

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201607023

引文格式: 赵能, 原晓龙, 陈剑, 等. 牛樟芝发酵液提取物抗菌活性研究 [J]. 广西植物, 2017, 37(8):1068–1073

ZHAO N, YUAN XL, CHEN J, et al. Antibacterial activity of mycelial culture from *Antrodia cinnamomea* [J]. Guihaia, 2017, 37(8):1068–1073

牛樟芝发酵液提取物抗菌活性研究

赵能^{1,3}, 原晓龙^{1,2}, 陈剑^{1,2}, 陈中华^{1,2}, 王娟^{1,2}, 杨宇明^{1,2}, 王毅^{1,2*}

(1. 云南省林业科学院 云南省森林植物培育与开发利用重点实验室, 昆明 6502042; 2. 云南省林业科学院 国家林业局云南珍稀濒危森林植物保护和繁育重点实验室, 昆明 650204; 3. 西南林业大学, 昆明 650224)

摘要: 牛樟芝作为一种珍稀食用和药用菌, 具有极大的开发潜力。该研究以麦芽浸粉肉汤液体培养基(BD, 美国 BD 公司)对牛樟芝菌丝体进行摇床培养 60 d 后, 收获发酵液并用乙酸乙酯对其进行萃取, 浓缩至干获得提取物; 同时, 采用抑菌圈法评价培养物对 13 种致病细菌抗菌活性(蜡样芽孢杆菌、缓慢芽孢杆菌、无乳链球菌、短小芽孢杆菌、福氏志贺氏菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、藤黄微球菌、副溶血性弧菌、溶血性葡萄球菌、铜绿假单胞菌、乙型副伤寒沙门氏菌、大肠埃希菌), 并检测相应致病细菌的最低抑制浓度(MIC)。结果表明: 牛樟芝麦芽浸粉肉汤发酵液提取物对供试的 13 种致病菌均有抑菌活性; 在供试的 13 种致病菌中, 提取物对缓慢芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、副溶血性弧菌、藤黄微球菌 5 种致病菌的最低抑制浓度值均小于 $80 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其中对藤黄微球菌的最低抑制浓度最低为 $66.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 随着培养时间的增加, 提取物的抗菌活性也增加。这说明牛樟芝菌丝体在液体培养条件下, 能够产生广谱高效抑菌活性的次生代谢产物。该研究结果为牛樟芝进一步的有效利用开发奠定了理论基础。

关键词: 牛樟芝菌丝体, 珍稀食药菌, 抑菌圈法, 最低抑制浓度, 致病细菌

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2017)08-1068-06

Antibacterial activity of mycelial culture from *Antrodia cinnamomea*

ZHAO Neng^{1,3}, YUAN Xiao-Long^{1,2}, CHEN Jian^{1,2}, CHEN Zhong-Hua^{1,2},
WANG Juan^{1,2}, YANG Yu-Ming^{1,2}, WANG Yi^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Forest Plants Cultivation and Utilization, Yunnan Academy of Forestry, Kunming 650204, China; 2. Key Laboratory of Rare and Endangered Forest Plants of State Forestry Administration, Yunnan Academy of Forestry, Kunming 650204, China; 3. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650204, China)

Abstract: *Antrodia cinnamomea* is an rare edible and medicinal fungus that has great potential useful value. In this study, malt extract broth liquid medium were selected to culture the mycelium of *A. cinnamomea*. Mycelium of *A. cinnamomea* was cultured in liquid malt extract at $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ for 60 d, and the primary extract was obtained by extracting culture of

收稿日期: 2016-09-19 修回日期: 2016-10-27

基金项目: 云南省重点实验室开放基金(ZZCX2016-11); 云南省对外科技合作计划项目(2015IA004); 国家自然科学基金青年科学基金(31400488); 云南省面上基金(2016FB055) [Supported by Open Funds of Yunnan Province Key Laboratory (ZZCX2016-11); Foreign Science and Technology Cooperation Plan of Yunnan Province (2015IA004); the National Natural Science Foundation for Youth of China (31400488); General Program of Yunnan Province (2016FB055)]。

