

冬虫夏草及其混淆品 HPLC 指纹图谱研究及共有成分鉴定

黄彪¹, 程元柳¹, 曹秀君¹, 李阳¹, 陈蓉¹, 曹静¹, 彭成¹, 万德光¹, 沈才洪², 国锦琳^{1,2*}

1. 成都中医药大学 中药材标准化教育部重点实验室 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

2. 泸州老窖博士后科研工作站, 四川 泸州 646606

摘要: 目的 建立冬虫夏草水溶性成分的 HPLC 指纹图谱方法, 为冬虫夏草的真伪鉴别及质量评价提供依据。方法 采用 HPLC 法建立冬虫夏草及其主要混淆品(凉山虫草、古尼虫草、蛹虫草)水溶性成分的指纹图谱, 标记了 16 个共有峰, 并通过超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱(UPLC/Q-TOF-MS)技术对指纹图谱中 16 个共有峰进行鉴定。结果 建立了冬虫夏草水溶性成分的 HPLC 指纹图谱方法, 该方法能区分冬虫夏草及其混淆品, 鉴定出其中 12 个共有峰, 分别为胞嘧啶、尿嘧啶、胞苷、次黄嘌呤+鸟嘌呤、尿苷、胸腺嘧啶、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷和虫草素。结论 该方法简便易行, 为冬虫夏草的真伪鉴别提供了科学依据。

关键词: 冬虫夏草; 凉山虫草; 古尼虫草; 蛹虫草; 指纹图谱; UPLC/Q-TOF-MS; 真伪鉴别

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)05-0991-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.05.025

HPLC fingerprint of *Cordyceps sinensis* and its confused species and identification of common composition

HUANG Biao¹, CHENG Yuan-liu¹, CAO Xiu-jun¹, LI Yang¹, CHEN Rong¹, CAO Jing¹, PENG Cheng¹, WAN De-guang¹, SHEN Cai-hong², GUO Jin-lin^{1,2}

1. Chengdu University of TCM, Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory Breeding Base of System Research and Development and utilization of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Luzhoulaojiao Postdoctoral Workstation, Luzhou 646606, China

Abstract: **Objective** To establish an HPLC fingerprint method for water-soluble components in *Cordyceps sinensis* which could provide the basis for authenticity identification and quality evaluation of *C. sinensis*. **Methods** HPLC method was adopted to construct the fingerprint of water soluble components in *C. sinensis* and its main confused species (*C. liangshanensis*, *C. gunnii* and artificial *C. militaris*). Total 16 common peaks were marked, and 12 common peaks were confirmed by the method with tandem high performance liquid chromatography (HPLC) and quadrupole time-of-flight mass spectrometry (Q-TOF MS). **Results** The common mode of HPLC fingerprint for *C. sinensis* was developed. The method could distinguish between *C. sinensis* and its confused species, and 12 common peaks were identified, including cytosine, uracil, cytidine, hypoxanthine + guanine, uridine, thymine, adenine, inosine, guanosine, thymidine, adenosine, and cordycepin respectively. **Conclusion** This method is simple and easy, providing scientific basis for identification of *C. sinensis*.

Key words: *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.; *Cordyceps liangshanensis*; *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk.; *Cordyceps militaris* (L.) Link; fingerprint; UPLC/Q-TOF-MS; authenticity identification

冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 是冬虫夏草菌寄生在鳞翅目蝙蝠蛾科幼虫或幼虫尸体形成的干燥复合体^[1], 与鹿茸、人参合称为我国三大

补品, 具有补肺益肾、止血化痰、止咳定喘之功效。现代药理研究表明, 冬虫夏草提取物具有调节免疫、调血脂、抗肿瘤、抗菌、抗疲劳、抗肝纤维化^[2]等

收稿日期: 2016-10-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81373920, 30801522); 四川省中医药管理局资助(051183, 2016ZY003); 四川省科技支撑计划资助(14ZC0615, 2014SZ0217); 成都市科技计划资助(2015-HM01-00205-SF)

作者简介: 黄彪(1991—), 男, 在读硕士, 研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: 370808557@qq.com

