

2.4 抑菌作用: 荫风轮浸液在试管内对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌及痢疾杆菌有杀菌作用<sup>[14]</sup>。荫风轮醇提取物对肺炎双球菌(1:20)、大肠杆菌(1:10)均有抗菌作用<sup>[9]</sup>。

2.5 对<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线损伤的治疗作用: 用 800 和 600 rd 两个剂量照射小鼠后, 小鼠连续给药 5 d, 剂量均为 1.2 g/kg, 观察 30 d, 结果为 800 rd 组给药小鼠存活率为 20%, 对照组存活率为零; 600 rd 组小鼠存活率为 65%, 对照组为 35%, 给药组与对照组相比较, 均有显著差异<sup>[12]</sup>。

2.6 收缩子宫: 荫风轮水提液、2%粗皂苷水溶液及浸膏片剂样品液对动情期离体大鼠子宫有明显的收缩作用。粗皂苷作用尤为显著。

2.7 急性毒性: 27%风轮菜及荫风轮醇提取物的灭菌水溶液滴入兔眼 0.1 mL, 给药后观察 1~4 h, 结果未见结膜红肿、充血现象, 但有轻度流泪, 1 h 后恢复正常; 兔耳壳 sc 上述灭菌液 0.1 mL, 注射后兔耳均有轻度红斑出现, 继而面积缩小, 并逐渐消失, 无坏死现象; 小鼠 ig 两者醇提取物配制成的 50%水溶液 0.04 mL/g, 观察 72 h, 均无死亡, 亦无明显异常表现<sup>[9]</sup>。小鼠 ig 荫风轮浸膏, LD<sub>50</sub>为(14.6±2.4) g/kg<sup>[12]</sup>。

### 3 临床应用<sup>[14]</sup>

3.1 治疗各种出血症: 应用荫风轮粉剂、丸剂、胶囊剂、片剂及注射剂治疗各科出血 277 例, 结果显效(完全止血)239 例, 有效(出血量明显减少)23 例, 无效 15 例, 有效率为 94.6%, 其中以妇产科、外科及泌尿科止血疗效最佳, 对内科及五官科的疗效较满意。本品对月经过多、功能性子宫出血、宫外孕和血小板减少性紫癜, 除有止血作用外, 还有病因治疗作用。如月经过多及功能性子宫出血病例, 经治疗后月经周期、量及色均基本恢复正常, 宫外孕患者用药后不久止血效果满意, 而且可以促血液吸收, 使腹部剧痛和包块消失, 从而未经手术即可获得痊愈。

3.2 治疗白喉: 鲜荫风轮草汁每次服用 5~40 mL, 每隔 1~4 h 1 次, 配合青霉素治疗白喉 35 例, 结果 20 例痊愈, 10 例好转, 4 例因病情较严重, 气管阻塞死亡。

3.3 不良反应: 少数患者有轻度腹泻现象, 但减量或停药后

即愈, 无其他不良反应。

### 4 结语

断血流中含有黄酮、皂苷等多种活性成分, 能有效治疗各种出血症, 尤其适合妇科出血的止血治疗, 其作用与其促血小板黏附聚集、血管收缩、加强子宫收缩力等作用有关。但目前断血流的成分研究不充分, 其药理作用机制不明确, 还有待进一步深入研究。

### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol. 1 2005.
- [2] Dai J R, Shi D W, Zhang H C. Isolation and identification of didymin and hesperidin from *Clinopodium chinense* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1983, 14(5): 1.
- [3] Kong D Y, Dai J R, Shi D W. Study on chemical constituents of *Clinopodium chinense* (II) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1985, 16(11): 38.
- [4] He Y, Jiang Y, Luo S Q. Study on chemical constituents of *Clinopodium chinense* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(1): 10.
- [5] Xue S R, Liu J Q, Wang G. Triterpenoid saponins from *Clinopodium polyccephalum* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(3): 1049.
- [6] Liu J Q, Cui J. Study on chemical constituents of volatile oil from *Clinopodium polyccephalum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(10): 732.
- [7] Chen J Y, Chen J M. Study on chemical constituents of *Clinopodium polyccephalum* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1997, 9(3): 6.
- [8] Liu Q Y, Lu M, Peng D Y. Study on effect of *Clinopodium polyccephalum* and *C. chinense* extraction to vascular [J]. *J Anhui Tradit Chin Med Coll* (安徽中医学院学报), 1985, 4(4): 46.
- [9] Liu Q Y. Comparison study on hemostatic effect of four plants from *Clinopodium* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1991, 24(5): 40.
- [10] Han C H, Zhou X L, Ye S S. Pharmacological effect of Duanxueliu Oral Liquid [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1998, 14(3): 27.
- [11] Liu Q Y, Peng D Y, Lu M, et al. Study on mechanism of effect of total saponins in *Clinopodium chinense* and *C. polyccephalum* on platelet function [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1988, 4(3): 175.
- [12] Li G X. Hemostatic and anti-inflammatory effect of *Clinopodium polyccephalum* [J]. *J Biol* (生物学杂志), 1989(3): 138.
- [13] Li G X. Inhibitive effect of total saponins of *C. polyccephalum* on immune function [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993, 24(3): 138.
- [14] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1988.