作者简介: 赵能(1991-), 男(苗族), 昆明人, 硕士研究生, 主要从事植物化学研究, (E-mail)247677981@qq.com。

通信作者: 王毅, 博士, 助理研究员, 研究方向为植物学和分子生物学, (E-mail)22825818@qq.com。

A. cinnamomea with ethyl acetate. Meanwhile inoculating inhibition zone was used to evaluate the antibacterial activity of primary extract and minimum inhibitory concentration (MIC) was determined. The result showed the primary extract of *A. cinnamomea* cultured in liquid malt extract broth had significant antibacterial activity against the thirteen kinds of pathogenic bacteria (*Bacillus cereus*, *B. lentus*, *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus pumilus*, *Shigella flexneri*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Straphylococcus haemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi* B, *Escherichia coli*). The MIC of five kinds of bacteria (*Bacillus lentus*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Micrococcus luteus*) were less than $80 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The least of MIC of *Antrodia cinnamomea* extractive against *Micrococcus luteus* could reach $66.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The influence of culture time to antibacterial activity was also detected. The results showed that the antibacterial activity of mycelial culture from *Antrodia cinnamomea* increased with the culture time in creasing. Mycelia of *A. cinnamomea* could be cultured in liquid medium and could produce effective components, this discovery provides information for development and utilization of *A. cinnamomea*.

Key words: mycelia of *Antrodia cinnamomea*, edible and medicinal fungi, inoculating inhibition zone, minimum inhibitory concentration, pathogenic bacteria

牛樟芝(*Antrodia cinnamomea*)是一种珍稀食药菌,又名樟芝、牛樟菇、樟生薄孔菌,属担子菌亚门、层菌纲、非褶菌目、多孔菌科、薄孔菌属(胡鸥等, 2006)。由于其寄生在牛樟树上,牛樟芝也因此而得名(Geethangili et al, 2011)。在台湾地区,牛樟芝常被用作醒酒与缓解疲劳,除此之外,牛樟芝还具有免疫调节、保护肝脏等作用,因此在台湾地区,牛樟芝被称作“森林红宝石”(陈体强等, 2003; 张毅红等, 2015; 赵能等, 2016)。近年来, Lin et al (2006)研究表明牛樟芝的药用价值要远远大于其食用价值,它不仅能够作为保健食品增强人的抵抗力,保护肝脏,同时还能治疗腹泻、腹痛、高血压等多种疾病,对抗癌也有一定作用。Chen et al (2003)前期研究发现,牛樟芝子实体内三萜类化合物含量高达 63%。Geethangili et al (2010)从牛樟芝中分离并鉴定出化合物 78 个,在这 78 个化合物中,有 39 个都为三萜类化合物。大多三萜类化合物具有抗炎抗癌作用(Peek et al, 2002)。民间用药主要是用牛樟芝的子实体,但由于牛樟芝生长缓慢且其寄主稀有,野生牛樟芝子实体无法满足目前对牛樟芝活性成分研究的需求。因此,牛樟芝野生子实体的市面价格每公斤为 15 000~25 000 美元 $\cdot \text{kg}^{-1}$ (Lu et al, 2014)。Du et al (2012)发现利用深层发酵的方法培养的牛樟芝中三萜含量是野生牛樟芝的 10~30 倍,这一发现为培养牛樟芝并获得有效成分提供了一种新思路。成熟牛樟芝具有子实体,虽然子实体是由菌丝体构成,但据研究发现其菌丝体与子实体的

