

金水宝胶囊生产过程中质量控制方法的建立

张雪婷¹, 钟承赞², 杨明², 陈莎^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所 中药鉴定与安全性评估重点实验室, 北京 100700;
2. 江西国药有限责任公司, 南昌 330052)

[摘要] **目的:** 完善金水宝胶囊生产过程中的质量控制体系, 为该制剂的后续研究与应用提供实验依据。**方法:** 采用高效液相色谱法(HPLC), Ultimate AQ-C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 腺苷、鸟苷、尿苷含量测定的色谱条件为流动相甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~14 min, 100%~99% B; 14~19 min, 99%~89% B; 19~39 min, 89%~85% B), 流速0.4 mL·min⁻¹, 柱温30℃, 进样量10 μL, 检测波长260 nm。麦角甾醇含量测定的色谱条件为流动相甲醇-水(98:2), 流速1 mL·min⁻¹, 柱温25℃, 进样量10 μL, 检测波长283 nm。**结果:** 发酵虫草菌粉不同生产阶段样品的指纹图谱中主要色谱峰差异性较小。腺苷、鸟苷、尿苷的线性关系良好(R^2 均>0.999); 三者的加样回收率分别为106.06%, 101.25%, 105.88%, RSD均<3.0%。于2016—2018年各抽取的20批样品中腺苷、麦角甾醇的含量均符合2015年版《中国药典》的要求, 鸟苷、尿苷的质量分别为0.97~1.36, 0.67~1.38 mg/粒。**结论:** 市面所售金水宝胶囊质量较为稳定。建立的方法可用于检测金水宝胶囊的质量, 且操作简便、稳定可靠, 可为发酵虫草菌粉类产品的检测提供参考。

[关键词] 金水宝胶囊; 发酵虫草菌粉; 腺苷; 鸟苷; 尿苷; 麦角甾醇; 指纹图谱

[中图分类号] R22; R28; R94; O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)04-0139-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191748

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190512.1522.001.html>

[网络出版时间] 2019-05-14 7:01

Establishment of Quality Control Method in Production of Jinshuibao Capsules

ZHANG Xue-ting¹, ZHONG Cheng-zan², YANG Ming², CHEN Sha^{1*}

(1. *Key Laboratory of Identification and Safety Evaluation of Chinese Medicine, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*
2. *Jiangxi Guoyao Co. Ltd., Nanchang 330052, China*)

[Abstract] **Objective:** To improve the quality control system in the production of Jinshuibao capsules, and to provide experimental basis for the follow-up research and application of this preparation. **Method:** High performance liquid chromatography (HPLC) was employed, the analysis was performed on a Ultimate AQ-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm). The chromatographic conditions for the determination of adenosine, guanosine and uridine were as following: mobile phase of methanol-0.1% formic acid aqueous solution for gradient elution, the flow rate of 0.4 mL·min⁻¹, column temperature at 30℃, sample quantity of 10 μL, detection wavelength at 260 nm. The chromatographic conditions for the determination of ergosterol were as follows: mobile phase of methanol-water (98:2), the flow rate of 1 mL·min⁻¹, column temperature at 25℃, sample quantity of 10 μL, detection wavelength at 283 nm. **Result:** The main chromatographic peaks of fermented Cordyceps powder samples in different production stages showed little difference. The linear relationships of adenosine, guanosine and uridine were good ($R^2 > 0.999$), their recoveries were 106.06%, 101.25% and 105.88%, respectively. The

[收稿日期] 20190403(004)

[基金项目] 国家中药标准化项目(ZYB2H-C-JX-39)

[第一作者] 张雪婷, 在读硕士, 从事中药化学研究, E-mail: 17812050789@163.com

[通信作者] * 陈莎, 博士, 副研究员, 从事中药分析研究, Tel: 010-64035275, E-mail: schen@icmm.ac.cn

contents of adenosine and ergosterol in 20 batches of samples extracted from 2016 to 2018 were in line with the requirements in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, the contents of guanosine and uridine were 0.97-1.36, 0.67-1.38 mg/capsule, respectively. **Conclusion:** The quality of Jinshuibao capsules in the market is stable. This method can be used to detect the quality of Jinshuibao capsules, and it is simple, stable and reliable.

