

关于虫草的研究

湖南省微生物研究所 李廷宝 肖志明 陈华荣
刘奇琰 许志强 姚忻蓉

摘要 虫草是虫草属真菌感染寄主昆虫的虫菌复合体,种类在100种以上,我国特有的冬虫夏草是其中的一个种。本文简要叙述了虫草的种类、分布及其生物学,并叙述了冬虫夏草的功能、药理药化和从虫草属中其它种新发现的某些化学物质的作用机理。为了寻找药用冬虫夏草的代用品,对亚香棒虫草和虫草菌的人工培养方面的进展也作了介绍。

虫草是虫草属(*Cordyceps* (Fr.) Link) 真菌感染寄主昆虫使其僵化,在适宜条件下感菌僵虫上长出子座,从而形成具有虫(僵虫)草(真菌子座)复合这一特定形态的子实体结构。由于虫草菌的种基本上以其有性世代的形态特征、寄主昆虫或人名而取名,所以虫草属真菌的种名就是各种虫草的名称。我国特有的冬虫夏草[*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.]具有很高的药用价值,是虫草属的一个种。鉴于此,本文提及的“冬虫夏草”专指我国特有的作为药用的这个种,而提及“虫草”则广义地指整个虫草属。

一、虫草属真菌(虫草)的种类、寄主昆虫及其分布

虫草菌这一类群真菌,属真菌门(Eumycophyta)子囊菌纲(Ascomycetes)肉座目(Hypocreales)或麦角菌目(Clavicipitales)麦角菌科(Clavicipitaceae)虫草属(*Cordyceps* (Er.) Link)。虫草菌作为一属真菌寄生在各种不同的昆虫上形成各种虫草,虽然不尽都能入药,但种类却是极多的。自法国Vaillant 1929年以珊瑚菌属(*Clavaria*)各种的名称如 *Clavaria militaris*, *Clavaria ophioglossoides* 作为虫草的具体种名发表以来,已有250多年的历史了,而今虫草属已独立于珊瑚属外成为专门的一属。虫草菌大部分寄生在昆虫上,也有少数寄生在土壤中的大团囊菌子实体上。宇田俊川一等^[1]认为已知的虫草菌约为200种,但小林义雄^[2](1977)报道,至目前为止已发表的虫草菌有298种,加上变种达316种。其中二次大战后的30年新增加的有65种,其它近缘属和作为不完全型发表的有数十种。

在我国,比较系统报道的虫草菌有20多种。邓叔群^[3]记述过24个种,其中分枝虫草菌(*C. ramosa* Teng)、多枝虫草菌(*C. arbuscula* Teng)、蝉虫草菌(*C. cicadicola* Teng)、蛭螭虫草菌(*C. geotrupis* Teng)和蟋蟀虫草菌(*C. grylli* Teng)等五个是新种。魏景超^[4]又增述了2个种:橄榄虫草菌(*C. olivacea* Rick)和橙红座虫草菌(*C. submilitaris* Henn.)。

目前,关于虫草属真菌种的报道,对其无性世代的特征作具体表述的极少,这方面的研究还处于初始阶段。川田俊一等认为,虫草属真菌无性世代的分生孢子梗及分生孢子的构造类似拟青霉属(*Paecilomyces*)或头孢霉属(*Cephalosporium*)类型。也有人认为,虫草属真菌无性世代基本上属拟青霉类型,头孢霉类型只是曾经推测过的一种可能性。

关于虫草的寄主昆虫多种多样,除鳞翅目外,还涉及鞘翅目、膜翅目、半翅目、双翅目、白蚁目、同翅目、直翅目的幼虫、蛹或成虫。我国冬虫夏草的寄主昆虫曾一度被误认为是尺蠖,1965年经朱弘复^[5]鉴定,其寄主昆虫为虫草蝙蝠蛾(*Hepialus armoricanus* Oberthür)。同时他也指出:冬虫夏草的昆虫寄主非止一种。

虫草广泛分布于世界各国。近年来,日本、法国、美国、墨西哥、加拿大、新西兰、加纳、苏联、荷兰、肯尼亚、澳大利亚、坦桑尼亚、挪威、意大利以及我国台湾省都报道了该地区新发现的虫草或进行这方面研究的情况^[6~9]。我国的冬虫夏草主产四川、西藏、青海、云南等地,而虫草属的其它种除分布上述地区外,分别分布在贵州、江苏、广东、河北、广西、福建、浙江、陕西、安徽、河南、江西、吉林、甘肃等省。