活性成分作用各不相同(Lu et al, 2013)。在牛樟芝菌丝体中发现具有无毒副作用的抗癌物,安卓奎诺尔(Antroquinonol),这种有效的抗癌物质仅在菌丝体中被发现,而在子实体中没有检测到该物质(Der et al, 2006)。由于野生牛樟芝资源稀少,目前已有文献及专利探讨各种培养方式及培养配方。研究人员已经发展出浸入发酵(submerged fermentation)、固体支持物培养(solid support culture)、椴木培养(cutting wood culture)和培养皿培养(dish culture)四种主要培养方法。其中,椴木培养由于牛樟树资源也面临紧缺的问题,而目前还没找到能够替代牛樟树而不影响牛樟芝活性成分产生的其他樟科植物。相对于固体支持物培养和培养皿培养方法,发酵培养能够相对便捷地大规模培养。利用发酵的方式,通过改变培养基、培养条件及培养方式不仅有可能获得子实体加快菌丝体生长速度以及野生菌丝体所产生的活性化合物(Lu et al, 2013),同时还有可能获得新的活性及活性物质。因此,采用发酵培养的方法培养牛樟芝具有极大潜力。

牛樟芝作为一种可食用菌,其内含有大量的有效成分,这些有效成分具有抗癌、消炎等作用,但目前抗菌活性报道极少。Geethangili et al (2010)发现牛樟芝子实体提取物对引起胃炎的幽门螺杆菌具有抑制作用,之后 Lien et al (2013)又发现牛樟芝子实体提取物对口腔细菌也具有抑制作用。目前尚未有对牛樟芝发酵液提取物抗菌活性的报道。本研究采用摇床发酵方式培养牛樟芝菌丝,获得发酵

液提取物,并对提取物进行抗菌活性检测,该方法既能使牛樟芝菌丝快速生长,又能循环利用牛樟芝菌丝体,为有效利用牛樟芝菌丝体奠定了基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

菌丝体:牛樟芝斜面菌种由昆明食用菌研究所提供。菌种鉴定采取 ITS、 β -tubulin 基因片段, elongation factor 1 α 基因片段进行比对鉴定方法。具体方法是提取菌丝体 DNA 后,利用通用引物 PCR 扩增获得基因片段后进行双向测序,并将测序结果与 NCBI 已知牛樟芝序列进行比对最终确定所获菌种为牛樟芝。同时,通过菌丝和菌丝颜色观察进行验证,并将菌种命名为 AC001。

抗菌实验所用致病菌:蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*, BC)、缓慢芽孢杆菌(*B. lentus*, BL)、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*, SAG)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*, BP)、福氏志贺氏菌(*Shigella flexneri*, SF)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, BS)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SAU)、藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*, ML)、副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)、溶血性葡萄球菌(*Staphylococcus haemolyticus*, SH)、铜尿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)、乙型副伤寒沙门氏菌(*Salmonella paratyphi* B, SP)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*, EC)。由昆明市食品药品检验所赠送。

培养基:麦芽浸粉肉汤培养基(美国, BD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 牛樟芝菌种活化 配制 PDA 固体培养基,灭菌冷却后,在无菌条件下,钩取母种接于斜面培养基上,于 25℃ 恒温暗培养,待菌丝长满斜面后用于菌丝体的液体培养。

1.2.2 供试牛樟芝菌丝体培养 按照麦芽浸粉肉汤培养基(美国, BD 公司)的使用说明配制成 100 mL 液体培养基灭菌后备用。之后钩取 1 g 牛樟芝菌丝体接种于麦芽浸粉肉汤液体培养基中,置于 25℃, 转速为 150 r·min⁻¹ 摇床中培养 60 d。

1.2.3 提取物制备 培养物中具有抗菌活性的物质可能为带有羟基的酚类物质,将所得培养物过滤后,调整 pH 值为 2 有利于之后酚类物质的萃取

(Chiang et al, 2013)。按体积比 1:1 加入乙酸乙酯振荡混匀,30 min 超声 2 次,倒入分液漏斗静置过夜。放出水相,上层乙酸乙酯层用旋转蒸发仪浓缩致干,称重后,加入 1 mL 二甲基亚砜(DMSO)备用。

1.2.4 提取物活性检测 供试菌株悬浮液制备:将 13 种致病菌分别接种于固体肉汤培养基中,于 37℃, 恒温培养 24 h。用接种钩挑取已进行菌种斜面活化的培养基表面的菌块,加入无菌生理盐水,在组织研磨器中研磨均匀,并将菌悬液的浓度调节到 $1 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$ cfu·mL⁻¹。