## 虫草多糖的研究进展

王菊凤<sup>1,2</sup>, 杨道德<sup>1</sup>, 李鹤鸣<sup>3\*</sup>, 韩文军<sup>4</sup>

- (1. 中南林业科技大学野生动植物保护研究所, 湖南 长沙 410004; 2. 吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000; 3. 吉首大学 天然药物研究中心, 湖南 吉首 416000; 4. 中南林业科技大学生命科学与技术学院, 湖南 长沙 410004)

目前世界上已发现虫草属真菌 350 多种, 其中我国记录有 70 余种<sup>[1,2]</sup>。野生的冬虫夏草主要产于四川、西藏、云南、青海等海拔 3 000 m 以上的寒冷地带, 由于其生长条件的限

制及过度采挖, 产量很低, 所以价格昂贵。

近年来, 随着人们逐渐发现和认识虫草的滋补疗效和提高人体免疫功能, 虫草的开发利用备受世人的极大关注, 对

虫草的研究取得了迅猛的进展。目前,已弄清一些虫草能以有性阶段和无性阶段两种方式存在,并已搞清了冬虫夏草的部分无性阶段。深层发酵技术问世以后,人工虫草菌丝产量问题得到解决。另外,对部分虫草的生物学特性、化学成分及生理活性物质、药理作用、人工培养等方面也做了大量的工作,特别还在无性型的鉴定、药化药理和工业深层发酵培养等取得了关键性的突破。此外,对虫草多糖也开展了许多研究。本文对虫草多糖的化学组成、理化性质和生物活性等进行了系统的综述。

## 1 单糖成分、物质的量比和虫草多糖的相对分子质量

虫草多糖是一类高分子复合物,它作为虫草的主要活性成分之一,是虫草中量最高的药理活性物质。它的抗癌活性和免疫活性引起人们的极大兴趣。从1977年开始,日本和中国的科技工作者开始开展对虫草多糖的研究工作,目前已经对天然冬虫夏草以及人工培育的虫草真菌中分别分离纯化出了多种多糖组分,并对其理化性质和药理活性进行了详细研究。日本从天然冬虫夏草中分离纯化出了2种多糖组分CS-I和CT-4N。CS-I为一种水溶性、高度分支的半乳糖聚糖,主链为 $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)糖苷键连接的D-呋喃甘露聚糖,支链含(1 $\rightarrow$ 3)、(1 $\rightarrow$ 5)和(1 $\rightarrow$ 6)糖苷键连接的D-吡喃半乳糖基以及(1 $\rightarrow$ 4)链连接的D-呋喃半乳糖基,非还原性末端均为D-呋喃半乳糖和D-吡喃甘露糖。CT-4N为含少量蛋白的高度分支半乳糖聚糖。中国药科大学则对河北保定制药厂生产的虫草菌丝体中的虫草多糖进行研究,纯化出的多糖成分为CHWP,相对分子质量测定结果为32 000,其单糖组成比较复杂,为含有6种单糖的杂多糖<sup>[3]</sup>。Miyazaki研究虫草多糖得到2种成分,CS-1和CS-2。其中,D-半乳糖:D-甘露糖=1:1。袁建国等对蝙蝠蛾被毛孢霉发酵的发酵液进行了研究,其虫草多糖含有葡萄糖、半乳糖、甘露糖,比例为5.04%、22.13%、48.65%,物质的量比0.1:1:0.47。沈敏等报道,用凝胶过滤法测出冬虫夏草多糖相对分子质量为43 000,单糖甘露糖-半乳糖-葡萄糖组成的物质的量比为10.3:3.6:1。苏普等从冬虫夏草中分离出2种多糖:一种相对分子质量约为23 000,由D-甘露糖和D-半乳糖组成,物质的量比为3:5;另一种相对分子质量约为43 000,单糖组成为甘露糖、半乳糖、葡萄糖等,比例为10.3:3.3:1。袁建国等<sup>[5]</sup>用乙醇分级分离得到7个组分的冬虫夏草多糖,相对分子质量为55.6万组分的多糖,含甘露糖、半乳糖,物质的量比为1:1;相对分子质量为35万的多糖,含甘露糖、半乳糖、葡萄糖,物质的量为1:0.65:0.3;相对分子质量为6万的多糖,含甘露糖、半乳糖,物质的量为1:0.73;相对分子质量太小未能测出。盖新杰等通过研究蛹虫草菌体培养液,发现培养液中物质的量半乳糖:甘露糖比为6:5。Sasaki等证实,来自真菌多糖(葡聚糖)的抗肿瘤活性与相对分子质量大小有关,只有大于16 000时,才具有抗肿瘤活性。真菌多糖的抗肿瘤活性主要在于刺激免疫活性。在对冬虫夏草多糖研究中也说明,一定的相对分子质量对刺激免疫活性是必要的。