*通信作者 国锦琳, 男, 教授, 研究方向为名贵中药资源与鉴定。E-mail: guo596@cdutcm.edu.cn

多种效用,涉及免疫系统、心血管系统、新陈代谢等各个方面^[3-7]。冬虫夏草在我国主要分布于青藏高原地区^[8],海拔高度 2 800 m 以上的高寒草甸和灌木地带为冬虫夏草的集中分布区域^[9-10]。目前市场上冬虫夏草混淆品较多,且多为虫草属近缘种,与正品冬虫夏草相似度高,现有《中国药典》定量要求难以进行有效鉴别,严重影响了临床用药的安全。有必要对冬虫夏草及其混淆品种所含的化学成分进行对比研究,以制定更适合冬虫夏草的质量控制标准^[11-13]。

HPLC 指纹图谱是近年来研究的热点,指纹图谱可以比较全面地反映中药所含化学成分的数量和种类,是国内外广泛接受的一种中药质量评价模式。王冰等^[14]研究了冬虫夏草的指纹图谱,并用对照品指认了鸟苷、尿苷、肌苷、腺苷 4 个共有峰;赖宇红等^[15]建立了西藏不同产区冬虫夏草水提液的高效液相色谱指纹图谱,指认出尿苷、肌苷、鸟苷、

胸苷、腺苷、2-脱氧核苷 6 个特征成分。这些报道侧重于核苷类的指纹图谱建立,共有成分的鉴定采用对照品比对法,由于核苷类组分相似度较高,可能存在准确性的问题。目前应用高分辨串联质谱技术进行定性鉴定还鲜有研究报道。本研究针对以上局限,结合液质联用技术,选择多个产地多个批次的冬虫夏草及其常见混淆品种进行实验,建立冬虫夏草及其主要混淆品水溶性成分的指纹图谱,对其进行相似度评价和聚类分析,标定共有峰。进而利用四级杆飞行时间质谱鉴定共有峰的化学结构,为冬虫夏草的真伪鉴别提供科学依据。

1 材料、试剂与仪器

1.1 材料

样品为定点采购于西藏、青海、四川、甘肃、云南、尼泊尔等地的多个冬虫夏草基原品种与混淆品种,见表 1。经国锦琳教授鉴定均留样保存于成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室。

表 1 样品信息
Table 1 Sample information

样品批号	品种	地区	采集地	采集时间
DCXC01	冬虫夏草 <i>Cordyceps sinensis</i>	西藏	林芝	2012-05
DCXC02			林芝	2013-05
DCXC03			那曲	2012-05
DCXC04			那曲	2013-05
DCXC05			那曲	2014-06
DCXC06		青海	黄南州	2012-05
DCXC07			黄南州	2013-05
DCXC08			黄南州	2014-06
DCXC09		四川	甘孜州康定县	2009-05
DCXC10			甘孜州康定县	2012-05
DCXC11			甘孜州康定县	2013-06
DCXC12			甘孜州康定县	2014-06
DCXC13			甘孜州雅江县	2012-05
DCXC14			甘孜州雅江县	2013-05
DCXC15			甘孜州雅江县	2014-06
DCXC16			甘孜州理塘县	2012-05
DCXC17			甘孜州理塘县	2013-05
DCXC18			甘孜州理塘县	2014-06
DCXC19	凉山虫草 <i>Cordyceps liangshanensis</i>	甘肃	甘南	2012-05
DCXC20			甘南	2013-05
DCXC21			甘南	2014-06
DCXC22		云南	丽江	2013-05
DCXC23			丽江	2014-06
DCXC24		尼泊尔		2013-05
DCXC25				2014-06
DCXC26		四川	凉山	2013-05
DCXC27			凉山	2014-06
DCXC28	古尼虫草 <i>Cordyceps gunnii</i>	云南	丽江	2009-04
DCXC29			丽江	2014-06
DCXC30	人工蛹虫草 <i>Cordyceps militaris</i>	福建		2013-05
DCXC31				2014-06

1.2 试剂

磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、甲酸为分析纯,购于成都市科龙化工试剂厂;乙腈、甲醇为色谱纯(美国 Fisher 公司);Millipore 超纯水。胞嘧啶、尿嘧啶、胞苷、次黄嘌呤、鸟嘌呤、尿苷、胸腺嘧啶、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷、虫草素对照品购于中国食品药品检定研究院(质量分数 $\geq 98\%$)。

