

真菌试刊

ZHENJUNSHIYAN

药用菌专辑

1981

福建三明地区真菌研究所

真 菌 试 验

——药用菌专辑——

目 录

实 验 研 究

1. 银耳多糖对巨噬细胞吞噬功能,骨髓造血功能及蛋白质、核酸合成的影响 林志彬等 (1)
2. 银耳孢子多糖对血清蛋白质合成的影响 林志彬等 (6)
3. 银耳及其多糖化学性质的初步研究 洪 震等 (8)
4. 蜜环菌培养物成份预试 洪 震等 (12)
5. 虫草的研究 I: 生境考察和形态学 肖生荣等 (13)

临 床 研 究

6. 银蜜片治疗冠心病 102 例临床疗效分析 周临深等 (16)
7. 银蜜片治疗冠心病临床疗效观察 万长葵等 (34)
8. 银蜜片治疗冠心病 127 例临床疗效观察 (潘生丁15例对照) 万长葵等 (38)
9. 银蜜片治疗慢性支气管炎 137 例初步观察 厦门市医药研究所等 (42)
10. 银蜜片治疗慢性支气管炎55例住院观察 厦门市医药研究所等 (46)
11. 银蜜片治疗慢性支气管炎 335 例疗效观察 厦门市医药研究所等 (53)
12. 银蜜片对慢性气管炎治疗的疗效分析 福州市防治慢性气管炎协作组 (57)
13. 银蜜片治疗慢性气管炎48例疗效观察 中国人民解放军总参管理局卫生处 (61)

14. 银蜜片治疗神经衰弱、眩晕、更年期综合症 302 例疗效报告 福州市医学科学研究所等 (67)

综 述

15. 银耳医药学研究的现状 林志彬等 (73)

16. 癌的非特异性自动免疫治疗物质的研究概况 袁毓湘 (80)

译 文

17. 香菇的抗癌作用——神户大学和菌类研究所对诱导干扰素能力的说明 赵大明译 (97)

科 研 简 报

18. 冬虫夏草研究简报 (98)

银耳多糖对巨噬细胞吞噬功能, 骨髓造血功能 及旦白质、核酸合成的影响

林志彬 孙曼琴 柴宝玲 马俊江 焦 柯

(北京医学院药理教研室)

银耳多糖是银耳(白木耳)所含重要有效成分, 初步药理实验证明: 银耳多糖对小鼠S-180肉瘤有抗肿瘤作用, 能提高健康人和白血病患者的淋巴细胞转化率, 并具有一定的抗放射作用^[1-3]。为进一步探讨银耳多糖的药理作用, 我们观察了银耳多糖对巨噬细胞吞噬功能和骨髓造血功能的影响, 并初步研究了银耳多糖对旦白质、核酸合成的影响。

材 料

银耳粗多糖和半纯多糖(以下简称多糖a和b)由福建三明真菌研究所提供, 系从中国福建产银耳(*Tremella fuciformis* Berk)子实体热水提取液中分离, 易溶于水, 实验时用生理盐水稀释。

注射用环磷酰胺(批号771112)系上海第十二制药厂生产。

DL-(4, 5-³H)亮氨酸、5-³H-尿嘧啶核苷和甲基-³H-胸腺嘧啶核苷(以下分别简称³H-Leu、³H-UR和³H-TdR)为中国科学院上海原子核所生产, 放射比度分别为54、20和25 Ci/mM 用无菌生理盐水稀释成40 μ Ci/ml, 贮于冰箱备用。

闪烁液配方: 2、5-二苯基恶唑3.0g、1、4-双-[5-苯基恶唑基-2]苯0.5g、茶60.0g、二氧六环500.0mL。

方 法

巨噬细胞吞噬功能实验方法: 以18-22g 昆明种小白鼠(雌雄各半), 按观察巨噬细胞功能的滴片法进行实验^[4]。⁶⁰Co γ 射线或环磷酰胺所致骨髓抑制实验方法: 取18-22g 昆明种小白鼠(雌雄各半)按我们在前文报告的方法^[5], 用⁶⁰Co γ 射线全身照射(剂量率为51.4伦琴/分钟, 照射时间17.5分钟, 总照射剂量900伦琴)。照射后5日处死动物, 取出左右两侧股骨, 剔去附着的肌肉, 剪去两端骨垢, 用白细胞稀释液1ml 冲出骨髓细胞, 在试管中混匀后, 计数股骨有核细胞数, 求出各组股骨有核细胞数的均值, 并进行比较。

环磷酰胺所致骨髓抑制实验除用环磷酰胺(100 mg/kg, 腹腔注射)代替⁶⁰Co γ 射线照射引起骨髓抑制外, 余皆同前。

³H-Leu 掺入血清旦白质方法: 取14-16g 昆明种小白鼠按我室改进的Oura氏方法^[6, 7]进行实验。掺入实验前小白鼠禁食14小时, 不限饮水。末次给药后1小时, 每鼠腹腔注射³H-Leu 4 μ ci/10g 体重, 4小时后断头取血, 在室温下自然凝血后, 离心分