抑菌试验:配制 Luria-Bertani 固体培养基,将灭菌后还未凝固的培养基倒入 20 mL 于培养皿中冷却、凝固,吸取 250 μ L 的相应供试菌悬液滴加到固体培养基上,用无菌棉拭子分别均匀涂布培养基表面,制成含菌平板,每个菌种重复 3 次(Fang et al, 2014)。采用纸片法(党悦方等, 2014; 王军等, 2013),将直径 5 mm 的滤纸圆片,经高压灭菌处理后干燥,分别滴加 10 μ L 供试液作为试验样片,滴加 DMSO 液作为阴性对照样片,用无菌镊子将试验样片和 1 片阴性对照样片贴放于每个培养皿表面,盖好培养皿,于 37℃ 培养 24 h。

最小抑菌活性(MIC)的测定:采用二倍稀释法(Lien et al, 2013; 赵敏等, 2011),测定相应具有活性提取物 MIC 值。

1.2.5 不同培养时间对抑菌活性影响的检测 分别配制 12 瓶 100 mL 麦芽浸粉肉汤液体培养基,每 3 瓶为一组,分别置于 25℃, 转速为 150 r·min⁻¹ 摇床中培养 20、40、50、60 d 后,将 pH 值按照 1.2.3 项下的方法调整为 2,再按体积比 1:1 加入乙酸乙酯振荡混匀,30 min 超声 2 次,倒入分液漏斗静置分层后,放出水相。然后再对水相连续萃取两次后,将 3 次萃取的乙酸乙酯层合并用旋转蒸发仪浓缩致干,加入 1 mL DMSO 溶解后供活性检测。

1.2.6 数据统计 将测定后的 1.2.1 至 1.2.5 中的抑菌圈直径及 MIC 值列入 Excel 中,绘制柱状表格。

2 结果与分析

2.1 备试液浓度

麦芽浸粉肉汤培养基发酵提取物经乙酸乙酯(100 mL)萃取干燥后,最终获得 22.6 mg 的干燥提

取物,用 1 mL DMSO 全部溶解。

2.2 麦芽浸粉肉汤发酵液提取物活性比较

将牛樟芝菌丝体接种到麦芽浸粉肉汤培养基中进行培养,用 13 种致病细菌进行抗菌活性筛选,其抗菌活性如图 1 所示。在 BD 培养基中生长的牛樟芝菌丝体发酵液初提物抗菌活性非常明显,且具有广谱抗菌活性,BD 发酵液提取物对福氏志贺氏菌抑制效果最佳,对大肠埃希菌抑制效果最弱,对其余致病菌抑制效果均较为接近。说明用麦芽浸粉肉汤培养基培养牛樟芝菌丝体能够使其产生抗菌活性物质。

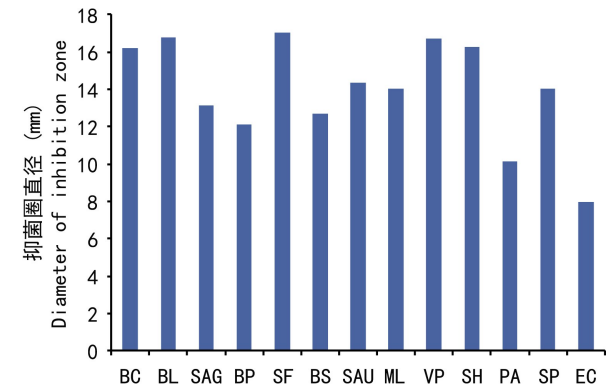


图 1 麦芽浸粉肉汤培养基发酵液提取物抗菌活性 BC. 蜡样芽孢杆菌;BL. 缓慢芽孢杆菌;SAG. 无乳链球菌;BP. 短小芽孢杆菌;SF. 福氏志贺氏菌;BS. 枯草芽孢杆菌;SAU. 金黄色葡萄球菌;ML. 藤黄微球菌;VP. 副溶血性弧菌;SH. 溶血性葡萄球菌;PA. 铜尿假单胞菌;SP. 乙型副伤寒沙门氏菌;EC. 大肠埃希菌。下同。