[**Key words**] Jinshuibao capsules; fermented Cordyceps powder; adenosine; guanosine; uridine; ergosterol; fingerprint

随着物质水平的不断上升,人们越来越注重养生保健。冬虫夏草为麦角菌科植物真菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的复合体,与人参、鹿茸一起被称为“中药三大宝”^[1]。冬虫夏草功效为补肾益肺、止血化痰,现代研究证实其次生代谢产物具有双向免疫调节^[2]、抗肿瘤^[3]、抗糖尿病肾病^[4]、抗氧化抗衰老^[5]、抑制肝纤维化^[6]等药理作用,且因其特异的性状结构和生理特性,人们对冬虫夏草的疗效赋予了较高的赞誉。因为生长条件严苛,所以数量本就稀少,进而导致价格非常昂贵,在经历了大量采挖之后,冬虫夏草野生品种日渐匮乏,在加强对其野生品种保护的同时,也逐渐有了对其类似功效替代品的研究。

金水宝胶囊是一种发酵虫草菌粉,源自于冬虫夏草中获得的一株蝙蝠蛾拟青霉菌株 Cs-4 发酵而成,具有增强免疫力、提高缺氧耐受力、缓解疲劳的保健功能^[7],经检测,其所含化学成分和药理作用与冬虫夏草相似,可作为替代品使用^[8]。发酵虫草菌粉的出现,缓解了野生冬虫夏草资源短缺的问题,随着其发酵工艺日渐成熟,带有发酵虫草菌粉的制剂也较为普遍^[9],且价格更能为广大民众所接受。

冬虫夏草菌种经基质选择、发酵培养、发酵后处理等阶段后得到发酵完全的虫草菌粉,在整个生产过程中质量的控制尤为重要。赵斌^[10]应用 X 射线衍射 Fourier 指纹图谱所具有的专属性及特征标记峰进行识别,对中成药进行整体评价,为金水宝胶囊真伪的鉴定提供了简单可信的分析方法;ZHANG 等^[11]采用 GC-MS 对金水宝胶囊中挥发性成分进行了定性和定量研究,为菌丝体的质量评价提供了依据;朱卫丰等^[12]运用 HPLC 建立了金水宝胶囊发酵虫草菌粉的多糖指纹图谱,并对组成发酵虫草菌粉多糖的 11 种单糖进行了鉴别,客观地评价了其质量。在前期研究基础上,本实验拟建立金水宝胶囊的指纹图谱,并对其不同生产阶段样品进行取样分析,以期对金水宝胶囊的化学成分鉴别及其生产过程的质量控制提供参考。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂 1200 Infinity 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。生产过程中的母瓶、斜面、小发酵、中间体样品都是干燥的粉末,均来自江西济民可信集团有限公司,是在金水宝胶囊的生产过程中取样,样品信息见表 1。腺苷、鸟苷、尿苷、麦角甾醇对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 Z23S7J21814, AJ0609NA14, TM0313XA13, J26M6K1, 纯度均 $\geq 98\%$),水为娃哈哈纯净水,甲醇、磷酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

表 1 金水宝胶囊生产过程样品的信息

Table 1 Information of samples in production of Jinshuibao capsules

No.	样品	批号
1	斜面	2018-02-11
2	母瓶	2018-02-08
3	小发酵	2018-02-13
4	中间体	2018-02-27
5	发酵虫草菌粉	18020103

1.2 溶液的制备

1.2.1 供试品溶液 取样品粉末约 0.4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 25% 甲醇 10 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 33 kHz,下同)40 min,放冷,再称定质量,加 25% 甲醇补足减失的质量,置于 15 mL 离心管中,离心 5 min ($5\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, $4\ ^\circ\text{C}$),取上清液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中,加 25% 甲醇定容,摇匀,经 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液,得供腺苷、鸟苷、尿苷含量测定的供试品溶液。取样品粉末 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 30 mL,称定质量,超声 60 min,放冷,再称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,经 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液,得供麦角甾醇含量测定的供试品溶液。

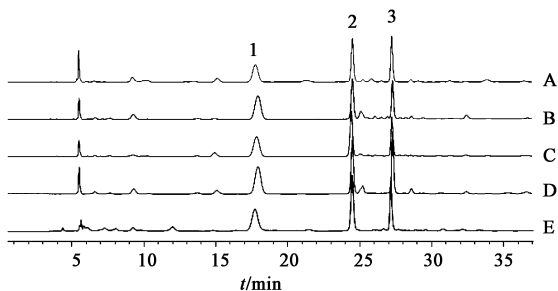
1.2.2 对照品溶液 取腺苷、鸟苷、尿苷对照品适量,精密称定,分别置于不同的 25 mL 量瓶中,用稀乙醇稀释至刻度,摇匀,各精密量取 2 mL,分别置于

不同的 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 分别含腺苷、鸟苷、尿苷 16,18,19 μg 的溶液。取麦角甾醇对照品适量,精密称定,加甲醇定容,摇匀,制成每 1 mL 含麦角甾醇 80 μg 的溶液。