1.3 仪器

Agilent1200 型高效液相色谱仪配 DAD 二极管阵列检测器;Agilent 1290 超高效液相色谱仪,Agilent6530 型四级杆飞行时间质谱仪配电喷雾源;色谱柱:GL WondaSil C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),AgilentZorbax SB-C₁₈ (100 mm $\times$ 4.6 mm, 1.8 μ m);AllegraX-22R 型冷冻离心机(德国 Beckman 公司);SHB-III 型循环水式真空泵(郑州常成科工贸有限公司);SB2200 型超声机(上海 Branson 公司);Quintix224-1CN 型万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)。

2 方法

2.1 对照品溶液的制备

精密称取胸腺嘧啶 0.48 mg、胞苷 0.59 mg、腺苷 0.68 mg、鸟苷 0.42 mg、尿苷 0.53 mg、鸟嘌呤 0.43 mg、虫草素 0.55 mg、尿嘧啶 0.47 mg、肌苷 0.46 mg、胸苷 0.50 mg、胞嘧啶 0.46 mg、次黄嘌呤 0.50 mg、腺嘌呤 0.49 mg 于 25 mL 量瓶中,加入 20% 甲醇制刻度,制成含胸腺嘧啶 19.2 μ g/mL、胞苷 23.6 μ g/mL、腺苷 27.2 μ g/mL、鸟苷 16.8 μ g/mL、尿苷 21.2 μ g/mL、鸟嘌呤 17.2 μ g/mL、虫草素 22.0 μ g/mL、尿嘧啶 18.8 μ g/mL、肌苷 18.4 μ g/mL、胸苷 0.20 μ g/mL、胞嘧啶 18.4 μ g/mL、次黄嘌呤 0.20 μ g/mL、腺嘌呤 19.6 μ g/mL 的混合对照品溶液,用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后置于进样瓶中,即得。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取样品药材粉末 0.5 g 置于 50 mL 锥形瓶中,加入 20% 甲醇溶液 20 mL,超声提取 30 min,转移至 50 mL 离心管中 5 000 r/min 离心 5 min,取上清液,0.22 μ m 微孔滤膜滤过,置于样品瓶中,即得供试品溶液。

2.3 色谱及质谱条件

2.3.1 色谱条件 GL WondaSil C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);检测波长 260 nm;柱温 25 $^{\circ}$ C;体积流量 0.8 mL/min;进样量 20 μ L;检测时间 60 min;以乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相;

梯度洗脱,0~10 min, 2%~6% A; 20~25 min, 6%~8% A; 25~35 min, 8%~15% A; 35~60 min, 15%~60% A。

2.3.2 UPLC/Q-TOF-MS 条件 UPLC 条件:色谱柱,AgilentZorbax SB-C₁₈ (100 mm $\times$ 4.6 mm, 1.8 μ m);检测波长 260 nm;柱温 25 $^{\circ}$ C;体积流量 0.8 mL/min;进样量 20 μ L;检测时间 60 min。流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B);梯度洗脱,0~10 min, 2%~6% A; 10~25 min, 6%~8% A; 25~35 min, 8%~15% A; 35~60 min, 15%~60% A。ESI 离子源,气体温度 325 $^{\circ}$ C;干燥气体积流量 5 mL/min;雾化压力 137.9 kPa;毛细管电压 3 500 V;喷雾电压 2 000 V;鞘流气温度 325 $^{\circ}$ C;鞘流气体积流量 7.5 mL/min。

3 结果与分析

3.1 指纹图谱方法学考察

3.1.1 重复性试验 取同一批号样品(DCXC03)按照“2.2”项下条件制备供试品溶液,平行制备 6 份,按“2.3.1”项条件测定,记录色谱图。6 张谱图经国家药典委员会的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》操作规范计算,相似度不小于 0.999,各主要色谱峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值分别小于 0.2%和 1.5%。

3.1.2 稳定性试验 取同一批号样品(DCXC03)按照“2.2”项下条件制备供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12 h 注入液相色谱仪,按“2.3.1”项条件测定,记录色谱图。5 张谱图经国家药典委员会的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》操作规范计算,相似度不小于 0.998,各主要色谱峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 分别小于 0.5%和 2.0%。

3.1.3 精密度试验 取同一批号样品(DCXC03)按照“2.2”项下条件制备供试品溶液,连续进样 6 针,按“2.3.1”项条件测定,记录色谱图。6 张谱图经国家药典委员会的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》操作规范计算,相似度不小于 0.999,各主要色谱峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值分别小于 0.2%和 1.5%。