离血清。取0.1ml 血清经10%三氯醋酸洗涤二次，1:1 醇醚混合液洗涤一次后，加0.5ml 88%甲酸，在90℃水浴上消化20分钟，然后取消化液0.1ml 置闪烁液中，用FJ—353双道液体闪烁计数器测量掺入的放射性强度。

³H—Leu掺入肝脏蛋白质方法：实验动物及掺入³H—Leu 剂量均同³H—亮氨酸掺入血清旦白质实验，掺入4小时，处死动物，取适量肝脏加入生理盐水，制成肝匀浆，肝匀浆浓度为50mg/ml，取此匀浆0.5ml，按前述制备血清蛋白质程序操作后，取0.1ml 消化液置闪烁液中测量其放射性强度。

³H—UR掺入肝脏RNA和³H—TdR 掺入肝脏DNA 方法：除将掺入标记前体分别改为³H—UR和³H—TdR（剂量均为4uci/10g 体重，腹腔注射）外，余皆同³H—Leu掺入肝脏蛋白质方法。

上述掺入实验的放射性强度测量结果经用内标准源法进行猝灭校正证明，给药组与对照组计数效率无明显差异，为简便起见所有放射性强度均以cpm表示。

血清蛋白质含量测定方法：按Lowry 等报道的Folin 酚法进行实验^[8]。

结 果

一、对巨噬细胞吞噬功能的影响

连续皮下注射多糖a或b（剂量均为200mg/kg/日）4日能增强小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红血球的能力，使吞噬百分率和吞噬指数均显著增加（见表1），多糖a组此二指标分别较对照组增加47.8%和63.3%，多糖b组分别增加87.0%和159.6%，可见多糖b的作用较多糖a为强。

表1 多糖a和b对小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

药 物	鼠 数 (只)	吞 噬 百 分 率 ($\bar{X} \pm SE$)	吞 噬 指 数 ($\bar{X} \pm SE$)
多糖a	14	34.0 ± 2.9***	0.72 ± 0.04**
生理盐水	14	23.0 ± 2.1	0.44 ± 0.07
多糖b	12	57.5 ± 3.5*	1.61 ± 0.16*
生理盐水	12	30.8 ± 3.5	0.62 ± 0.08

与生理盐水组比较 t 测验：*P<0.001，**P<0.02，***P<0.05

二、对⁶⁰Coγ射线或环磷酰胺所致骨髓抑制的影响

在致死剂量的⁶⁰Coγ射线全身照射后1小时，给小白鼠皮下注射多糖a 200 mg/kg，以后每天再给药一次，共给药3日。照射后5日，处死动物，计数骨髓有核细胞。结果多糖a组股骨有核细胞数较照射对照组（照射后给与等容量生理盐水作为对照）多185.97%（见表2），说明多糖a能减轻⁶⁰Coγ射线全身照射所致骨髓抑制。

表2 多糖a对 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射所致小白鼠骨髓抑制的影响

组别	鼠数 (只)	股骨骨髓细胞数 $\times 10^6$ 个 ($\bar{X} \pm \text{SE}$)
多糖a组	10	$6.32 \pm 1.37^*$
照射对照组	10	2.21 ± 0.25
正常对照组	10	10.68 ± 0.48

*与照射对照组比较t测验: $P < 0.01$

给小白鼠注射环磷酰胺后, 每日皮下注射多糖a 200 mg/kg, 共5日, 也能显著减轻环磷酰胺引起的骨髓抑制, 多糖a组股骨有核细胞数较环磷酰胺对照组(注射环磷酰胺后给与等容量生理盐水作为对照)多77.54%

表3 多糖a对注射环磷酰胺所致小白鼠骨髓抑制的影响

组别	鼠数 (只)	股骨有核细胞数 $\times 10^6$ 个 ($\bar{X} \pm \text{SE}$)
多糖a组	10	$4.18 \pm 0.62^*$
环磷酰胺对照组	10	2.36 ± 0.42
正常对照组	10	8.27 ± 0.71

*与环磷酰胺对照组比较t测验: $P < 0.05$

三、对 ^3H -Leu 掺入血清蛋白质及血清蛋白质含量的影响

连续皮下注射多糖b (100 mg/kg/日) 4日或腹腔注射多糖b 3日(剂量同上, 最后一次改为皮下注射), 分别能使 ^3H -Leu 掺入小白鼠血清蛋白质的放射性强度较对照组增加23.8%和37.5%, 腹腔注射的作用较皮下注射为强。