1.3 色谱条件 腺苷、鸟苷、尿苷含量测定的色谱条件为 Ultimate AQ-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 14 min, 100% ~ 99% B; 14 ~ 19 min, 99% ~ 89% B; 19 ~ 39 min, 89% ~ 85% B),流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μL ,检测波长 260 nm。麦角甾醇含量测定的色谱条件为 Ultimate AQ-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(98:2),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 25 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μL ,检测波长 283 nm。

2 结果

2.1 指纹图谱的建立 金水宝胶囊生产过程中的斜面、母瓶、小发酵、中间体以及发酵虫草菌粉样品的指纹图谱见图 1。结果发现发酵虫草菌粉在生产过程中的不同阶段特征性化合物差别不大。基于特征图谱能定位出生产过程中稳定的化合物以及阶段性化合物。



A. 斜面; B. 母瓶; C. 小发酵; D. 中间体; E. 发酵虫草菌粉; 1. 尿苷; 2. 腺苷; 3. 鸟苷

图 1 金水宝胶囊生产过程中各阶段样品的 HPLC 指纹谱
Fig. 1 HPLC fingerprint of samples in each stage of production of Jinshuibao capsules

2.2 基于 HPLC 定量分析腺苷类成分的方法学考察

2.2.1 线性关系考察 精密吸取 1.2.2 项下腺苷、鸟苷、尿苷对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加 25% 甲醇至刻度,摇匀,按 1.3 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程,见表 2。结果发现腺苷、鸟苷、尿苷在各自质量浓度范围内与峰面积呈良好线性关系。

2.2.2 精密度试验 取发酵虫草菌粉样品,按

表 2 金水宝胶囊中腺苷、尿苷、鸟苷含量测定的线性关系考察

Table 2 Linear relationship of adenosine, uridine and guanosine in Jinshuibao capsules

化合物	线性方程	R ²	线性范围/ μg
尿苷	$Y = 243.83X - 0.89$	1.000 0	0.038 ~ 0.19
腺苷	$Y = 280.30X + 0.86$	1.000 0	0.032 ~ 0.16
鸟苷	$Y = 186.69X - 2.45$	0.999 8	0.036 ~ 0.18

1.2.1 项下方法 制备供试品溶液,按 1.3 项下色谱条件连续进样 6 次,计算腺苷、鸟苷、尿苷峰面积的 RSD 均 < 1.0%,表明仪器精密度高。

2.2.3 重复性试验 平行制备 6 份发酵虫草菌粉供试品溶液,按 1.3 项色谱条件测定,计算腺苷、鸟苷、尿苷平均质量分数分别为 2.57, 3.30, 2.64 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 均 < 1.0%,表明该方法重复性良好。

2.2.4 稳定性试验 取发酵虫草菌粉供试品溶液,分别于制备后 0, 12, 24, 36, 48, 60 h 按 1.3 项下色谱条件测定,计算腺苷、鸟苷、尿苷峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 1.6%, 2.5%,表明供试品溶液在 60 h 内稳定。

2.2.5 回收率试验 取已知指标成分含量的发酵虫草菌粉样品适量,分别按样品中指标成分含量添加等量腺苷、鸟苷、尿苷对照品,按 1.2.1 项下方法制备供试品溶液,按 1.3 项下色谱条件测定,计算腺苷、鸟苷、尿苷平均加样回收率分别为 106.06%, 101.25%, 105.88%, RSD 分别为 1.8%, 2.8%, 2.4%,表明该方法准确可靠。

2.3 样品测定 生产过程中斜面、母瓶、小发酵、中间体样品中指标成分的含量见表 3。结果发现斜面样品中尿苷、腺苷、鸟苷的质量分数分别为 0.97 ~ 3.15, 0.64 ~ 2.12, 2.06 ~ 3.79 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;母瓶样品中尿苷、腺苷、鸟苷的质量分数分别为 3.36 ~ 4.09, 2.06 ~ 3.06, 2.76 ~ 4.18 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;小发酵样品中尿苷、腺苷、鸟苷的质量分数分别为 2.61 ~ 3.30, 2.12 ~ 2.45, 2.67 ~ 2.82 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;中间体样品中尿苷、腺苷、鸟苷的质量分数分别为 1.91 ~ 4.93, 2.36 ~ 2.70, 3.36 ~ 4.48 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

