和胸腺系数均有不同程度的恢复,高于模型组,其中胸腺系数显著增大 ($P < 0.05$),但低于正常组 ($P > 0.05$)。

表 2 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫器官的影响

Table 2 Effects of *D. candidum* polysaccharide on immune organs in mice with spleen deficiency constipation

组别 Group	脾脏系数 Spleen coefficient (%)	胸腺系数 Thymus coefficient (%)
A 组 A group	0.4308 ± 0.0272	0.2044 ± 0.0249
B 组 B group	0.3598 ± 0.0512 ^a	0.1739 ± 0.0404 ^a
C 组 C group	0.3888 ± 0.0405	0.1773 ± 0.0542 ^b

2.3 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠肠道微生物的影响

造模后,模型组小鼠肠道内容物中的细菌总数和大肠杆菌菌落数极显著小于正常组 ($P < 0.01$),

真菌菌落数显著小于正常组 ($P < 0.05$);乳酸菌和双歧杆菌菌落数极显著大于正常组 ($P < 0.01$)。经铁皮石斛多糖治疗后,大肠杆菌和真菌菌落数极显著地得到恢复 ($P < 0.01$),但显著低于正常组 ($P <$

0.01),细菌总数也显著地得到提升($P < 0.05$),乳酸菌和双歧杆菌极显著低于模型组($P < 0.01$),但显著高于正常组($P < 0.01$)。与正常组相比,多糖

治疗组的细菌总数和大肠杆菌总数极显著减少,真菌、双歧杆菌和乳酸菌总数极显著增加。

表3 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠肠道微生物的影响

Table 3 Effects of *D. candidum* polysaccharide on intestinal microbiota in mice with spleen deficiency constipation

组别 Group	细菌 Bacteria (10^8 cfu/g)	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> (10^7 cfu/g)	乳酸菌 <i>Lactobacillus</i> (10^9 cfu/g)	双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i> (10^9 cfu/g)	真菌 <i>Fungi</i> (10^2 cfu/g)
A组 A group	4.3071 ± 0.4541	5.2809 ± 0.4494	2.1873 ± 0.0748	1.9850 ± 0.0789	2.3596 ± 0.4051
B组 B group	0.6463 ± 0.0679 ^A	0.7073 ± 0.0732 ^A	6.2602 ± 0.3726 ^A	6.6667 ± 0.7351 ^A	1.5447 ± 0.2539 ^A
C组 C group	0.7879 ± 0.0583 ^{AB}	3.9773 ± 0.4097 ^{AB}	4.0152 ± 0.3991 ^{AB}	4.8485 ± 0.3991 ^{AB}	3.6364 ± 0.3409 ^{AB}

2.4 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠肠道酶活的影响

由表4可知,造模后,纤维素酶和蛋白酶活性显著地低于正常组($P < 0.01$),木聚糖酶和淀粉酶活性显著高于正常组($P < 0.01$)。经铁皮石斛多糖治

疗后,纤维素酶和木聚糖酶显著低于模型组($P < 0.01$),淀粉酶和蛋白酶显著高于模型组,木聚糖酶和蛋白酶与正常组比较接近,无显著差异($P > 0.05$),纤维素酶和淀粉酶与正常组差异显著($P < 0.01$)。

表4 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠肠道酶活的影响

Table 4 Effects from *D. candidum* polysaccharide on enzyme activities in mice with spleen deficiency constipation

组别 Group	纤维素酶 Cellulase (U/g)	木聚糖酶 Xylanase (U/g)	淀粉酶 Amylase (U/g)	蛋白酶 Protease (U/g)
A组 A group	1.6259 ± 0.0371	0.4606 ± 0.0196	18.3183 ± 0.3355	0.0859 ± 0.0054
B组 B group	1.4815 ± 0.0250 ^A	0.5644 ± 0.0144 ^A	29.2074 ± 0.3552 ^A	0.0728 ± 0.0027 ^A
C组 C group	1.3915 ± 0.0301 ^{AB}	0.4599 ± 0.0083 ^B	39.4505 ± 0.2251 ^{AB}	0.0904 ± 0.0040 ^B