Fig. 1 Antibacterial activity of malt extract broth fermented liquid extractives BC. *Bacillus cereus*; BL. *B. lentus*; SAG. *Streptococcus agalactiae*; BP. *Bacillus pumilus*; SF. *Shigella flexneri*; BS. *Bacillus subtilis*; SAU. *Staphylococcus aureus*; ML. *Micrococcus luteus*; VP. *Vibrio parahaemolyticus*; SH. *Staphylococcus haemolyticus*; PA. *Pseudomonas aeruginosa*; SP. *Salmonella paratyphi* B; EC. *Escherichia coli*. The same below.

2.3 麦芽浸粉肉汤发酵液提取物 MIC

将 BD 培养基备试液用相应致病菌进行 MIC 值的测定,结果如图 1、2 所示。图 2:A 表示 MIC 值 > 1 mg · mL⁻¹ 的相应致病菌,图 2:B 表示 MIC 值 < 1 mg · mL⁻¹ 的相应致病菌。在 13 种致病细菌中, MIC 值超过 1 mg · mL⁻¹ 有 5 个,其余 8 个致病菌 MIC 值都小于 1 mg · mL⁻¹, MIC 值最大为金黄色葡萄球菌,说明金黄色葡萄球菌对 BD 培养基中牛樟芝菌丝体所得的提取物不敏感,ML 对应 MIC 值最

小,说明 BD 发酵液提取物对藤黄微球菌有较好的抑制效果。在 13 种致病细菌对应的 MIC 中,缓慢芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、藤黄微球菌、副溶血性弧菌对应的 MIC 值都在 80 μg · mL⁻¹ 以下,可以推断牛樟芝菌丝体在 BD 培养基中所得发酵液提取物对这 5 种致病菌具有较强抑制效果。

2.4 培养时间对抑菌活性的影响

根据 2.2 实验结果,在本研究的活性筛选中,只有 BD 培养基所得发酵液提取物具有活性。因此,选择 BD 液体培养基对牛樟芝菌丝体进行时间梯度培养。不同时间发酵液提取物抗菌活性如图 3 所示。从图 3 可以看出,牛樟芝菌丝体在 BD 液体培养基所得发酵液提取物在不同培养时间影响下,抑菌活性有明显差别,培养到 20 d 时,提取物几乎都不具备活性,仅对蜡样芽孢杆菌有微弱抑制活性。培养到 40 d 时,提取物已经可以对所有供试菌产生抑制活性,培养到 60 d 时,提取物对每种被试菌都有非常良好的抑菌活性。不同培养时间所得提取物对金黄色葡萄球菌、短小芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、乙型副伤寒沙门氏菌的抑制效果在 40 d 后都呈指数增长,对福氏志贺氏菌的抑制效果在 40 d 前基本呈梯度增长,40–50 d 后抑制活性却有所降低,对其余 8 种致病菌的抑制效果都呈现梯度增长。这说明 60 d 内,有抗菌效果的活性成分应逐渐增加,且在培养到 60 d 时,能够抑制最多致病菌。

3 讨论与结论

本研究用牛樟芝发酵液提取物对 13 种食品中常见致病细菌进行活性筛选,发现抗菌活性显著,同时发现培养时间对抗菌活性物质的产生影响非常显著,抗菌活性随着培养时间的增加而增加。本研究中,除了使用麦芽肉汤液体培养基培养牛樟芝菌丝体,同时还使用了另外 8 种培养基(马铃薯葡萄糖淀粉、马铃薯蔗糖培养基、酵母蛋白胨培养基、胰蛋白胨大豆肉汤、营养肉汤、沙氏葡萄糖液体培养基、乳糖蛋白胨培养基、酵母麦芽浸粉肉汤)对牛樟芝菌丝体进行了培养,但是最后只有在 BD 公司的麦芽浸粉肉汤发酵液提取物中检测到抑菌效果。由于 BD 液体培养基培养的牛樟芝菌丝体次级代谢产物具有广谱抗菌活性,在下一步研究中可以考虑