2.4 不同批次样品的含量测定 对金水宝胶囊进行抽样测定,分别在 2016—2018 年各抽取 20 批次的样品,按 1.2.1 项下方法制备供试品溶液,按 1.3 项下色谱条件测定样品中腺苷、鸟苷、尿苷以及麦角甾醇的含量,见表 4 ~ 6。结果表明 2016—2018 年不同批次样品中腺苷和麦角甾醇的含量均符合 2015 年版《中国药典》的标准,其中鸟苷质量分数 0.97 ~ 1.36 $\text{mg}/\text{粒}$,尿苷质量分数 0.67 ~ 1.38 $\text{mg}/\text{粒}$ 。

表 3 金水宝胶囊生产过程样品中指标成分的含量测定

Table 3 Determination of index components in Jinshuibao capsules during production

样品	取样量 /g	尿苷质量 分数/mg·g ⁻¹	腺苷质量 分数/mg·g ⁻¹	鸟苷质量 分数/mg·g ⁻¹
斜面	2.08	2.73	2.12	3.36
斜面	2.25	1.21	0.64	2.30
斜面	3.08	0.97	1.00	2.06
斜面	3.26	2.27	0.76	3.39
斜面	4.10	1.12	0.76	2.54
斜面	4.21	3.15	1.70	3.79
母瓶	2.11	4.09	2.91	4.03
母瓶	3.02	3.91	2.06	2.76
母瓶	3.17	3.36	2.70	4.00
母瓶	4.03	4.09	3.06	4.18
小发酵	2.13	2.61	2.12	2.67
小发酵	3.05	3.30	2.45	2.82
中间体	2.27	4.76	2.36	4.21
中间体	3.07	4.93	2.70	4.48
中间体	3.08	1.91	2.42	3.36

3 讨论

目前,市上所售的人工发酵虫草菌丝粉种类繁多,主要有发酵虫草菌粉、发酵冬虫夏草菌粉、虫草头孢菌粉、虫草被孢菌粉、人工虫草菌丝粉五大类^[9],通过菌种保存-斜面菌种-摇瓶种子-发酵罐一系列流程后,将菌种制成相应的剂型并应用于临床^[13]。由于菌种来源不同,不同厂家生产过程也不同,这对有效成分种类和含量的影响较大,进而导致功能主治存在一定差异。但就现在市面所售的发酵虫草菌粉类药物来说,不同厂家对于药品功能主治的描述区别不明显,亟需加强各类发酵虫草菌粉成药的药理活性区分研究。药物的药理活性主要通过其在体内的有效代谢产物发挥作用,对于这些基础代谢物质应当有较为清晰的认识。国内对于发酵虫草菌粉基础物质研究较多,也比较全面,但关于这些基础物质在生产过程中的稳定性与均一性研究还比较欠缺。

表 4 2016 年金水宝胶囊 20 批样品中指标成分的含量测定

Table 4 Determination of index components in 20 batches of Jinshuibao capsules in 2016

样品批号	尿苷		腺苷		鸟苷		麦角甾醇	
	t _R /min	质量/mg	t _R /min	质量/mg	t _R /min	质量/mg	t _R /min	质量/mg
160148	16.54	0.67	22.87	0.86	26.62	1.07	7.74	0.88
160149	16.59	0.77	22.92	0.96	26.68	1.22	7.70	0.84
160150	16.53	1.22	22.77	1.02	26.64	1.29	7.70	0.91
160306	16.94	0.84	23.41	0.88	26.80	1.14	7.77	0.92
160307	16.90	0.84	23.35	0.85	26.77	1.15	7.77	0.94
160309	17.41	1.05	23.84	1.03	26.97	1.24	7.78	0.92
160428	17.16	1.11	23.61	0.93	26.88	1.22	7.76	0.99
160429	17.48	0.94	23.87	0.94	27.06	1.13	7.76	0.95
160632	17.13	0.87	23.54	0.94	26.87	1.09	7.88	0.96
160633	17.15	0.87	23.54	0.99	26.88	1.20	7.86	0.97
160736	17.18	0.90	23.56	0.98	26.89	1.15	7.86	1.07
160739	17.07	1.10	23.47	1.08	26.83	1.25	7.86	0.93
160854	17.12	0.91	23.50	0.98	26.87	1.10	7.89	1.03
160858	17.27	0.91	23.54	0.97	26.94	1.11	7.25	1.01
160911	17.37	1.02	23.99	0.93	27.02	1.15	7.83	1.00
161015	17.17	1.32	23.53	0.99	26.87	1.36	7.95	1.05
161140	17.17	0.92	23.45	0.96	26.88	1.25	7.86	1.02
161274	17.14	1.00	23.54	0.92	26.89	1.05	7.84	1.06
161275	17.19	1.22	23.58	1.00	26.91	1.22	7.84	1.02
161277	17.02	1.27	23.41	1.09	26.67	1.30	7.84	1.02