## 2 虫草多糖的理化性质和分子结构

虫草粗多糖水溶液经理化性能分析结果表明<sup>[6]</sup>,其具有良好的增稠性、触变性、抗盐性、耐热和对广泛pH值的稳定性能。多糖溶液的黏度随浓度的增大而显著增大,在pH 4~14内,虫草多糖黏度变化较小。总之,虫草多糖具有量效关系明确,无色、无味、水溶性好、稳定性好等特性。

蔡林涛等<sup>[7]</sup>通过采用原子力显微镜的轻敲模式,观察从虫草中提取出来的多糖分子的形貌结构,获得了清晰、稳定的图像。虫草多糖的原子力显微镜照片显示,多糖大分子链呈现出多分枝的结构。聚合物链分子间互相缠绕,链间通过糖单元间不同的连接方式衍生出许多大大小小的环,大小在50~240 nm内,从而直接证实了多糖大分子具有高度分枝的化学结构。单链的厚度为1.8 nm,长度有几个微米,宽度为20~40 nm。多糖分子的高分辨图像表明,分子内的缠绕及其螺圈结构,螺圈直径为10 nm,线宽为4 nm,螺圈相互连接成链。

## 3 外界条件对虫草多糖的影响

3.1 不同接种方式对多糖的影响:对于同一发酵用培养基,采用不同的接种物接种后,在相同环境下,培养至发酵液清亮,结果发现,采用发酵菌球接种,不仅培养时间缩短,而且发酵效果最佳。发酵菌球接种,在单位时间内形成的多糖是斜面试种的2.8倍,是表面菌膜接种的1.9倍<sup>[8]</sup>。

3.2 蛹虫草胞外多糖发酵的最佳发酵工艺参数:李信等<sup>[9]</sup>通过发酵条件和发酵验证实验,确定了蛹虫草胞外多糖发酵的最佳发酵工艺参数:发酵初始pH 7.0,500 mL三角瓶中发酵培养基装液量100 mL,接种量6%,发酵温度28℃。与初始发酵工艺条件相比,此发酵工艺胞外多糖产量提高了68.75%,发酵周期缩短到96 h。

3.3 多糖提取的最佳条件:于溢等<sup>[9]</sup>通过研究,认为乙醇加量对蛹虫草胞外粗多糖提取率的影响要远大于沉淀时间的影响,且两者的交互作用较小。随着乙醇加量的增加,蛹虫草胞外粗多糖提取率呈非线性增加;当沉淀时间为10 h时蛹虫草粗多糖提取率达到最大。余晓斌等<sup>[10]</sup>通过实验,发现在虫草多糖的醇沉过程中,乙醇添加量对多糖析沉的影响也是最大,其次是pH值,且当pH值为7.65时,沉淀量最大,这可能是虫草多糖分子带电荷有关,所以可以通过调整乙醇添加量、沉淀时间及pH值使虫草多糖的沉淀达到最佳化。袁建国等采用正交试验测定了温度、盐浓度、加水量、提取时间4个因素对冬虫夏草多糖提取的影响,确定了冬虫夏草多糖的提取工艺。温度以100℃,加水17倍,盐浓度为0,时间为7 h最佳,一次性提取时提取率最大近67%。

