

虫草菌丝体研究及其产业化发展

王颖, 郭原, 周亚杰, 冯鹏, 冯敏

南京中科药业有限公司, 江苏南京 210008

[摘要] 虫草菌丝体是通过冬虫夏草菌进行人工培养、液体发酵获得的,是与冬虫夏草功效相似的替代资源。虫草菌丝体的生产成本低,产品服用方便,无不良反应,适宜于免疫力低下者,多以胶囊剂内服。笔者总结虫草菌丝体近年来的文献,主要包括冬虫夏草相关菌、产业化技术、药理作用及质量分析等内容集成成本文,为虫草菌丝体的开发利用及产业化发展提供参考。

[关键词] 虫草菌丝体;冬虫夏草;产业化;药理;毒理;质量分析

[中图分类号] R282

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-5654(2018)09(b)-0189-03

冬虫夏草是我国中医药宝库中的瑰宝,始载于《医学千万舍利》^[1]。冬虫夏草具有补肺益肾,止血化痰的功效,已收载于《中国药典》2015年版一部。其奇特和神秘之处在于“变化生成一气通,一物竟能兼动植,世间物理信难穷”^[2]。但独特的生长环境及过度采挖导致资源衰竭。寻找替代资源已刻不容缓,而对冬虫夏草资源进行保护的根措施是人工栽培。在这种形势下,人们的研究重点已转向人工培养、液体发酵获得的虫草菌丝体。

1 冬虫夏草相关菌

冬虫夏草相关菌,包括无性型和有性型,而在液体发酵过程均为无性型。虫草菌丝体的优劣是冬虫夏草人工培养成功与否的关键性因素,因此研究员对冬虫夏草菌进行了大量的筛选和鉴定工作。已报道与冬虫夏草菌相关的无性型有22个学名,研究最多的是中国被毛孢和蝙蝠蛾拟青霉,分子生物学已证明^[3-4]前者是冬虫夏草正确的无性型^[5],而后者及其他与冬虫夏草的关系还未证实^[6]。中国被毛孢曾被称为冬虫夏草头孢、蝙蝠蛾被毛孢、中华束丝孢,研究证明均为中国被毛孢的异名^[7]。蝙蝠蛾拟青霉是从云南和青海采集到的新鲜冬虫夏草中分离得到的^[8]。

2 产业化技术

20世纪70年代后期就对冬虫夏草人工培养技术进行了大量研究工作。目前有3种培养技术,包括半人工培养、固体发酵培养和液体深层发酵培养。由于投资高、培养难度大、周期长且产量低,用冬虫夏草菌培养出子实体的成功率都很低。已有企业实现了冬虫夏草的人工

培养^[9],但未公开。现人们的研究重点已转移到冬虫夏草菌液体发酵培养的技术上。液体深层发酵技术这项技术成本低、周期短且产量高,已大面积推广应用。

3 药理、毒理、临床

经液体发酵培养的虫草菌丝体制品是否具有药理作用、不良反应及临床疗效,是判断虫草菌丝体能否作为冬虫夏草代用品的基本标准。

机体在代谢过程中会产生活性氧,包括超氧阴离子自由基(SAFR)、羟自由基(HFR)、过氧化氢和单线态氧。在某些病理情况下活性氧代谢物过量会导致机体组织损伤和疾病的发生。机体内产生的自由基起主要作用的是SAFR和HFR,张小强等^[10]采用邻苯三酚自氧化体系产生SAFR及利用Fenton反应产生HFR,结果发现虫草菌丝体对两者均有清除作用。赵萍等^[11]通过体内、体外实验,研究发现蝙蝠蛾被毛孢菌丝体发酵液制剂具有免疫调节的活性。

陈志荣等^[12]利用流式细胞技术、实时荧光定量PCR、Western blot和混合细胞培养等方法,发现蝙蝠蛾被毛孢菌丝体能促进树突状细胞成熟,刺激适度Th1型免疫反应。

CCl₄对肝脏有强损伤作用,会导致干细胞的坏死、癌变等,杨槐俊等^[13]采用四氯化碳(CCl₄)建立急性肝损伤模型,以3个剂量组的冬虫夏草菌丝提取物给药小鼠30d,观察小鼠肝脏的病理损伤情况,发现冬虫夏草菌丝提取物能减轻肝细胞坏死程度,对化学性肝损伤有保护作用。

查捷等^[14]通过最大耐受量试验、Ames试验、小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形试验,利用统计学方法

[作者简介] 王颖(1992-),女,江苏镇江人,硕士在读,研究方向:药物分析。

分析,发现蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉无不良反应、无致突变作用以及无致畸性。

采用生物工程、低温发酵技术精制而成的百令胶囊具有补肺肾、益精气的功效,可用于治疗肾脏疾病(慢性肾衰、肾小球肾炎等)、肝脏疾病、哮喘等,且改善肾移植效果^[15]。