表4 多糖b对 ^3H -Leu掺入小白鼠血清蛋白质的影响

药物	鼠数 (只)	^3H -Leu 掺入放射性强度 cpm ($\bar{X} \pm \text{SE}$) / 0.02ml血清	增加 (%)
皮下注射	多糖b	$1030 \pm 54^*$	23.8
	生理盐水	832 ± 46	
腹腔注射	多糖b	$1305 \pm 139^{**}$	37.5
	生理盐水	949 ± 68	

与生理盐水对照组比较, t测验: * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$

连续腹腔注射多糖b (100 mg/kg/日), 小白鼠血清蛋白含量 ($\bar{X} \pm SE$) 为 36.00 ± 2.20 mg/ml, 生理盐水对照组为 39.70 ± 2.67 mg/ml, 二者无显著差异。

四、对 3H -Leu 掺入肝脏蛋白质的影响

从表5可见, 每日皮下注射多糖b (200mg/kg), 共给药4日, 能使 3H -Leu 掺入小白鼠肝脏蛋白质明显增加, 给药组掺入的放射性强度较对照组增加13.4%。

表5 多糖b对 3H -Leu掺入小白鼠肝脏蛋白质的影响

药 物	鼠 数 (只)	3H -Leu掺入放射性强度 cpm ($\bar{X} \pm SE$) /100mg肝重	增 加 (%)
多糖b	10	$9574 \pm 296^*$	13.4
生理盐水	10	8446 ± 273	

*与生理盐水组比较, t测验: $P < 0.02$

五、对 3H -UR 掺入肝脏RNA及 3H -TdR 掺入肝脏DNA的影响

如表6及7所示, 每日皮下注射多糖b (200mg/kg), 共注射4日, 能显著增加 3H -UR掺入小白鼠肝脏RNA, 给药组掺入的放射性强度较对照组增加29.4%。但同样剂量的多糖b对 3H -TdR 掺入小白鼠肝脏DNA则几无影响。

表6 多糖b对 3H -UR 掺入小白鼠肝脏RNA的影响

药 物	鼠 数 (只)	3H -UR掺入放射性强度 CPm ($\bar{X} \pm SE$) /100mg肝重	增 加 (%)
多糖b	14	$5201 \pm 458^*$	29.4
生理盐水	14	4019 ± 241	

*与生理盐水组比较, t测验: $P < 0.05$

表7 多糖b对 3H -TdR 掺入小白鼠肝脏DNA的影响

药 物	鼠 数 (只)	3H -TdR 掺入放射性强度 Cpm ($\bar{X} \pm SE$) /100mg肝重	增 加 (%)
多糖b	8	6236 ± 581	2.5
生理盐水	8	6087 ± 822	

讨 论

本文观察了银耳多糖对巨噬细胞吞噬功能的影响以及对理化因素所致骨髓抑制的保护作用, 并首先探讨了银耳多糖对蛋白质、核酸合成的影响, 为在分子水平研究银耳多糖的药理

作用提供了初步根据。

银耳多糖能增强小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红血球的能力,使吞噬百分率及吞噬指数均显著增加,说明银耳多糖能激活巨噬细胞,并提高其吞噬功能。巨噬细胞吞噬活力增强,不仅能提高机体的非特异性免疫能力,还能增强机体在抗原刺激下产生特异性免疫的能力,这对一些免疫缺陷性疾病,特别是肿瘤的治疗是非常重要的。日本学者 Ukai 等曾报告,从日本和中国产银耳子实体中提出的酸性异多糖能抑制小鼠S—180肉瘤生长,并推测其抗肿瘤作用机制是通过增强机体的抗肿瘤免疫能力间接抑制肿瘤生长〔1〕。本实验结果提示,银耳多糖增强巨噬细胞吞噬功能可能是其增强机体抗肿瘤免疫能力的一个重要方面。

银耳多糖能显著减轻 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射或注射环磷酰胺引起的小白鼠骨髓有核细胞减少,表明银耳多糖能减轻理化因素对骨髓造血组织的损伤,促进骨髓的造血机能。由于骨髓不仅是造血器官,还是中枢免疫器官之一,参与制造T和B淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞,因此银耳多糖对骨髓的保护作用亦与其免疫增强作用有关。

银耳多糖的抗肿瘤作用及对理化因素所致骨髓抑制的保护作用均指出,在肿瘤的放射治疗和化学治疗时,并用此药,可抑制肿瘤生长并提高机体对放射治疗和化学治疗的耐受性。银耳多糖对理化因素引起的白细胞减少症等血液疾病亦可能有一定价值。

银耳多糖多次给药能显著增加 ^3H —Leu 掺入血清蛋白质的速度,但对血清蛋白含量无明显影响,这与我们用银耳孢子多糖和 Shibata 等用人参皂甙Rb₁及Rc所获结果类似〔9、10〕,可能是由于银耳多糖增加血清蛋白更新率(Turn-Over rate)所致。血清蛋白是在肝脏合成的,其更新速度加快反映肝脏蛋白质合成能力增强。银耳多糖使 ^3H —Leu 掺入肝脏蛋白质的速度增加,表明银耳多糖能促进肝脏蛋白质合成。而银耳多糖加速 ^3H —UR 掺入肝脏RNA,但不加速 ^3H —TdR 掺入肝脏DNA,说明它能促进转录过程,加速RNA合成,但对DNA合成几无影响。可见促进转录和加速RNA合成是银耳多糖促进蛋白质合成的主要作用环节。