二、冬虫夏草的生物学

20多年来,我国对冬虫夏草的生物学方面进行了考察研究。综合陈泰鲁^[10]、周兴民^[11]、沈南英^[12]等人在这方面的研究结果来看,冬虫夏草生长在海拔3500~5000米的山地阴坡、半阴坡的灌木丛和草甸之中,地表年平均温度为4.4~9℃。土壤肥沃疏松,土层深厚,土壤湿度在40~60%最适合冬虫夏草生长,坡度15~30度产量较高。

冬虫夏草的寄主昆虫虫草蝙蝠蛾幼虫主要啃食蓼科植物中的头花蓼(*Polygonum sphaerostachum* Meism)、珠芽蓼(*P. viviparum* L.)和小大黄(*Rheum pumilum* Maxim)等植物的地下部分。其次,杜氏草属(*Deyeuxia* sp.)、羊茅属(*Festuca* sp.)、早熟禾属(*Poa* sp.)、披针草属(*Elymus* sp.)、鹅观草属(*Roegneria* sp.)、发草属(*Deschampsia* sp.)、蒿草属(*Kobresia* sp.)、台草属(*Carex* sp.)、黄精属(*Polygonatum* sp.)、委陵菜属(*Potentilla* sp.)等也被认为是与其有直接关系的植物。

虫草蝙蝠蛾幼虫在土中的活动位置,一年中随季节而变化,在深度为5~50厘米的土层活动。幼虫不放入土中不给食,能耐饥饿119天。幼虫的耐寒性也相当强:0℃6天不死亡,-3℃5小时不冻死。

目前,对虫草蝙蝠蛾的生活史尚未完全弄清,对于幼虫的感菌时期,也无准确的研究报道。这方面的工作还有待于深入研讨。摸清寄主昆虫的生活史,进而模拟自然条件饲养昆虫,对于研究寄主昆虫的感菌及虫草的形成过程是十分必要的。

三、冬虫夏草的功能及虫草的药化、药理

冬虫夏草(*C. sinensis* (Berk.) Sacc.)的药性及功能,李时珍(1578)的《本草纲目》中没有记载,1756年赵学敏在《本草拾遗》,1777年吴遵程在《本草从新》中把它记载为药材。中医药文献认为冬虫夏草味甘性温,有秘精益气,保肺补肾,止血化痰之功。朱排山曾记述:“冬虫夏草,以酒浸数枚,啖之治腰膝间痛楚,有益肾之功。又与老鸭同煮食宜老人,凡病后调养及虚损人,每服一鸭可抵人参一两”。此外,尚有记载单用其“草”“令妇女绝孕无子”之说。当然这些作用有的还需现代医学进一步证实。就近代的医学文献来看,一般认为冬虫夏草能治劳咳痰血、盗汗、阳萎、遗精、黄胆病、肺结核及老人衰弱慢性咳喘等,有强壮而兼收敛镇静的效果。

值得注意的是虫草菌素(3'-Deoxyadenosine)的抗癌功能国内外均有报道。我国王玉润^[13]已报道过应用虫草合剂对晚期恶性肿瘤病人进行治疗收到一定效果。

对于冬虫夏草的药化分析,1947年汤腾汉^[14]曾作过报道。冬虫夏草含粗蛋白25.32%,脂肪8.4%,粗纤维18.53%,碳水化合物28.9%,灰分4.1%,水分10.84%。其蛋白质的水解产物为谷氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、组氨酸、缬氨酸和羟基缬氨酸、精氨酸和丙氨酸的混合物。近年来经氨基酸自动分析仪测定的数据表明,氨基酸的种类不少于16种,其中包括赖氨酸等必需氨基酸。

1957年Chatterjee等报道曾从冬虫夏草中分离出所谓“虫草酸(Cordycepic acid)”,后于1963年证明其为D-甘露糖醇(D-mannitol)^[15]。1951年曾从蛹草的人工培养液中得到代谢产

物虫草菌素 (Cordycepin, 3'-Deoxyadenosine, $C_{10}H_{13}O_3N_5$), 并于1964年报道已能人工合成^[16]。

此外, 美国于1975年报道了在蛹虫草中发现了类似组蛋白的核蛋白质^[17]。西德从大团囊菌的深层培养中获得一种未被发现过的抗真菌抗生素(ophiocordin), 分子式为 $C_{21}H_{22}N_2O_8$, 分子量430, 研究了它的核磁共振谱和质谱, 已确定了部分分子结构^[18]。Miyazaki(日本)等先用乙醇分馏, 经凝胶过滤使虫草菌子囊果水溶液多糖净化, 得到一种高分支多糖CS-I, 并证明它是半乳甘露聚糖, 由含有甘露聚糖原和含有分支的半乳糖低聚物所组成^[19]。这些成分的药理或临床作用尚未见报道。