4 质量分析

运用现代化的分析技术既可定性鉴别虫草菌丝体和冬虫夏草,也能准确的定量虫草菌丝体中各有效成分的含量。

李琼等^[16]建立了显微和薄层两种定性鉴别方法,可有效区分粉碎或加工成制剂的人工虫草菌粉和天然虫草。张文娟等^[17]通过结合聚合酶链式反应限制性内切酶片段长度多态性法及 CO I 聚合酶链式反应扩增技术,可成功鉴别冬虫夏草与人工发酵菌丝体。魏江春等^[18]运用分子系统学分析对人工培植的冬虫夏草有性型进行物种鉴定,并利用 HPLC 法和 ¹H NMR 指纹图谱法检测人工培植的冬虫夏草无性型菌丝粉。

张萍等^[19]采用聚类分析法,利用高效液相色谱-二极管阵列检测器,建立发酵虫草菌丝类制剂中 5 个核苷类成分的特征图谱,方法简单快速,可用于各发酵虫草菌丝类制剂的质量分析。宗时宇等^[20]采用冰浴超声提取法与 UHPLC-ESI-MS/MS 分析法,能快速检测以虫草菌丝体为原料的保健品中 13 种核苷类成分。

张萍等^[21]运用 HPLC 柱前衍生化法测定发酵虫草制剂的氨基酸含量,比其他氨基酸分析方法简便、快速、灵敏度高,可用于评价发酵虫草制剂的质量,为其他发酵类制剂的质量控制提供参考。

5 虫草菌丝体产业化发展现状

1988 年批准的国家一类新药百令胶囊是由中国被毛孢 Cs-C-Q80 经液体深层发酵所得菌丝体的干燥粉末制成的。2012 年该产品的产能支撑 8 亿元左右的销售规模^[22],2015 年年底实现了销售收入三年翻一番的目标。

金水宝胶囊也是国家一类新药,是由蝙蝠蛾拟青霉 Cs-4 菌种发酵生产制备的菌粉。在 2014 年金水宝胶囊的产值达到 22 亿元人民币^[9],经济效益十分可观。

产业化发展要求工艺的重复性、可大规模的操作以及利润的最大化,虫草菌丝体不仅解决了人工冬虫夏草无法产业化的瓶颈,也创造了巨大的经济效益。

6 总结与展望

我国虽已将冬虫夏草列为国家二级保护野生植物,

但其资源减少的趋势并未遏制。且冬虫夏草不能作为保健食品原料及普通食品原料。可用于保健食品的真菌菌种名单中只收录了蝙蝠蛾被毛孢和蝙蝠蛾拟青霉这两个无性型菌种。相对于天然冬虫夏草,虫草菌丝体的生产成本低、服用方便、无不良反应,且液体深层发酵技术可实现产业化发展,真正能走入寻常百姓家。

虫草菌丝体具有广泛的保健价值,随着人们不断的开发利用,极大的缓解了冬虫夏草野生资源濒危的程度,消除了人们对冬虫夏草及虫草菌丝体之间存在的误解,满足了保健食品市场多样性的需求,因此,虫草菌丝体产业化发展具有巨大的生态效益、社会效益和经济效益。今后利用新技术和新方法,结合产、学、研、管机制,优化虫草菌丝体的工艺,开发更多的新功能以及多样化产品形式,加大力度促进虫草菌丝体的产业化发展。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局.中华本草·藏药卷[M].上海:上海科学技术出版社,2002:147.
- [2] 留仙后人.聊斋志异外集[M].2 版.上海:大达图书供应社,1935.
- [3] 赵锦,王宁,陈月琴,等.冬虫夏草无性型的分子鉴别[J].中山大学学报:自然科学版,1999,38(1):121-123.
- [4] 李增智,黄勃,李春如,等.确证冬虫夏草无性型的分子生物学证据[J].菌物系统,2000,19(1):60-63.
- [5] 刘锡璠,郭英兰,俞永信,等.冬虫夏草菌无性阶段的分离和鉴定[J].真菌学报,1989,8(1):35-40.
- [6] 蒋毅,姚一建.冬虫夏草无性型研究概况[J].菌物系统,2003,22(1):161-176.
- [7] 魏鑫丽,印象初,郭英兰,等.冬虫夏草及其相关类群的分子系统学分析[J].菌物学报,2006,25(2):192-202.
- [8] 戴如琴,李晓明,邵爱娟,等.蝙蝠蛾拟青霉名称的合格化[J].菌物学报,2008,27(5):641-644.
- [9] 董彩虹,李文佳,李增智,等.我国虫草产业发展现状、问题及展望—虫草产业发展金湖宣言[J].菌物学报,2016,35(1):1-15.
- [10] 张小强,浦跃朴,尹立红,等.冬虫夏草及人工虫草菌丝体对超氧阴离子自由基和羟自由基清除作用的实验研究[J].中国老年学杂志,2003,23(11):773-775.
- [11] 赵萍,刘冰,竹军,等.蝙蝠蛾被毛孢(*Hirsutella sinensis*)菌丝体发酵液免疫活性的研究[J].食品工业科技,2015,36(23):363-370.