肝脏是参与机体生物合成和物质代谢的重要器官,具有多种多样的功能。蛋白质、核酸是肝脏结构和功能的基础,促进蛋白质、核酸的合成将有助于提高肝脏的功能。还可以推测,银耳多糖对蛋白质、核酸合成的影响不会只限于肝脏,银耳多糖对其它器官,组织的蛋白质、核酸合成亦可能有较多影响,值得深入研究。

结 论

银耳多糖能增强小白鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能,具有免疫增强作用。对 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射或注射环磷酰胺所致骨髓抑制具有保护作用,表明其能兴奋骨髓造血机能。

银耳多糖能促进 ^3H —Leu 掺入小白鼠血清蛋白质和肝脏蛋白质,还能促进 ^3H —UR 掺入肝脏RNA,但对 ^3H —TdR 掺入肝脏DNA几无影响,说明银耳多糖能促进肝脏合成蛋白质的功能,其促进蛋白质合成的主要作用环节是促进转录过程,增加RNA合成。

参 考 文 献

1. Ukai S et al: Chem Pharm Bull 20(10): 2293, 1972.
2. 沈阳医学院附属二院检验科: 医学研究(4): 41, 1975.

3. 徐承熊等: 放射医学(2): 9, 1978.
4. 张蕴芬等: 北京医学院学报11(2): 114, 1979.
5. 林志彬等: 科学通报25(4): 187, 1980.
6. 丛铮等: 北京医学院学报12(3): 209, 1980.
7. Oura H et al: Chem Pharm Bull 20(5): 980, 1972.
8. Lowry O H et al: J Biol Chem 193(1): 265, 1951.
9. 林志彬等: 北京医学院学报, 14(1): 14, 1982.
10. Shibata Y et al: Chem Pharm Bull 24(11): 2818, 1976.

银耳孢子多糖对血清蛋白质合成的影响

林志彬 孙曼琴 焦 柯

(北京医学院药理教研室)

银耳孢子多糖是银耳(白木耳)孢子所含主要有效成分,具有广泛的药理作用。我们和其它学者的研究曾证明:银耳孢子多糖能增强小白鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能,使正常小白鼠脾脏重量增加,还能对抗环磷酰胺引起的脾脏萎缩作用,说明银耳孢子多糖具有免疫增强作用。银耳孢子多糖还具有抗炎作用 and 抗放射作用,并能抑制小白鼠S—180肉瘤(1~8)。蛋白质、核酸的合成与代谢和机体的结构与功能密切相关,银耳孢子多糖对蛋白质、核酸的合成与代谢的影响可能是其上述药理作用在分子水平的表现,目前尚未见到国内外有关这方面工作的报道。本文简报银耳孢子多糖对小白鼠血清蛋白质合成的影响。

材 料 与 方 法

银耳孢子半纯多糖(以下简称多糖B)由福建三明真菌研究所提供。系由深层发酵培养的银耳(*Tremella fuciformis* Berk)孢子中提得,是一种酸性异多糖,其组成中含有木糖、甘露糖、岩藻糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸等,易溶于热水,实验时用生理盐水稀释。

DL-(4, 5-³H)亮氨酸为中国科学院上海原子核所生产,放射比度为54Ci/mM,浓度为1 mCi/ml。用无菌生理盐水稀释成40 μ Ci/ml,贮于冰箱备用。

闪烁液配方: 2,5-二苯基噁唑3.0g、1,4-双-[5-苯基噁唑基-2]苯0.5g、茶60.0g、二氧六环500ml。

³H-亮氨酸掺入血清蛋白质方法:取14—16g昆明种小白鼠按我室改良的Oura氏方法(4, 5)进行实验。掺入实验前小白鼠禁食14小时,不限饮水。末次给药后1小时,每鼠腹腔注射³H-亮氨酸4 μ Ci/10g体重,4小时后断头取血,在室温下自然凝血后,离心分离血清。取0.1ml血清经10%三氯醋酸洗涤二次,1:1醇醚混合液洗涤一次后,加0.5ml 188%甲酸,在90℃水浴上消化20分钟,取消消化液0.1ml置闪烁液中,用FJ-353双道液体闪烁计数器测量放射性强度。测量结果经内标准源法进行猝灭校正证明,给药组与对照组计数效率无明显差异,为简便起见放射性强度以cpm表示。