3 讨论与结论

3.1 铁皮石斛多糖增强机体免疫力,影响体重

多糖是通过苷键将酮糖或醛糖连接在一起的天然生物大分子多聚物,广泛存于动植物和微生物细胞内,具有抗肿瘤、激活免疫细胞和调节机体免疫功能的作用^[20,23]。其免疫调节作用主要通过激活网状内皮系统、巨噬细胞、T和B淋巴细胞以及血液补体蛋白等进行^[21]。其抗肿瘤功效是通过抑制肿瘤细胞增殖、诱导分化、清除自由基来达到^[22],还可以通过调节机体免疫功能而间接起到抗肿瘤的作用^[24]。在本研究中,造模使得小鼠体重和体重变化率显著降低,脾脏系数和胸腺系数显著下降。经多糖治疗后,小鼠的体重和体重变化率显著增高,小鼠胸腺系数和脾脏系数显著增高,说明铁皮石斛多糖能明显增强机体免疫力和影响体重。

3.2 铁皮石斛多糖调整肠道微生物结构,治疗便秘

便秘与益生菌相关,益生菌在肠道内产生有机酸降低肠道pH值,调节肠道肌肉活性来增强肠道

的蠕动能力,进而促进肠道的消化和吸收;另一方面,益生菌有效抑制有害菌的滋生,通过改善肠道环境达到通便的目的^[28]。乳酸菌能抑制肠内致病菌,增强细胞免疫功能,增强肠道内渗透压,显著增强肠道的蠕动和分泌,使大便变软,从而缓解便秘,并对肠道菌群的平衡有着良好的功效^[25,26]。同时,乳酸能降低肠道pH值,提高胃内食物消化,促进肠道蠕动而改善便秘。双歧杆菌也具有增强肠道蠕动力,润肠通便等功能^[27]。

在肠道微生物的影响中,造模使肠道微生态平衡遭到破坏,出现脾虚便秘,肠道内5类可培养微生物较正常组存在显著差异,这与赵兴兵等^[2]的报道相当。经石斛多糖治疗后,大肠杆菌总数大量地得到恢复,但远没有达到正常组的水平,这说明石斛多糖对大肠杆菌有一定的抑制作用;同时,石斛多糖的摄入使得乳酸菌和双歧杆菌数量明显减少,但总数显著超过正常组,说明石斛多糖对乳酸菌和双歧杆菌较正常组有明显的增殖作用,铁皮石斛多糖对脾虚便秘的疗效有一定的促进作用。

3.3 铁皮石斛多糖对肠道酶活性进行调节

存在于人体肠道中的大量微生物,在生长过程中会产生各种酶,这是肠道各种消化作用的主要完成者。在对肠道酶活性的研究中,造模使得纤维素酶和蛋白酶活性显著低于正常组,而木聚糖酶和淀粉酶活性显著高于正常组,这与赵兴兵等^[2]的报道存在差异。经石斛多糖治疗后,木聚糖酶和蛋白酶接近正常组,淀粉酶显著增加,纤维素酶显著减少,说明铁皮石斛多糖在一定的程度上能提高蛋白酶的活性,显著增加淀粉酶活性,对纤维素酶和木聚糖酶的活性有一定的抑制作用。因此,从纤维素酶和木聚糖酶的活性变化中,反映出了相应肠道微生物的变化;而淀粉酶和蛋白酶是肠道重要消化酶,其活性的增加,机体消化吸收能力必然大大增强,加上石斛多糖在一定程度上能扶植乳酸菌和双歧杆菌等有益菌,抑制大肠杆菌等有害菌,调控脾虚便秘小鼠肠道微生态平衡,优化肠道环境,改善脾虚便秘症状。