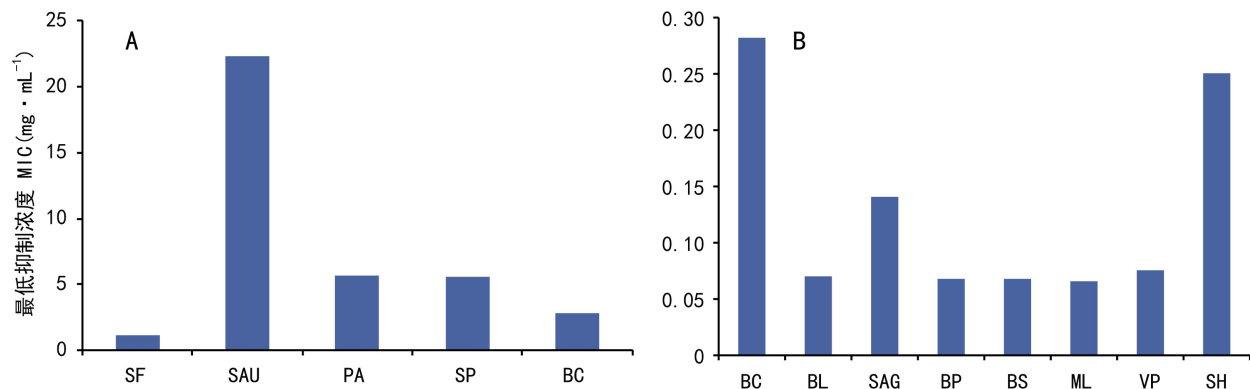


图2 BD 备试液 MIC 测定

Fig. 2 MIC of the test BD solution A. MIC > 1 mg · mL⁻¹; B. MIC < 1 mg · mL⁻¹.

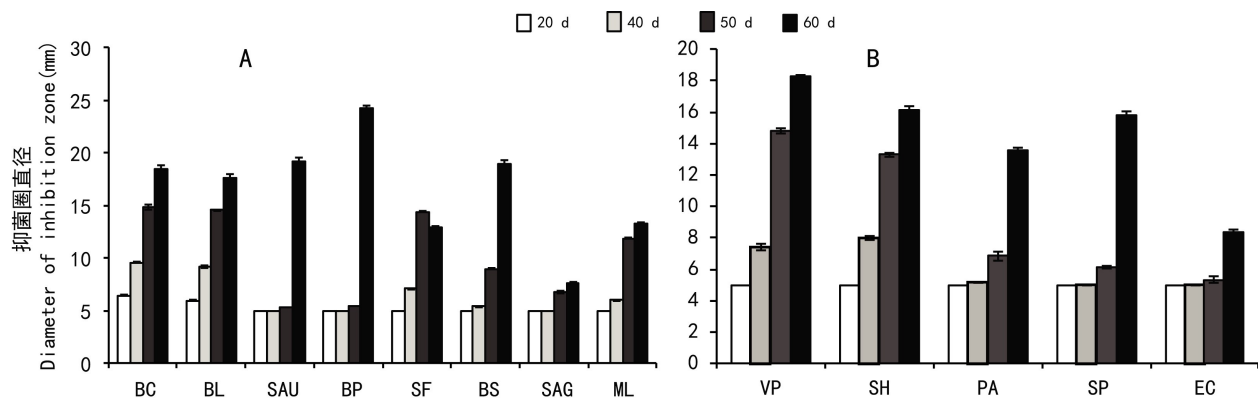


图3 不同时间 BD 提取物对 13 种致病细菌抑制活性 A. 8 种革兰氏阳性菌; B. 5 种革兰氏阴性菌。

Fig. 3 Inhibitory activity of BD extractive of the thirteen kinds of pathogenic bacteria

A. Eight kinds of Gram-negative bacteria; B. Five kinds of Gram-negative bacteria.

对其进行大量培养分离其中的有效抗菌物质单体。在 BD 次级代谢产物的 MIC 值测定中发现,在初提物的状态下,其 MIC 值能够达到 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,说明其中的抗菌物质含量较高。