关于冬虫夏草的药理试验可以追溯到贝尼斯特尔(Brewster)和阿斯卑格(Alsberg), 他们于1917年首先对虫草进行了药理试验, 报告指出静脉注射时在少数动物(兔和小白鼠)产生抑制作用, 大剂量时增加呼吸和脉情, 致使动物痉挛而死, 但酒精提取液对兔无作用。郑武飞^[20]曾报告冬虫夏草浸剂有抑制须疮癣菌(*Trichophyton mentogrophytes*)、石膏样小芽孢菌(*Microsporum gypseum*)、羊毛状小芽孢菌(*Microsporum lanosum*)及絮状表皮癣菌(*Epidermophyton floccosum*)的效力。张士善^[21]等分别以蛙、兔、狗、豚鼠及小白鼠为材料进行试验, 证明冬虫夏草浸剂有显著扩张离体动物支气管的作用, 此外对肠管、子宫及心脏均有抑制作用, 对小白鼠并有镇静及催眠作用。其毒性极低(每公斤鼠重, 腹腔注射5克生药换算量无死亡)。此外, 郑藻杰、李希贤等也报道对一些细菌做过抑菌试验, 毛文书曾报告虫草浸剂对家兔结膜注射产生缩瞳作用。

国外对虫草菌素抑制肿瘤、病毒和某些细菌的作用方面做了不少工作。例如报道用虫草菌素每日15~200毫克/公斤注射接种艾氏腹水癌的小鼠腹腔, 连给7天, 能延长小鼠的存活时间, 在组织培养中, 虫草菌素对人鼻咽癌细胞(KB)的生长有抑制作用; 用试管稀释法试验, 约1毫克/毫升浓度的虫草菌素对枯草杆菌有抑制作用等。1976年 Hashimoto等^[22]报道虫草菌素对西方马属脑炎病毒RNA的合成有抑制作用, 从而减少病毒的产生。病毒RNA合成的抑制率取决于药物剂量和用药治疗时期, 然而药物对病毒的RNA合成系统的效应最为敏感。

Lennon等(1976)^[23]对虫草菌素的生物合成及还原机制进行了研究指出: 虫草菌素形成的还原机制可能和2'-脱氧核苷酸形成的还原机制相似。

Kenijiro等(1979)^[24]的研究指出: 虫草菌素一类的腺苷类抗生素易被腺苷脱氨酶分解成相应的肌苷化合物使其活性降低, 目前已从抗菌素链霉菌与9-β-D-阿糖呋喃糖腺嘌呤(ara-A)混合的培养液中分离出一种有效蛋白腺苷脱氨酶抑制剂, 即2'-脱氧间型霉素(2'-acF), 并证明了这种抑制剂能使ara-A或含有虫草菌素的腺嘌呤核苷的其它类似物的生物活性增强。

四、关于亚香棒虫草的研究

亚香棒虫草又名霍克斯虫草(*Cordyceps hawksii* Gray), 是虫草属的一个种。其寄主昆虫为鳞翅目(Lepidoptera) 蝙蝠蛾科(Hepialidae) *Oxycanus*和*Trictena*属的幼虫, 由霍克斯(Hawkes)在塔斯马尼亚岛的伦西斯登收集, 标本保存在伦登西郊国立Kew植物园内。小林义雄^[25]对亚香棒虫草曾作过如下描述:“……子实体的柄呈不规则的弯曲, 埋在地下部分黄褐色、绒毛状, 从幼虫的各部分伸出, 头部较粗而色淡”, 小林还指出本种的“被子器, 子囊头部及二次孢子与*C. gunnii*相比均为小型的, 即被子器500~550×175~200微米, 子囊头部4~5微米, 二次孢子4~1.5微米”。Willis则指出: 新鲜霍克斯虫草头部赤茶色至咖啡色, 与淡褐色的柄界限分明, 干枯后不生皱纹。