血清蛋白质含量测定方法:按Lowry等报告的Folin-酚法进行实验(6)。

结果与讨论

一、对 ^3H -亮氨酸掺入血清蛋白质的影响

连续皮下注射多糖B 4日或腹腔注射多糖B 3日(最后一次改为皮下注射)均能使 ^3H -亮氨酸掺入小白鼠血清蛋白质的放射性强度明显增加,二种给药途径的作用强度基本类似(见表1)。

表1 多糖B对 ^3H 亮氨酸掺入小鼠血清蛋白质的影响

药 物	鼠 数 (只)	^3H -亮氨酸cpm($\bar{X} \pm \text{SE}$)/0.1ml血清	增加%	P 值
多糖B100mg/kg sc	9	6525 $\pm$ 775	51.4	<0.02
生理盐水10ml/kg sc	9	4310 $\pm$ 305		
多糖B100mg/kg ip	9	7010 $\pm$ 440	47.7	<0.01
生理盐水10ml/kg ip	9	4745 $\pm$ 440		

二、对血清蛋白含量的影响

表2 多糖B对小白鼠血清蛋白含量的影响

药 物	鼠 数 (只)	血 清 蛋 白 含 量 (mg/ml) $\bar{X} \pm \text{SE}$	增加%	P 值
多糖B 100mg/kg ip	10	38.20 $\pm$ 1.01	-3.8	>0.05
生理盐水 100ml/kg ip	10	39.70 $\pm$ 2.67		

从表2可见,连续腹腔注射多糖B 5日对小白鼠血清蛋白含量无明显影响。

以上结果指出,连续多次给小白鼠皮下注射或腹腔注射多糖B,能促进 ^3H -亮氨酸掺入小白鼠血清蛋白质,掺入的放射性强度分别较对照组增加51.4%(皮下注射)和47.7%(腹腔注射),但多糖B对小白鼠血清蛋白质含量无明显影响。这与我们用银耳子实体半纯多糖和Shibata等用人参皂甙 R_{51} 及 R_6 所获结果类似(7,8),可能系多糖B增加血清蛋白质的更新率(turn-over rate)所致。血清蛋白质系在肝脏合成,它除参与维持血浆的胶体渗透压之外,尚具有运输和营养作用。血清蛋白质更新速度加快,可能促进这些功能。血清蛋白质更新率增加也反映肝脏合成蛋白质的能力增强,可见多糖B的上述作用与影响肝脏蛋白质、核酸合成有关,值得深入研究。

参 考 文 献

1. 林志彬等: 中医杂志, 22(3): 54, 1981。
2. 杭秉茜等: 真菌试验(药用菌专辑), 6~10页, 福建三明地区真菌研究所, 1980。
3. 赵大明等: 同上, 15~17页。
4. 丛铮等: 北京医学院学报, 12: 209, 1980。
5. Oura H et al: Chem Pharm Bull, 20: 980, 1972。
9. Lowry OH et al: J Biol Chem, 193: 265, 1951。
7. 林志彬等: 中医杂志, 23(5):69,1982。
8. Shibdata Y et al: Chem Pharm Bull, 24: 2818, 1976。

银耳及其多糖化学性质的初步研究

洪震 林树钱 姜闽南

(三明真菌研究所)

【提要】本文叙述了银耳子实体中几种成分的含量。银耳耳根粉的化学成分预试。银耳多糖的提取及其纯制以及多糖的理化性质、含量测定等。

银耳蜜环菌片的研制工作已经取得成效。鉴于银蜜片中的成份之一——银耳耳根粉的主要有效成份是银耳多糖, 因而对多糖的理化性质等进行了初步研究。

(一) 银耳子实体化学成分的含量测定

银耳子实体粉末进行了几种成分含量测定, 结果如下:

项 目	水	粗 蛋 白	粗 脂 肪	碳水化合物	灰 分
含量(%) [*]	13.60	6.26	3.77	70.10	6.28

^{*} 以绝对干计算。

银耳蛋白质中含有17种氨基酸; 亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、酪氨酸、脯氨酸、精氨酸、赖氨酸、丙氨酸、苏氨酸、甘氨酸、丝氨酸、天门冬氨酸、胱氨酸、组氨酸、蛋氨酸。

(二) 银耳耳根粉的化学成分预试

由于银蜜片中采用较高级的银耳耳根粉, 因而用这原料进行化学成分预试, 结果如下:

预检成分	提 取 溶	试 剂 和 方 法	反 应	成分有无
酚性物质	酸性乙醇	三氯化铁 重氮化	不 明 显 明显红色反应	有
有 机 酸	水	酸 度 计	PH4.2~4.4	有
生 物 碱	酸性乙醇	硅 钨 酸 碘化铋钾 碘化汞钾	淡黄沉淀微 淡黄沉淀 微量沉淀	少 量
氨基酸、多 肽、蛋白质	冷 水	双缩脲反应 茚 三 酮 米 隆	无 无 白色沉淀	少 量
糖	热 水	费 林 α -萘酚	无 紫红色环产生	有
多 糖	热 水	水解后加 费林试剂	多量红色氧化亚铜沉淀	有
皂 甙	热 水	泡沫试验	无	/
鞣 质	热 水	氯化钠 白明胶	无	/
黄酮及其甙类	甲 醇	盐酸-锌粉 20%氢氧化钠	无 淡黄色沉淀	少 量
蒽醌及其甙类	甲 醇	醋 酸 镁	白色沉淀	/
强 心 甙	甲 醇	3.5-二硝基 苯甲酸 碱性苦味酸	无 无	/