3.2 HPLC 指纹图谱的建立

取 31 批药材粉末,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下方法检测。将检测结果导入软件《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004A 版),即得 31 批虫草药材 HPLC 指纹图谱(图 1)。

根据指纹图谱整体性原则,把指纹图谱中具有

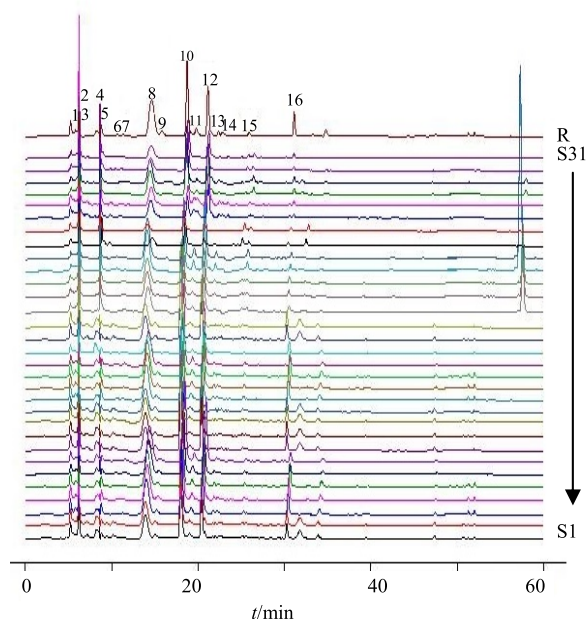


图 1 冬虫夏草及其混淆品 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of *C. sinensis* and its confused species

相同保留时间的色谱峰标定为共有峰。通过比较色谱图, 标定出 16 个峰为各批次虫草药材共有峰(1~16 号峰)。

3.3 指纹图谱结果分析

3.3.1 指纹图谱相似度分析 根据《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004A 版) 计算 31 批次虫草指纹图谱间的相似度。由相似度匹配结果可以看出, 相同产地冬虫夏草间相似度较高, 相似度值均大于 0.8, 不同产地间的冬虫夏草相似度较低, 相似度值在 0.2~0.8, 不同种虫草间相似度也较低, 相似度值均小于 0.5。

3.3.2 指纹图谱聚类分析 以共有峰峰面积数据作为变量, 以欧氏距离作为相似度指标, 利用 IBM SPSS Statistics 19 软件对各批次虫草指纹图谱进行聚类分析, 结果见图 2。

根据结果, 31 批样品可以按照产地和品种聚类。就冬虫夏草而言, 按具体采集地划分时, 相同采集地的冬虫夏草聚为一类且同一类间差异小。按省(自治区)划分时, 四川产冬虫夏草(DCXC09~DCXC18)可基本聚为一类, 西藏产冬虫夏草(DCXC01~DCXC05)可基本聚为一类, 其他各省(自治区)产冬虫夏草可各自聚类, 但各具体采集地的冬虫夏草间存在巨大差异, 云南(DCXC22、DCXC23)、尼泊尔产冬虫夏草(DCXC24、DCXC25)

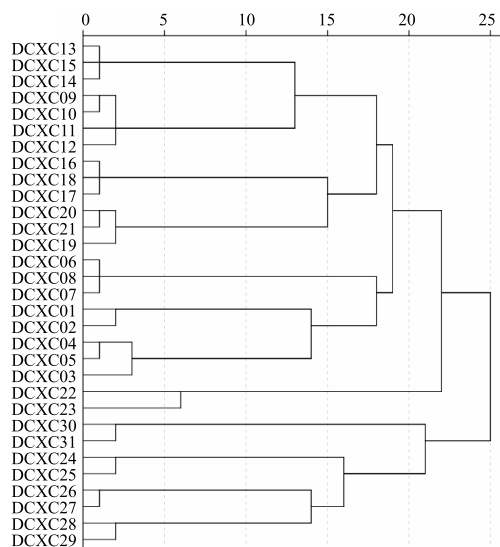


图 2 聚类分析图

Fig. 2 Cluster diagram

与其他采集地的冬虫夏草间差异明显, 这与药材的生长环境和蝙蝠蛾寄主幼虫的多样性有关。就不同种虫草而言, 冬虫夏草(除尼泊尔冬虫夏草)(DCXC01~DCXC23)、尼泊尔冬虫夏草(DCXC24、DCXC25)、凉山虫草(DCXC26、DCXC27)、古尼虫草(DCXC28、DCXC29)、蛹虫草(DCXC30、DCXC31)可各自聚类。聚类分析结果与虫草属真菌分类情况一致, 且符合样品标示的产地情况。