戴芳澜在《中国真菌总汇》(1979)中只列举霍克斯虫草产于广西一地。

1973年以来,湖南、安徽、福建等省先后在本省发现了亚香棒虫草。据调查,亚香棒虫草在湖南分布较广,估计有相当产量。经初步研究^[26]表明:亚香棒虫草的形态与冬虫夏草相似,两者醇浸出物、蛋白质、水分、灰分等含量,氨基酸纸层析及紫外吸收光谱、氨基酸自动分析含量值等均较近似。急性毒性试验表明:按成人每日最大剂量9.4克的100、300、500倍的煎液(1:1)分别给药于三组小白鼠灌胃试验,除第三组小白鼠腹部有短时抽搐外,经24、48小时观察三组小白鼠均无异常现象和死亡。

根据上述药化和急性毒性的研究结果,在药用冬虫夏草极缺的情况下,考虑亚香棒虫草能否作为冬虫夏草的代用品的研究很自然地提到议事日程。看来进一步比较其两者的药理、安全性、继而进行临床试验以得出最后结论是必要的。但目前尚未见到这方面的详细报道。

五、人工培养虫草的研究

由于国内外市场对冬虫夏草的需要日益增长,采集天然虫草已不能满足需要,更何况冬虫夏草一经采掘在一定地区一定周期内即有产量下降趋势,因此国内外均在开展对虫草的人工培养的研究,以便补充冬虫夏草的不足。从能够得到的资料来看,目前工作的进展大体还只达到人工培养菌丝体的水平。

意大利Carilli^[27]等研究了蛹草菌的深层培养,认为刺激生长的条件同样能促进孢子的产量,每毫升发酵液分生孢子数可达 8.2×10^8 。在他们的试验中,菌种采用矿油法保藏,液体发酵培养基主要成分包括蛋白胨和甘油,培养温度为27℃,振荡速度为180 RPM,培养6天,然后过滤、水洗,100℃24小时烘干。

日本吉井常人^[28]利用中国普通的植物性烹调配料作为培养基,灭菌后采用常法液体培养或用大米、小麦、玉米、家蚕、蝉的成虫、蛹及幼虫作为培养液的吸附物进行固体培养。无论液体培养或固体培养,均以获取菌丝作为前提,然后提取有效成分或直接干燥菌丝作成粉剂。该法液体培养20~30℃约30天可以完成,而固体培养则需90天才能完成。

日本松本繁^[29]也曾对蝉竹菌(一种虫草)进行过人工培养的研究。这种菌在日本7月中旬从幼虫体上向地表长出各种形状子实体的虫草。该菌在亨氏培养基上生长良好,而在察氏培养基上几乎不生长。该菌在摇瓶中25℃培养一周能长出1厘米厚的菌层,200毫升培养液能产干菌丝2.5克。从液体培养的菌层中经丙酮萃取,加甲醇和活性炭反复重结晶能得白色针状结晶,熔点163~165℃,不含氮素,试验者断定为甘露糖醇。

人工培养冬虫夏草,从而使其完成整个世代并长出子座形成完整虫草的资料尚未见报道。然而作为名贵中药,按传统,完整的外形似乎同良好的药效一样是重要的。要完成冬虫夏草人工全培养需要同时解决寄主昆虫、虫草真菌及其形成虫草的条件这三方面一系列的问题,其难度是可以想见的。但是,在寻找代用品(如菌丝体等)的同时,借鉴其它领域的研究成果,如生物防治方面的经验,人工接种对象虫体使在天然条件下长出子座以达提高虫草收获量的目的不是不可能的,因为从虫草的寄主昆虫种类之多,分布之广,适应性之强,为虫和菌的结合提供了前提条件。要形成虫草必须有大量的对象虫源,而某些虫的数量之多竟可达到成灾的地步,如一种蝙蝠蛾*W. cervinata*是新西兰的重要牧场害虫,受害较重的牧场每平方米的幼虫数达100头。有关虫草菌感染寄主昆虫这方面的资料是不少的。在虫口密度相当大的情况下对寄主昆虫进行人工施菌有可能达到上述目的。当然,用其它虫草作为药用冬虫夏草的代用品还要做药理、药化、安全性、临床效果等许多工作,虫菌自身的消长规律等也需要研究。相信这方面的工作有着广阔的前途。

本文承中国科学院微生物研究所陈庆涛同志审阅,特致谢意。

(下转31页)

综合本实验结果可以看出,一个有效的肿瘤细胞有丝分裂中期抑制药物,体内对AEC细胞有丝分裂的作用显著区别于其它物质,其特点是在较低浓度下可使:①有丝分裂指数提高到10以上。②无分裂后期细胞出现。③图象为不正常排列。利用这一特点,用可方便进行测定的“有丝分裂指数”为指标,可以建立这类药物特异的敏感的体内筛选方法。