进行10种成分的成分预试结果，初步认为银耳耳根粉中有多糖、有机酸、酚性物质及少量蛋白质、生物碱和黄酮类及其甙类物质。

(三) 银耳多糖的提取和纯化

以较高级的银耳耳根粉为原料进行提取。取该粉加50倍量水蒸煮4小时，离心（3500r.p.m. 20分钟）之后渣用10倍量水续煮4小时，同法离心，弃渣。合并上清液、薄膜浓缩，后置沸水浴上继续浓缩至微粘稠为止。加90—95%酒精至含醇量为80%，静置后滤取沉淀、烘干、粉碎之后得银耳多糖粗品，得率为20—25%。

取银耳多糖粗品10g溶于15ml水中，用Sevag法去蛋白，脱去蛋白液流水透析48小时，透析液离心去沉淀，上清液水浴浓缩之后依上法用乙醇沉析得银耳多糖半纯品。得率为粗品的50—60%。

取银耳多糖半纯品1g溶于100ml水中，加2%十六烷基三甲基溴化铵（CTAB）至不再产生白色沉淀为止。静置数小时后离心，去上清液，沉淀用热水洗2次，离心去清液，沉淀加100ml 2M氯化钠60℃水浴解离3—4小时，解离后离心去沉淀，清液流水透析8—12小时，透析液浓缩之后依上法用乙醇沉析得银耳多糖纯品。得率为半纯品的60—70%。

(四) 银耳多糖的理化性质

(1) 性状

精制的银耳多糖为白色粉末。难溶于冷水，溶于热水，其水溶液略呈黄色；不溶于乙醇、乙醚等有机溶剂。能和CTAB络合。能和苯酚反应，溶液显橙黄色。

(2) 干燥失重

取银耳多糖粉，80℃干燥至恒重，减失重量在8—10%范围内。

(3) 炭分

取银耳多糖粉，灼至恒重，残渣含量在2%左右。

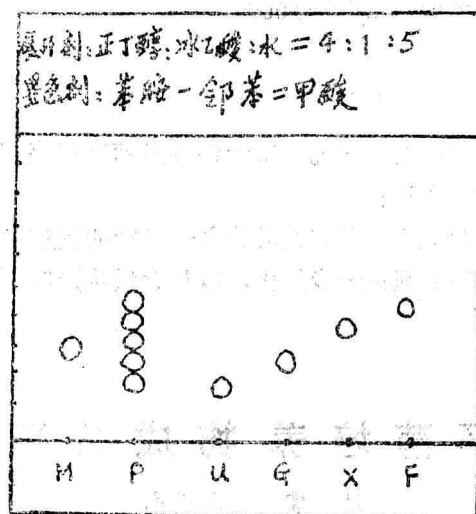
(4) 鉴别

取多糖纯品1g溶于100ml水中。取1ml加入新配制的碱性酒石酸铜试剂5滴，在沸水浴中加热5分钟，应不产生氧化亚铜沉淀。另取1ml多糖液，加入1ml 10%盐酸，在沸水浴中加热15分钟使之水解，冷却后用40%氢氧化钠调至中性，然后加入5滴新配制的碱性酒石酸铜试剂，在沸水浴中加热5分钟，应出现氧化亚铜沉淀。

取0.1%的粗多糖、多糖半纯品及纯品各1毫升，加1滴米隆试剂。粗多糖及多糖半纯品均出现混浊、多糖纯品应依旧澄清透明，说明纯品中不含有蛋白质。

(5) 银耳多糖中的单糖组成

将2%银耳多糖纯品用酸水解后，再中和至中性。又取甘露糖（M）、葡萄糖醛酸（U）、葡萄糖（G）、木糖（X）、岩藻糖（F）配成2%浓度溶液。精取银耳多糖水解液40μl，余各糖各取5μl，用Whatman No.1滤纸层析，室温展开6.5小时，显色后斑点位置见图一。



图一 多糖水解物的纸层析

从图一看出

糖	甘 露 糖	木 糖	岩 藻 糖	葡 萄 糖	葡萄糖醛酸
Rf值	0.29	0.33	0.42	0.23	0.15

银耳多糖水解物显示出 5 个斑点, 除葡萄糖较不明显外余皆较明显, 这显示出银耳多糖的水解物中含有葡萄糖、甘露糖、木糖、岩藻糖和葡萄糖醛酸。

(五) 银耳多糖含糖量的测定

银耳多糖和经过精制的 80% 苯酚水溶液反应, 溶液呈橙黄色且颜色稳定。在低浓度时其透光率与含糖量成正比, 符合比耳定律。由于用此法多糖可不经水解直接测定含糖量, 其方法简便、精确。