## 4 虫草多糖的药理作用

4.1 提高免疫功能:虫草多糖是一种非特异性的免疫促进剂。北京大学分离纯化细胞外多糖Cs-81002并进行免疫活性试验,结果表明,Cs-81002可使正常小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬率、吞噬指数明显增加,显示对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能有促进作用,可使小鼠质量增加,但是对正常小鼠LACA的脾脏溶血斑形成细胞数并无明显影响。对Cs-81002进行酸水解,得到不

同的部分酸水解产物 CS-a、CS-b、CS-c、CS-d 和 CS-e, 相对分子质量分别为 41 000、40 000、32 000、16 000、12 000, 5 种产物的免疫实验结果表明, 前 4 种对腹腔巨噬细胞吞噬功能有明显促进作用, 而 CS-e 则无明显的促进作用。另外, 臧其中、靖大道等<sup>[11,12]</sup>对虫草多糖药理作用的研究表明, 冬虫夏草多糖也具有免疫调节功能。昌鸣先等<sup>[13]</sup>的研究结果表明, 虫草多糖可以明显地增强日本沼虾血细胞的吞噬活性。在研究  $\beta$ -1,3 葡聚糖对甲壳动物血细胞的激活作用时, 发现甲壳动物中的酚氧化酶原系统在其细胞防御中起着类似调理素的作用, 可促进血细胞的吞噬作用、团囊作用和结节形成; 而一些生物活性多糖, 如葡聚糖, 可以通过特异地激活酚氧化酶原系统, 从而增强血细胞的吞噬功能, 这种作用在昆虫中亦得到证实。在冬虫夏草和虫草菌丝的药理学研究时, 证明虫草制剂对体细胞的免疫功能具有明显的增强作用<sup>[14]</sup>。

4.2 抗肿瘤作用: 冬虫夏草对自然杀伤细胞的活性具有明显的增强作用<sup>[15]</sup>。大团囊虫草: *Cordyceps olivaceovirescens* Henn. 的水不溶性葡聚糖能强烈地抑制试验动物肉瘤 S<sub>180</sub> 生长<sup>[16]</sup>, 可作为抗肿瘤的药源。冬虫夏草多糖, 其抗肿瘤活性与相对分子质量有关, 相对分子质量大于  $1.6 \times 10^4$  时, 才具有抗肿瘤活性<sup>[6]</sup>。多糖的抗肿瘤活性除了跟相对分子质量有关外, 还与多糖的溶解度、黏度、初级结构和高级结构有关。另有报道表明虫草多糖能增加胸腺的质量<sup>[5]</sup>, 这一发现对于冬虫夏草用于治疗肿瘤有着极高的学术价值和应用价值。

4.3 抗衰老作用: 李连德等<sup>[17]</sup>采用从虫草深层发酵产物中提取的多糖进行果蝇抗衰老试验, 结果表明, 不同来源的虫草多糖对果蝇寿命均有不同程度的延长作用, 从而证明虫草多糖有延缓衰老的作用; 有的效果还十分显著, 来源于地顶孢霉 AT01 的胞内、胞外多糖效果最好, 并且延寿的效果随纯度的增大而提高。

4.4 降血糖: 对正常小鼠、四氧嘧啶糖尿病模型小鼠和链脲佐菌素糖尿病模型小鼠均有显著的降血糖作用, 呈现一定的量效关系。

4.5 抗放射作用: 冬虫夏草多糖能选择性地增加脾脏血流量, 药理实验表明, 冬虫夏草多糖能使脾脏明显增重, 脾中浆细胞明显增多, 对放射性损伤小鼠有明显的保护作用, 使动物成活率增加; 可对抗化疗药引起的骨髓抑制等不良反应。

4.6 保护肾脏的作用: 虫草多糖对庆大霉素所致小鼠急性肾损伤具有显著的保护作用, 可使尿蛋白、血清肌酐、尿素氮和肾指数显著下降。

4.7 其他作用: 虫草多糖还具有抗病毒、降血脂<sup>[18]</sup>、抗动脉粥样硬化、保肝、耐缺氧、镇静等作用。

## 5 结语

对虫草多糖开展的研究, 虽然在所用虫草菌丝体原料上存在着差异, 以及分离纯化的多糖产品各不相同, 但都从不同角度肯定了虫草多糖的免疫调节及抑制肿瘤等功能<sup>[19]</sup>。虫草多糖被认为是当前世界上非常好的免疫促进剂之一。因此, 虫草多糖用于保健食品和医药产品有着广泛的前景。随着现代生物技术的飞速发展, 人工发酵培养成为获取虫草多