上述指标与第六天正常AEC肿瘤细胞分裂指数比较,分裂率提高3倍以上,镜下区别明显,结果易于判断。对于非中期抑制作用的物质或杂质干扰引起的分裂指数提高,均伴随着后期细胞数的增加。如此,通过分期计数,测定中期分裂指数可以排除假阳性。

目前,临床有用的这类药物基本上来源于植物提取。特别是美登素正进行资源调查。本实验采用含量百分之一左右的美登素粗品仍能得到阳性结果,说明了利用上述筛选程序,可以在分离过程中,在含量很低的情况下,对有效成分进行跟踪。从本实验结果可以看出,植化提取中常用的溶剂在一定浓度下,对其活力测定无明显影响。至于一些毒性较强的溶剂或杂质干扰造成的假阳性也不难排除。

本实验还指出,两次给药与一次给药相比,所需有效抑制浓度可显著降低。这与 Hans letter [2]的结果是一致的。这一结果启示我们,可以用增加给药次数的方法来提高筛选方法的敏感度。这对植物药低浓度的萃取液筛选是有意义的。

本文承林文良副研究员审阅,特此致谢。

参 考 文 献

- 【1】中国医学科学院肿瘤防治研究所细胞生物室, 肿瘤防治研究 (4):1, 1977
- 【2】Letter H, Annals New York Acadamy of Sciences 76(3):556
- 【3】Kupchan SM et al, Chem Eng News 3.15 June 1975
- 【4】Wolpert-Defilippers Mary K et al, Biochem Pharmacol 24(18):1973, 1975
- 【5】Johnso Randall K et al, Biochem Pharmacol 27(15):1973, 1978
- 【6】Stachelin H, Experimctia 16(7):306, 1960
- 【7】Eji Higashide et al, Nature 270(5635):721, 1977
- 【8】中国医学科学院药物研究所药理组, 中草药通讯 (4):28, 1976

(1981年5月19日收稿)

(上接48页)

参 考 文 献

- 【1】宇田俊川一等, 菌类图鉴, 第一版, 上册, 632页, 讲谈株式会社, 东京, 1978
- 【2】小林义雄, 植物研究杂志 52 (1):21, 1977
- 【3】邓叔群: 中国的真菌, 第一版, 146页, 科学出版社, 北京 1963
- 【4】魏景超: 真菌鉴定手册, 第一版, 218页, 上海科技出版社, 上海, 1979
- 【5】朱弘复: 昆虫学报 14(6):620, 1965
- 【6】Kobayasi Y, Bull National Sci Museum Series B 4(2):43, 1978
- 【7】Kobayasi Y, J Jap Bot 52(4):111, 1977
- 【8】Kobayasi Y, J Jap Bot 52(9):269, 1977
- 【9】Chen ZC, Taiwan 23:153, 1978
- 【10】陈泰鲁等: 昆虫学报 16(2):198, 1973
- 【11】周兴民: 植物杂志 (1):38, 1978
- 【12】沈南英等: 中草药 11(6):273, 1980
- 【13】王玉润, 上海中医药杂志 (5):28, 1979
- 【14】汤腾汉等: 中国药学会会志 3(1):1, 1947
- 【15】Milon S et al: J org Chem 28(9):2490, 1963
- 【16】南京药学院: 中草药学 第一版, 中册, 12页, 江苏人民出版社 1976
- 【17】Indik ZK, Arch Biochem & Biophy 170 (1):315, 1975
- 【18】Kniefel H et al, Arch Microbiology 113 (1/2):121, 1977
- 【19】Miyazaki T et al, Chem and Pharmaceut Bull 25(12):3324, 1977
- 【20】郑武飞, 中华医学杂志 38(4):315, 1952
- 【21】张士善: 药理学报 6(3):142, 1958
- 【22】Hashimoto K et al, Arch Virology 52 (4):341, 1976
- 【23】Lennon MB et al, Biochim et Biophys Acta 425(4):532, 1976
- 【24】Kenjiro Kodama et al, Agr and Biol Chemistry 43(11):2375, 1979
- 【25】小林义雄: 植物研究杂志 54(11):326, 1979
- 【26】黄和意等, 中草药 11(10):435, 1980
- 【27】Carilli A et al, Transactions Bri Mycol Soc 68(2):237, 1977
- 【28】吉井常人: 冬虫夏草的人工培养及其药效成分的抽出液或制剂的制造方法, 特开昭 54-80486, 1979
- 【29】松本繁: 新昆虫(日)(2):19, 1959

(1981年4月1日收稿)