参考文献

- 1 Quigley EM. The enteric microbiota in the pathogenesis and management of constipation. *Best Practice Res Clin Gastroenterol*, 2011, 25:119-126.
- 2 Zhao XB(赵兴兵), Wu WJ(吴维佳), Li DD(李丹丹), et al. The effect of modeling spleen-deficiency constipation on the intestinal microbiota and enzyme activities in mice. *Chin J Microecol* (中国微生物学杂志), 2013, 25:993-996.
- 3 Wei XY(魏小勇). Progress in alkaloids from *Dendrobium* plants. *Chin Pharm Affai* (中国药事), 2005, 19:445-447.
- 4 Zhu Y(诸燕), Si JP(斯金平), Guo BL(郭宝林), et al. Quantitive variation of polysaccharides content in cultivated *Dendrobium candidum*. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2013, 3:427-430.
- 5 Li CX(李彩霞), Zhu JP(竹剑平). Comparison study of polysaccharides content in medicinal *Dendrobium* herb of different collection period. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2010, 30:1138-1139.
- 6 Hua YF(华允芬), Chen YL(陈云龙), Zhang M(张铭). Studies on comparison of polysaccharide between three kinds of *dendrobium*. *J Zhejiang Univ* (浙江大学学报), 2004, 38:249-252.
- 7 He TG(何铁光), Su J(苏江), Wang CQ(王灿琴), et al. A comparison of polysaccharide and amino acid contents of *Dendrobium candidum* with different resources. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), 2007, 38(1):32-34.
- 8 Zha XQ(查学强), Luo JP(罗建平), Luo SZ(罗水忠), et

- al. Structure identification of a new immunostimulating polysaccharide from the stems of *Dendrobium huoshanense*. *Carbohydr Polym*, 2007, 69:86-93.
- 9 Ng TB, Liu J, Wong JH, et al. Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine. *Appl Microbiol Biot*, 2012, 93:1795-1803.
- 10 Li L(李蕾), Ding CC(丁长春), Li FH(李付惠). Study on the antibacterial effects of two *Dendrobium* polysaccharides. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2011, 39:5753-5754.
- 11 Savory CJ. Enzyme supplementation degradation and metabolism of three U-14C-labelled cell-wall substrates in the fowl. *British J Nutr*, 1992, 67:91-102.
- 12 Marie FBC, Marie HC, Sylvie H, et al. Differentiation-associated antimicrobial functions in human colon adenocarcinoma cell lines. *Exp Cell Res*, 1996, 226:322-323.
- 13 Zou Y(邹颖), Zheng XB(郑学宝), Dai SX(戴世学), et al. Establishment of the model constipation due to spleen deficiency in mice. *Beijing J Trad Chin Med* (北京中医药), 2009, 28(1):60-62.
- 14 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (No. 1) (中华人民共和国药典,一部). Beijing:China Medical Science and Technology Press, 2015.
- 15 Guo XQ(郭晓强), Yan J(颜军), Wu XY(邬晓勇), et al. Study on purification and antioxidation of water-soluble polysaccharide isolated from *Semen Cassia*. *Food Sci* (食品科学), 2007, 8:205-208.
- 16 Shen P(沈萍), Chen XD(陈向东). Microbiology Experiment(微生物学实验). Beijing: Higher Education Press, 2008. 251-253.
- 17 Tan ZJ(谭周进), Zhang HL(张华玲), Zhou SN(周赛男), et al. Chang of intestinal microbes in dysbacteriosis-modeled mice treated with ultra-micro powder of qiweibaizhusan. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2013, 19:449-453.
- 18 Tan ZJ(谭周进), Wu H(吴海), Liu FL(刘富林), et al. Effect of ultra-micro powder qiweibaishusan on the intestinal microbiota and enzyme activities in mice. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2012, 32:6856-6863.
- 19 Zhu J(朱俭), Cao KM(曹凯鸣). Biochemical Experiments (生物化学实验). Shanghai:Shanghai Science and Technology Press, 1981.
- 20 Jiang XQ(蒋晓琴), Ding XM(丁晓明), Liu HY(刘海燕), et al. Effect of crude polysaccharides of *pholiota adiposa* on anti-tumor and immunity in bearing-tumor mice. *China Pharm* (中国药师) 2007, 10:119-121.