牛樟芝菌丝体在不同液体培养基中活性差异显著,这种差别可能在于不同培养基沉默或者刺激了牛樟芝菌丝体内某些关键基因的表达,而这些基因的表达才能真正地促使牛樟芝菌丝体产生活性次级代谢产物。从时间对牛樟芝菌丝体培养物抑制活性上看,对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、铜绿假单胞菌、乙型副伤寒沙门氏菌的抑制效果在 40 d 后都呈指数增长,出现这种现象的原因可能在于

控制合成抗菌物质的基因在前 40 d 内没有表达,而在 40 d 后,培养基内的某些物质被分解代谢成为其他物质,这些被分解的物质正好作为基因表达的底物刺激了基因自身表达从而产生了相应的抑菌活性。9 种培养基中只有 BD 液体培养基培养的牛樟芝菌丝体次级代谢产物具有抗菌活性,而其余 8 种次级代谢产物都不具有活性,同样都是牛樟芝菌丝体,但是次级代谢产物差别非常大,这种差别可能就是由培养基的配方中某些成分的不同而使得基因表达状况不同所致而本文是首次报道牛樟芝发酵液提取物具有显著抗菌活性。

牛樟芝深层发酵后的次级代谢产物抗菌活性

至今还未见报道,加之牛樟芝由于生长速度缓慢,子实体难以培养(郭立忠等,2011),且其专性寄生的牛樟树作为台湾保护树种,使得直接利用成熟牛樟芝研究抗菌活性难度较大,但采用液体发酵的方式培养牛樟芝菌丝体不仅能够使菌丝体迅速生长,如果改变培养基成分、培养条件和添加酶抑制剂等干扰因素来刺激牛樟芝,还有可能激活不同的合成基因簇,从而获得骨架新颖,活性高的新化合物(Bode et al, 2002; Berdy, 2005)。因此,本研究既能使牛樟芝菌丝快速生长,又能循环利用牛樟芝菌丝体,为有效利用牛樟芝菌丝体奠定基础。

参考文献:

- BERDY J, 2005. Bioactive microbial metabolites [J]. J Antibiot, 58(1): 1-26.
- BODE HB, BETHE B, HÖFS R, et al, 2002. Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity [J]. Chem Biol Chem, 3(7): 619-627.
- CHEN SC, LU MK, CHENG JJ, et al, 2005. Antiangiogenic activities of polysaccharides isolated from medicinal fungi [J]. FEMS microbiol Lett, 249(2): 247-254.
- CHEN TQ, FANG ZW, 2003. Current status and advances in the research and development of *Antrodia camphorata* [J]. Acta Edul Fung, 10(4): 55-60. [陈体强, 方忠王, 2003. 珍稀药用菌樟芝研究现状与进展 [J]. 食用菌学报, 10(4): 55-60.]
- CHIANG YM, OAKLEY CE, AHUJA M, et al, 2013. An efficient system for heterologous expression of secondary metabolite genes in *Aspergillus nidulans* [J]. J Am Chem Soc, 135(20): 7720-7731.
- DANG YF, TIAN J, SHANG J, et al, 2014. The antimicrobial activity of four medicinal lichens from Taibai Mountain [J]. Nat Sci J NW Univ, 44(3): 433-438. [党悦方, 田娇, 尚娇, 等, 2014. 太白山 4 种药用地衣抑菌活性研究 [J]. 西北大学学报(自然科学版), 44(3): 433-438.]
- DER MA, BRIGGS M, 2006. Supplements and herbs [J]. Comp & Alter Med (1): 31-78.
- DU YC, WU TY, CHANG FR, et al, 2012. Chemical profiling of the cytotoxic triterpenoid-concentrating fraction and characterization of ergostane stereo-isomer ingredients from *Antrodia camphorata* [J]. J Pharm & Biom, 58(2): 182-192.
- FANG X, YANG B, CHENG Z, et al, 2014. Synthesis and antimicrobial activity of novel chalcone derivatives [J]. Res Chem Interm, 40(4): 1715-1725.
- GEETHANGILI M, FANG SH, LAI CH, et al, 2010. Inhibitory effect of *Antrodia camphorata* constituents on the *Helicobacter pylori*-associated gastric inflammation [J]. Food Chem, 119(1): 149-153.
- GEETHANGILI M, TZENG YM, 2011. Review of pharmacological effects of *Antrodia camphorata* and its bioactive compounds. [J]. Evid-Based Compl Alt, (1): 1-17.
- GUO LZ, JIA PP, GUO QL, et al, 2011. A method cultivation of *Antrodia cinnamomea* by using micro ventilation basswood, CN102047814A [P]. [郭立忠, 贾培培, 郭奇林, 等, 2011. 一种微通气椴木栽培樟芝的方法, CN102047814A [P]]
- HU O, ZHANG JY, LU X, 2006. A summary of development and utilization of *Antrodia camphorata* [J]. Fujian Sci & Technol Trop Crops, 31(4): 40-42. [胡鸥, 张君逸, 卢喜, 2006. 樟芝及其研究开发概况 [J]. 福建热作科技, 31(4): 40-42.]
- LIEN HM, TSENG CJ, HUANG CL, et al, 2013. Antimicrobial activity of *Antrodia camphorata* extracts against oral bacteria. [J]. PLoS ONE, 9(8): e105286-e105286.
- LIN JY, WU TZ, CHOU JC, 2006. *In vitro* induction of fruiting body in *Antrodia cinnamomea*-A medicinally important fungus [J]. Bot Stud, 47(3): 267-272.
- LU M YJ, FAN WL, WANG WF, et al, 2014. Genomic and transcriptomic analyses of the medicinal fungus *Antrodia cinnamomea* for its metabolite biosynthesis and sexual development [J]. Proceed Nat Acad Sci, 111(44): E4743-E4752.
- LU MC, EL-SHAZLY M, WU TY, et al, 2013. Recent research and development of *Antrodia cinnamomea* [J]. Pharm & Therap, 139(2): 124-156.
- PEEK RM, BLASER MJ, 2002. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas [J]. Nat Rev Canc, 2(1): 28-37.
- WANG J, YAN LK, LI HD, et al, 2013. Identification of *Archangium gephyra* NX0045 (Myxobacteria) and study on antimicrobial activities of its metabolite [J]. Nat Sci J NW Univ (Nat Sci Ed), 43(3): 437-441. [王军, 闫立昆, 李宏铎, 等, 2013. 一株黏细菌 *Archangium gephyra* 的鉴定及其代谢产物抑菌活性的研究 [J]. 西北大学学报(自然科学版), 43(3): 437-441.]
- ZHANG HY, ZHAO ZJ, XIE HT, et al, 2015. Anti-inflammatory effect of triterpenoids from *Antrodia camphorata* [J]. Chin J Path, 31(2): 369-373. [张毅红, 赵宗杰, 谢海涛, 等, 2015. 樟芝三萜类化合物的抗炎作用 [J]. 中国病理生理杂志, 31(2): 369-373.]
- ZHAO M, TAN GW, TANG XY, et al, 2011. Study on minimum bacteria-inhibiting concentrations of ten Chinese drugs extracts and antibiotics combination on *Pseudomonas aeruginosa in vitro* [J]. Med Sci J Hunan Norm Univ, 8(4): 80-83. [赵敏, 谭钢文, 唐小异, 等, 2011. 十种中药提取物与抗生素合用对铜绿假单胞菌最小抑菌浓度影响的体外实验 [J]. 湖南师范大学学报(医学版), 8(4): 80-83.]
- ZHAO N, YUAN XL, CHEN J, et al, 2016. Effect of different carbon sources and nitrogen sources on mycelia growth of *Antrodia cinnamomea* [J]. J West Chin For Sci, 45(4): 24-28. [赵能, 原晓龙, 陈剑, 等, 2016. 不同碳氮源对牛樟芝菌丝生长的影响 [J]. 西部林业科学, 45(4): 24-28.]