3.4 共有峰的归属

3.4.1 UPLC/TOF-MS 测定 取 DCXC03 药材粉末, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.4.2”项下方法检测。根据共有峰的质谱参数, 结合相关文献, 对指纹图谱中的 16 个共有峰进行了鉴定, 供试品溶液总离子流图见图 3。大致推断出其中的 12 个峰所代表的化合物, 分别是胞嘧啶、尿苷、尿嘧啶、肌苷、胞苷、次黄嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、腺嘌呤、腺苷、胸苷和虫草素, 其中 7 号包含了次黄嘌呤和鸟嘌呤 2 个化合物(表 2)。得到了 5、8、14、15 号峰的分子式, 但由于缺少文献资料, 暂不能确定其所代表的化合物结构。

3.4.2 化合物的结构验证 按照“2.4.2”项下分析条件, 检测对照品溶液, 得到对照品溶液总离子流图(图 4), 提取出各化合物质谱图并确定质谱信息(表 3), 通过对比供试品和对照品的总离子流图中各峰的保留时间和相应化合物的质谱信息, 对已推断出的化合物结构进行验证。DCXC03 供试液总离子流图中, 1、2、3、4、6、9、10、11、12、13、

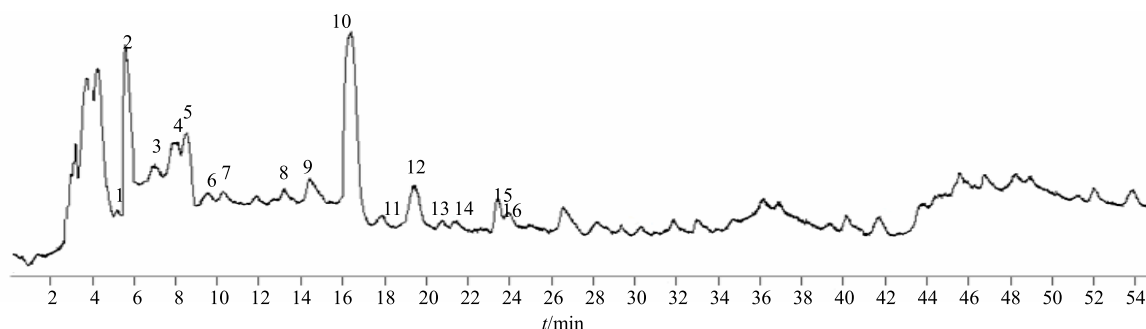


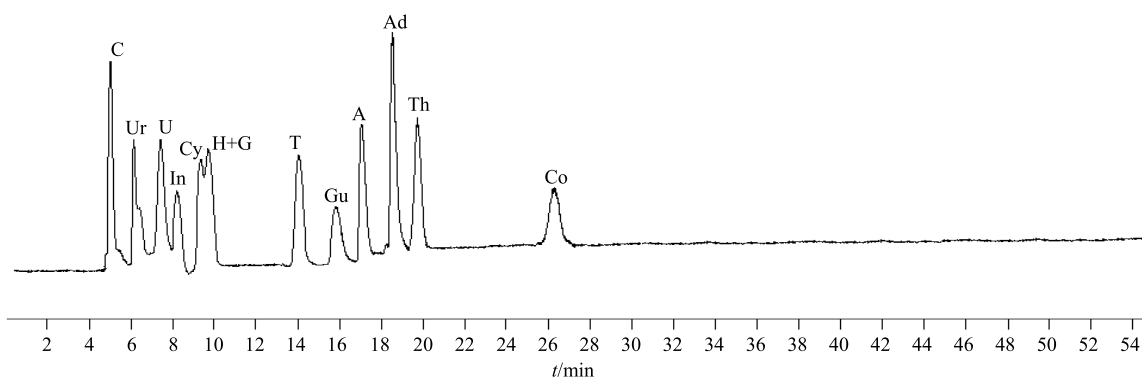
图 3 DCXC03 供试品溶液 UPLC/TOF-MS 总离子流图

Fig. 3 Total ion-current UPLC/TOF-MS chromatogram of DCXC03 test solution

表 2 共有峰的质谱参数及化合物结构推断

Table 2 Mass parameters of common peaks and structure detection

峰号	保留时间/min	$[M+H]^+$ 测定值 (m/z)	相对分子质量	分子式	化合物
1	4.93	112.101 0	111.102 30	$C_4H_5N_3O$	胞嘧啶
2	5.94	245.200 9	244.202 10	$C_9H_{12}N_2O_6$	尿苷
3	6.92	123.085 6	122.089 20	$C_4H_4N_2O_2$	尿嘧啶
4	7.93	269.225 8	268.228 20	$C_{10}H_{12}N_4O_5$	肌苷
5	8.02	189.070 6	188.071 30	$C_8H_{11}O_5$	未知
6	9.01	244.214 2	243.215 80	$C_9H_{13}N_3O_5$	胞苷
7	9.92	137.123 1	136.125 40	$C_5H_4N_4O$	次黄嘌呤
7	9.92	152.123 6	151.124 30	$C_5H_5N_5O$	鸟嘌呤
8	13.06	372.212 2	371.214 60	$C_{23}H_{29}O_4$	未知
9	14.11	126.111 7	126.112 90	$C_5H_6N_2O_2$	胸腺嘧啶
10	15.91	284.241 9	283.243 60	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	鸟苷
11	17.55	136.125 4	135.126 10	$C_5H_5N_5$	腺嘌呤
12	18.66	267.239 6	267.240 10	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	腺苷
13	19.81	243.225 4	242.226 70	$C_{10}H_{14}N_2O_5$	胸苷
14	20.16	566.427 4	565.421 69	$C_{33}H_{57}O_7$	未知