(下转第 193 页)

比较完善的医疗卫生服务体系。根据这一指导思想,提出如下建议。

①针对中国精神卫生服务投入不足与相对过剩的矛盾,在调整精神卫生行业资源配置方式,整合服务体系的基础上,加大政府财政投入,建立起中央、省和市级三级财政分担的精神卫生服务专项基金,实施针对6种重性精神疾病的重点关注治疗项目,专研六种主要精神病的治愈率,降低复发率。并对治疗费用上制定相关政策,以减轻精神病人的负担。

②针对专业服务队伍人员结构不合理的情况,为了提高专业队伍的服务质量,加强精神卫生服务队伍建设,需要对大部分现有的专业人员进行继续教育。进一步完善管理制度,创建标准的从业人员的资格认证和专业技术体系,建立多学科合作的人才队伍。

③针对精神障碍社区康复体系缺乏的情况,2013年实施的《精神卫生法》第五十四和五十五条对此明确了社区康复机构和医疗机构的责任和义务:社区康复机构应当为需要康复的精神障碍患者提供场所和条件,对患者进行生活自理能力和社会适应能力等方面的康复训练;医疗机构应当为在家居住的严重精神障碍患者提供精神科基本药物维持治疗,并为社区康复机构提供有关精神障碍康复的技术指导和支持。医疗机构提供指导,首先是灌输和指导正确的康复理念,使他们清晰地辨别和发展精神病人的职业潜能和能力,另外,建议医疗机构设置职业康复工作者的培养计划,提升职业康复的水平和研究,为精神病人提供良好的康复环境。

④应当加强精神病的预防工作,通过社区教育,提

高正常人群对精神病的认知,转变观念,扩大心理卫生常识宣传,消除社会对精神病人的偏见、歧视,为精神病患者治疗和康复营造一个良好的社会人文环境。另外提升对个人精神卫生的保健意识,转变生活观念,过积极、健康、有意义的生活,提高心理健康水平,为预防精神病构筑一个自我防护网。

[参考文献]

- [1] World Health Report Mental Health: New Understanding, New Hope 2001[R].WHO Geneva.
- [2] 国务院.中国精神卫生工作规划(2002-2010)[J].上海精神医学,2003,15(2):125-128.
- [3] 肖友生.去编制化将给精神病医院带来什么[J].中国卫生,2018(5):88.
- [4] 国务院.全国精神卫生工作规划(2015—2020年).http://www.gov.cn/zhengce/content/2015-06/18/content_9860.htm.
- [5] 马宁,严俊,马弘,等.2010年中国精神卫生机构和床位资源现状分析[J].中国心理卫生杂志,2012,26(12):885-889.
- [6] 栗克清,孙秀丽,张勇,等.中国精神卫生服务及其政策:对1949-2009年的回顾与未来10年的展望[J].中国心理卫生杂志,2012,26(5):321-326.
- [7] 卫生部统计信息中心.中国卫生服务调查研究:第三次国家卫生服务调查分析报告[R].北京:中国协和医科大学出版社,2004:15-16.
- [8] Phillips MR, Zhang J, Shi Q, et al. Prevalence, treatment, and associated disability of mental disorders in four provinces in China during 2001-05: an epidemiological survey[J]. Lancet, 2009,373(9680):2041.

(收稿日期:2018-06-13)

(上接第190页)

- [12] 陈志荣,刘含智,杨振红,等.蝙蝠蛾被毛孢菌丝体通过激活TLR2、TLR4和Dectin-1诱导Th1型免疫反应[J].中国免疫学杂志,2009,25(10):895-901.
- [13] 杨槐俊,郭素萍,薛莉.冬虫夏草菌丝提取物对化学性肝损伤的辅助保护作用[J].菌物学报,2014,33(2):394-400.
- [14] 查捷,项华,孙建荣,等.蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉急性毒性和致突变作用[J].浙江预防医学,2008,20(6):92-93.
- [15] 刘丽娟,马世尧,袁宝荣.百令胶囊的药理作用及临床作用[J].中成药,2004,26(6):493-496.
- [16] 李琼,季巧遇.天然虫草与人工虫草菌粉的显微和薄层定性鉴别研究[J].实用中西医结合临床,2015,15(11):80-82.
- [17] 张文娟,王晓,张萍,等.冬虫夏草与5种人工发酵菌丝体的DNA分子鉴别方法[J].药物分析杂志,2015,35(8):1354-1357.
- [18] 魏春江,魏鑫丽,郑维发,等.现代工业化培植的冬虫夏草物种鉴定与成分检测[J].菌物学报,2016,35(4):404-410.
- [19] 张萍,郑天骄,张文娟,等.5种发酵虫草菌丝类制剂的特征图谱及其模式识别研究[J].中国药理学杂志,2015,50(4):293-298.
- [20] 宗时宇,韩涵,段然,等.虫草保健品中13种核苷类成分的UHPLC-ESI-MS/MS定量分析及评价[J].中药材,2016,39(10):2294-2297.
- [21] 张萍,周玉春,王晓,等.HPLC柱前衍生法测定发酵虫草制剂中总氨基酸的含量[J].药物分析杂志,2016,36(8):1338-1348.
- [22] 王英燕,王文凤,袁兵兵,等.中国被毛孢研究现状及发展趋势[J].发酵科技通讯,2014,43(3):52-53.

(收稿日期:2018-06-14)