(1) 标准曲线的绘制

精称干燥至恒重的葡萄糖 0.01 g, 溶于 100 ml 水中。再稀释为每毫升含糖量为 5Y、10Y、15Y、20Y、25Y、30Y 的 6 种浓度, 并以蒸馏水液为标准。上述 7 种溶液分别精取 2 ml, 各准确加入 0.05 ml 80% 苯酚液, 再分别冲入 5 ml 98% 浓硫酸液 (对着液面冲入), 盖上塞子, 静置几分钟, 振摇之后再放在 25℃—30℃ 水浴之中 10 分钟。然后用 751 分光光度计在波长 490 nm 处测其透光率。用浓度表示横坐标、透光率为纵坐标绘制标准曲线。

(2) 含糖量的测定

精取银耳多糖 0.005g, 加水 50 ml, 并配制含量为 10Y、15Y 二种溶液。精取这二种溶液各 2 ml, 依按上法加入试剂并测其透光率。从标准曲线上查得其实际含糖 Y 值。则可依下述公式求得其含糖百分数。

$$\text{含糖百分数} = \frac{\text{查曲线所得}\gamma\text{值}}{\text{样 品}\gamma\text{值}} \times 100\%$$

(五) 讨 论

本文为银耳及其多糖化学的初步研究。鉴于银耳多糖有提高机体免疫功能的作用，对于其化学的研究工作今后还须深入进行。

本文为银蜜片的寻找有效成份；对有效成分之一多糖的提取分离、鉴别、含量测定等提出了方法。有关这些方法今后亦须进一步简化，以利大量生产时便于进行。

参考文献（略）

蜜 环 菌 培 养 物 成 分 预 试

洪 震 姜 闽 南

（三明真菌研究所）

有关蜜环菌〔*Armillariella mellea* (Vahl ex Fr) karst.〕的临床疗效，发酵培养等已有报导。天麻蜜环菌片多年来临床疗效较好，但其有效成分至今尚未确定。为此，特对发酵后的蜜环菌粉进行成分预试工作，共检查11种成分，检出4种成分，还有4种成分含量很少，报告如下：

预 检 成 分	提 取 液	试 剂	反 应	成分有无
酚 性 物 质	酸 性 乙 醇	三氯化铁乙醇 重氮化试剂	有紫色反应，久后产生沉淀 十分明显的红色反应	有 有
有 机 酸	水	酸 度 计	pH4.1~4.4	有
生 物 硷	酸 性 乙 醇	硅 钨 酸 碘化铋钾 碘化汞钾	产生明显淡黄色沉淀 产生明显淡黄色沉淀 产生明显浅色沉淀	有 有 有
氨基酸、多肽 蛋 白 质	冷 水	茚 三 酮 millon	无反应 采用热水提取液反应较明显	无 微 量
糖	热 水	费 林 α -萘酚	/ 紫红色环的产生十分明显	微 量 有
多 糖	热 水	水解后加费林试剂	棕红色氧化亚铜 沉淀产生	有

预 价 成 分	提 取 液	试 剂	反 应	成分有无
皂 甙	热 水	泡 沫 试 验 加酸硷后的泡沫	产生泡沫但10分钟后余少量 酸管的泡沫高于硷管	微 量 /
鞣 质	热 水	氯化钠白明胶	无反应	无
黄酮或其甙类	甲 醇	盐酸 锌粉	无反应	无
蒽醌或其甙类	甲 醇	醋酸镁	产生白色沉淀	无
强 心 甙	甲 醇	3,5一二硝基苯甲酸 硷性苦味酸	微弱紫色环产生 产生浅色沉淀	微 量 无

初步认为在固体发酵的蜜环菌粉中含有酚性物质，有机酸、生物硷和多糖；还含有少量蛋白质、糖、皂甙和强心甙。

主要参考文献

1. 林树钱等：真菌试验(医药专辑)，1979。
2. 中国医学科学院药物研究所：中草药有效成分的研究，人民卫生出版社，1972
3. 厦门大学生物系：化学实验基本方法，1979。

虫草〔*Cordyceps sinensis*(Berk)Sacc.〕的研究

1:生境考察和形态学*

肖生荣 施至用

陈庆涛

(福建省清流县医院) (中国科学院微生物研究所)