15	23.53	357.300 9	356.301 60	$C_{21}H_{40}O_4$	未知
16	26.24	252.240 6	251.241 10	$C_{10}H_{13}N_5O_3$	虫草素



C-胞嘧啶 Ur-尿苷 U-尿嘧啶 In-肌苷 Cy-胞苷 H-次黄嘌呤 G-鸟嘌呤 T-胸腺嘧啶 Gu-鸟苷 A-腺嘌呤 Ad-腺苷 Th-胸苷 Co-虫草素
C-cytosine Ur-uridine U-uracil In-inosine Cy-cytidine H-hypoxanthine G-guanosine T-thymidine Gu-guanosine A-adenine
Ad-adenosine Th-thymidine Co-codycepine

图 4 对照品 UPLC/TOF-MS 总离子流图

Fig. 4 Total ion-current chromatogram of pharmaceutical standard solution

16 号峰与对照品总离子流图中相应峰的保留时间和分子离子 $[M+H]^+$ 均一致，分别确定为胞嘧啶、尿嘧啶、胞苷、尿苷、胸腺嘧啶、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷和虫草素。7 号峰保留时间为 9.92

min，分子离子为 $[M+H]^+$ (m/z 137.123 1) 和 $[M+H]^+$ (m/z 152.123 6)，为 2 种化合物，分别与次黄嘌呤和鸟嘌呤的保留时间和分子离子一致，确定该峰代表的化合物为次黄嘌呤和鸟嘌呤。

表 3 对照品质谱参数

Table 3 Mass parameters of standards

化合物	保留时间/min	[M+H] ⁺ (m/z)	相对分子质量	分子式
胞嘧啶	4.98	112.036 2	111.102 1	C ₄ H ₅ N ₃ O
尿苷	6.15	245.054 4	244.201 3	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆
尿嘧啶	7.38	123.019 2	122.087 1	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂
肌苷	8.09	269.180 8	268.226 3	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅
胞苷	9.53	244.070 0	243.217 1	C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₅
次黄嘌呤	9.87	137.029 1	136.122 4	C ₅ H ₄ N ₄ O
鸟嘌呤	9.87	152.100 9	151.126 1	C ₅ H ₅ N ₅ O
胸腺嘧啶	13.98	127.033 9	126.113 3	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂
鸟苷	15.86	284.178 1	283.241 4	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅
腺嘌呤	17.13	136.108 2	135.127 2	C ₅ H ₅ N ₅
腺苷	18.72	268.080 9	267.242 3	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄
胸苷	19.74	243.201 4	242.229 1	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅
虫草素	26.22	252.086 8	251.242 3	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₃