糖的另一条新的途径, 虫草多糖将为人类的健康长寿发挥出重要作用。

## References:

- [1] Shao L P. *Systematics Fungus* (真菌分类学) [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1984.
- [2] Li Z Z, Huang B, Li C R, et al. The evidences of molecular biology of the asexual type of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. I. Relationship of *Hirsutella sinensis* and *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. [J]. *Acta Mycol Sin* (真菌学报), 2000, 19(1): 60-64.
- [3] Ji H, Tu H H, Li L S, et al. Isolation, extract and hypoglycemic effect of polysaccharides from cultured mycelium of *Cordyceps sinensis* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1993, 24(1): 39-42.
- [4] Yuan J G, Cheng X H, Hou Y Q, et al. The evaluation of *Cordyceps polysaccharide* [J]. *Edib Fungi* (食用菌), 1999, 18(3): 42-46.
- [5] Yuan J G, Cheng X H, Hou Y Q, et al. Study on *Cordyceps polysaccharide* as a functional factor [J]. *China Food Addit* (中国食品添加剂), 1999, 2: 18-22.
- [6] Li X, Xu L. Studies on exopolysaccharide fermentation by *Cordyceps militaris* and on its physical and chemical properties and antioxidation [J]. *J Microbiol* (微生物学杂志), 1997, 17(3): 13-17.
- [7] Cai L T, Li P, Lu Z H. Observation of the structure morphology of *Cordyceps polysaccharide* by atomic force microscope [J]. *J Chin Elect Micros Soc* (电子显微学报), 1999, 18(1): 103-105.
- [8] Li X, Xu L. Optimization of fermentation process for exopolysaccharides (EPS) production by *Cordyceps militaris* [J]. *Eng Chem Metall* (化工冶金), 1998, 19(3): 254-259.
- [9] Yu Y, An J Y, Ma J X. Isolation and purification of exopolysaccharides in *Cordyceps militaris* [J]. *J Dalian Inst Light Ind* (大连轻工业学院学报), 2000, 19(4): 268-270.
- [10] Yu X B, Luo C C, Nao J. Purification of isolation technology of *Cordyceps polysaccharide* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(12): 1086-1087.
- [11] Zhang Q Z. The pharmacology functions of *Cordyceps polysaccharide* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1985, 16(7): 18-22.
- [12] Jin D D, Qiu D K, Xiao S D, et al. Effects of *Cordyceps polysaccharides* on the production of IL-2 and IFN- $\gamma$  and the expression of IL-2R in human peripheral blood lymphocytes [J]. *J Shanghai Immuno* (上海免疫学杂志), 1995, 15(6): 321-323.
- [13] Chang M X, Chen X X, Wu Z X, et al. The effect of *Cordyceps polysaccharide* on macrobrachium nipponense immune function [J]. *J Huazhong Agric Univ* (华中农业大学学报), 2001, 20(3): 275-278.
- [14] Sun Y H. Studies on pharmacology of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. and *Cordyceps mycelium* [J]. *J Pharmacol* (药理学), 1990 (1): 179-191.
- [15] Jiao Y C, Liang Z Q, Liu A Y. Studies on the asexual type of *Cordyceps sinensis* Dai [J]. *J Guizhou Agric Inst* (贵州农学院丛刊), 1994, 26: 57-62.
- [16] Du D J, Zhen Q T. Studies on anti-tumor function of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. and cultured *Cordyceps mycelium* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1986, 11 (7): 51-54.
- [17] Li L D, Fan M Z, Li Z Z. Effects of 14 kinds *Cordyceps polysaccharides* on life of adult fruit fly [J]. *J Microbiol* (微生物学通报), 2000, 27(6): 427-428.
- [18] Chen G B, Luo M C, Liu S J. Study on pharmacology function of *Cordyceps militaris* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(7): 415-417.
- [19] Liu L, An J Y, Jin F X. Method of protein removal in *Cordyceps polysaccharide* [J]. *J Dalian Inst Light Ind* (大连轻工业学院学报), 2002, 21(1): 33-37.