冬虫夏草又名夏草冬虫、虫草等，隶属于真菌门(Eumycota)子囊菌纲(Ascomycetes)肉座菌目(Hypocreales)麦角菌科(Claviceptaceae)虫草属〔*Cordyceps* (Fr.) Lk.〕学名为虫草〔*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.〕药用部分是它的子座和寄主〔鳞翅目(Lepidoptera)蝙蝠蛾科(Hepialusidae)昆虫如虫草蝙蝠蛾(*Hepialus armoricanus* Obertheir)(2)(4)(6)等的幼虫虫体的复合物。具有益肺肾，补精髓，止血化痰的功效，是滋补强壮剂(1)(3)。近来报道尚有对离体兔心作用时，使冠脉血流量有明

*福建省清流县医学科学研究所范维忠同志参加部分研究工作。中国科学院微生物研究所韩树金同志协助鉴定部分植被标本学名。

显增加，对细胞分裂有抑制作用，是具有强心作用和有抗癌苗头的药物，为我国名贵药材之一。产地为我国西藏、四川、青海、云南的高原地区。目前国内外市场虫草奇缺，药源十分紧缺。如能进行人工栽培，或用虫草菌的发酵物代替虫草，对发展生产，增进人民身体健康，增加外贸出口额，为国家积累建设资金，都具有重要意义和价值。

为此，我们于1979年5——7月和1980年4——6月，两次到四川省康定县进行实地采集考察。以康定的狮子崖（海拔3650米~4000米）为中心，同时考察了附近的骡马场（海拔4000~4200米），元宝山（海拔4100~4250米）和康定县塔公区的龙古公社草甸山坡（海拔3900~4100米）。观察虫草生态环境和个体发育习性，采集标本，和分离菌种。在考察期间，走访汉、藏等族药农。本文记述虫草的生境考察和形态特征。

四川省康定系炉草的集散地。所产虫草种纯质佳，驰名国内外（4）。狮子崖为康定冬虫夏草主要产区。

狮子崖是四面环山的高原牧场。考察期间，当地气候多变，时晴时雨，傍晚或夜间常雨中带雪。日气温是 $0^{\circ}\sim 23^{\circ}\text{C}$ ，20厘米深处的地温是 $5\sim 7.5^{\circ}\text{C}$ ，空气相对湿度 $50\%\sim 70\%$ ，土壤湿度 $40\%\sim 60\%$ 。牧场为草甸山坡，表土层为黑色腐殖质潮湿的土壤，表层下的土层深厚，其中密布各种须状草根。低洼处，小叶杜鹃（*Rhododendron micrsphyton* Franch）、金老梅〔*Dasiphora fruticosa* (L.) Rydb.〕、小檗（*Berberis* Spp.）等小灌木生长较为茂密，周围土丘也有零星小灌木。虫草生长季节，牧草并不十分茂盛，植被高只有3~5厘米，很少超过10厘米。

虫草生长条件要求较严格，分布在一定的海拔线界限，其下限为3000米，上限为雪线以下。散生在具有腐殖质，潮湿深厚土壤的草本植物丛中，植被为头花蓼（*Polygonum capitatum* Ham.）、珠芽蓼（*P. viviparum* L.）、川贝母（*Fritillaria roylei* Hook.）、小大黄（*Rheum pumilum* Maxim.）、耧斗菜（*Aquilegia* Sp.）、龙胆（*Gentiana* Sp.）、蟹甲草（*Cacalia* Sp.）、康定乌头〔*Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf〕等。在阳光充足，排水良好的上述植被丛中，易于采到虫草。零星小灌木下的草丛中也有虫草生长。树林、茂密的灌木、风化石、流沙地、积水地等生境因条件不适，不生或罕见虫草。虫草的采收季节一般是在立夏到夏至。海拔较低的地段，因气候较高，虫草生长较早。海拔较高处，气温低，虫草生长较迟。如康定狮子崖，低处的地段（3450米以下），四月下旬就有虫草出现，五月底就找不到了。而在高处地段（海拔3800米左右），正是虫草的盛产季节。在此同时，海拔4000米以上的骡马场和元宝山，虫草才开始出现。据说四川省新龙县、理塘县高海拔地段，八月份还可以挖到虫草。雨雪对虫草生长影响颇大。1979年6月7日，我们在塔公区龙古公社采标本时，因当地久旱，牧草干枯，8人（内有药农3人）3天内只挖15棵虫草。

虫草僵虫即所谓“虫”，其头部生长的子座即所谓“草”。“草”露出地面3~4厘米，僵虫埋于土中离地面3~5厘米处，与地面成 $60\sim 80^{\circ}$ 角度，用小锄头挖10厘米左右的深度，即可将虫草掘起。僵虫表层裹有泥土和菌丝体的混合物，即所谓“膜皮”。剥去“膜皮”，僵虫表面呈米黄色至棕黄色，带有短细黄色菌丝体。僵虫体长3~5厘米，粗0.3~0.6厘米，外表完整无缺，背部有横皱纹。腹面有足8对，位于虫体中部的4对明显易见。横断面内心充实，色白，中心可见界以黑线的消化道残痕。子座从僵虫头部