4 讨论

本实验分别考察了 50%、20% 甲醇溶液和纯水作为提取溶剂, 20% 甲醇作提取溶剂时效果最佳; 考察了超声提取和回流提取 2 种方法, 供试品在 HPLC 色谱图中出峰数目相当, 采用提取方法更简便的超声提取法。经过比较, 在乙腈-0.1% 甲酸水体系中, 各色谱峰分离效果好且基线平稳; 体积流量为 0.8 mL/min 时, 各色谱峰保留时间适中且分离情况良好; 在波长为 260 nm 检测到的色谱峰较多, 峰面积较大, 反映的信息较全面。

本实验建立了冬虫夏草及其主要混淆品 HPLC 指纹图谱, 生成共有模式图并标示了 16 个共有峰。对不同批次的样品进行相似度评价和聚类分析, 相同产地冬虫夏草相似度在 0.8 以上, 聚类分析结果与虫草属真菌分类情况一致, 且符合样品标示的产地情况。通过 UPLC/Q-TOF-MS 鉴定出其中 12 个共有峰分别为胞嘧啶、尿嘧啶、胞苷、次黄嘌呤+鸟嘌呤、尿苷、胸腺嘧啶、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷和虫草素。

冬虫夏草水溶性指纹图谱中还有明显区别于其他虫草的特有峰, 本课题组下一步将继续完成特有组分结构研究, 该化合物可能为冬虫夏草潜在的指标性化合物, 对正品冬虫夏草的鉴别和质量控制具有重要意义。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 白金霞, 韩晋, 戴领, 等. 基于体外溶出度与抗肝纤维化作用效应动力学的冬虫夏草粉碎度研究 [J]. 中

草药, 2013, 44(20): 2823-2827.

- [3] 胡贤达, 黄雪, 王彪, 等. 冬虫夏草抗肿瘤及免疫调节作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(4): 448-452.
- [4] Wang J, Liu Y M, Cao W, *et al.* Anti-inflammation and antioxidant effect of cordymin, a peptide purified from the medicinal mushroom *Cordyceps sinensis*, in middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia in rats [J]. *Metabolic Brain Disease*, 2012, 27(2): 159-165.
- [5] Yoshikawa N, Yamada S, Takeuchi C, *et al.* Cordycepin (3'-deoxyadenosine) inhibits the growth of B16-BL6 mouse melanoma cells through the stimulation of adenosine A3 receptor followed by glycogen synthase kinase-3 β activation and cyclin D1 suppression [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archiv Pharmacol*, 2008, 377(4/6): 591-595.
- [6] Park E S, Kang D H, Yang M K, *et al.* Cordycepin, 3'-deoxyadenosine, prevents rat hearts from ischemia/reperfusion injury via activation of Akt/GSK-3 β /p70S6K signaling pathway and HO-1 Expression [J]. *Cardiovascular Toxicol*, 2014, 14(1): 1-9.
- [7] Nakav S, Chaimovitz C, Sufaro Y, *et al.* Anti-inflammatory preconditioning by agonists of adenosine A1 receptor [J]. *PLoS One*, 2008, 3(5): e2107.
- [8] Jia J M, Tao H H, Feng B M. Cordyceamides A and B from the culture liquid of cordyceps sinensis (BERK.) SACC [J]. *Chem Pharm Bull*, 2009, 57(1): 99-101.
- [9] 杨大荣, 彭艳琼, 陈吉岳. 我国冬虫夏草分布格局与环境变化对其分布的影响 [J]. 中国草地学报, 2010, 32(5): 6-22.
- [10] 李挺, 宋斌, 王超群, 等. 冬虫夏草促繁地土壤真菌种群结构的变性梯度凝胶电泳技术分析 [J]. 中草药, 2013, 44(4): 478-481.
- [11] 胡清秀, 廖超子, 王欣. 我国冬虫夏草及其资源保护, 开发利用对策 [J]. 中国农业资源与区划, 2005, 26(5): 43-47.
- [12] 元英群, 丁爽, 刘红. 冬虫夏草鉴别方法的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 652-654.
- [13] 程元柳, 邱乙, 彭成, 等. 冬虫夏草资源管理法规探讨 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 449-450.
- [14] 王冰, 李宁, 董婷霞, 等. 冬虫夏草中核苷类成分含量测定及 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2015, 38(5): 952-956.
- [15] 赖宇红, 阮桂平, 谢友莲, 等. 冬虫夏草及其类似品的 HPLC 指纹特征分析 [J]. 中药材, 2008, 31(8): 1142-1145.