注:质量是指每粒胶囊中某一成分的质量(表 5,6 同)。

本文对金水宝胶囊前期各生产阶段样品的指纹

图谱进行了采集,采用甲醇-0.1% 甲酸水梯度洗脱

表 5 2017 年金水宝胶囊 20 批样品中指标成分的含量测定

Table 5 Determination of index components in 20 batches of Jinshuibao capsules in 2017

样品批号	尿苷		腺苷		鸟苷		麦角甾醇	
	t_R/min	质量/mg	t_R/min	质量/mg	t_R/min	质量/mg	t_R/min	质量/mg
170125	17.44	1.15	24.50	1.06	27.13	1.22	7.75	1.08
170127	17.33	1.12	24.19	0.95	27.06	1.20	7.75	1.05
170129	17.25	1.14	24.06	1.00	27.01	1.28	7.76	0.97
170211	17.21	1.24	24.01	1.02	26.99	1.29	7.75	1.04
170212	17.18	1.18	23.96	1.00	26.97	1.28	7.74	1.14
170215	17.25	1.20	23.97	1.01	27.01	1.25	7.73	1.08
170320	17.07	1.21	23.78	1.06	26.92	1.23	7.72	1.10
170322	17.03	1.18	23.74	0.96	26.90	1.12	7.73	1.06
170323	17.04	1.11	23.75	0.96	26.91	1.13	7.73	1.08
170412	17.11	1.37	23.78	1.03	26.94	1.23	7.74	1.10
170414	16.98	1.35	23.67	1.00	26.88	1.18	7.74	1.06
170416	16.96	1.08	23.62	0.97	26.87	1.14	7.75	1.09
170502	16.97	1.11	23.62	0.99	26.87	1.12	7.79	1.08
170504	16.92	0.98	23.57	0.93	26.84	1.01	7.79	1.04
170729	16.91	1.24	23.57	1.02	26.83	1.24	7.78	1.08
170807	16.92	1.38	23.56	1.11	26.85	1.33	7.76	1.14
170928	16.96	1.27	23.60	0.99	26.87	1.25	7.86	1.15
171031	19.20	1.20	23.63	0.81	26.89	1.10	7.85	1.16
171161	16.98	1.17	23.61	0.84	26.92	0.97	7.85	1.17
171242	17.03	1.14	23.65	1.06	26.93	1.07	7.86	1.23

表 6 2018 年金水宝胶囊 20 批样品中指标成分的含量测定

Table 6 Determination of index components in 20 batches of Jinshuibao capsules in 2018

样品批号	尿苷		腺苷		鸟苷		麦角甾醇	
	t_R/min	质量/mg	t_R/min	质量/mg	t_R/min	质量/mg	t_R/min	质量/mg
180109	17.20	1.16	23.76	1.01	26.99	1.09	7.85	1.22
180203	17.17	1.16	23.70	1.01	26.96	1.09	7.85	1.22
180204	17.14	1.30	23.68	0.91	26.94	1.20	7.87	1.27
180205	17.19	1.33	23.72	0.98	26.97	1.16	7.86	1.22
180221	17.30	1.23	23.78	1.02	27.00	1.15	7.85	1.23
180222	17.16	1.29	23.67	1.08	26.95	1.19	7.80	1.20
180402	17.06	1.32	23.60	1.01	26.91	1.21	7.81	1.19
180405	17.28	1.27	24.02	0.98	27.04	1.22	7.82	1.20
180409	17.32	1.30	24.02	1.05	27.07	1.28	7.82	1.26
180411	17.28	1.32	23.96	1.09	27.03	1.26	7.83	1.29
180417	17.31	1.23	23.96	1.04	27.04	1.17	7.83	1.25
170502	17.35	1.26	24.00	1.03	27.09	1.20	7.89	1.22
180503	17.37	1.24	23.91	1.12	27.08	1.22	7.88	1.27
180504	17.29	1.20	23.90	1.03	27.22	1.15	7.88	1.29
180506	17.25	1.09	23.86	1.06	27.02	1.09	7.88	1.18
180509	17.28	1.23	23.89	0.96	27.04	1.20	7.88	1.25
180609	17.34	1.20	23.93	0.96	27.05	1.11	7.88	1.21
180619	17.23	1.03	23.85	0.85	27.01	1.02	7.89	1.29
180624	17.25	1.00	23.85	0.97	27.21	1.07	7.90	1.23
180703	17.32	1.34	23.91	1.11	27.05	1.34	7.89	1.21

的方法对核苷类成分进行分离,获得了较好的效果,并确定发酵虫草菌粉不同生产阶段样品的指纹图谱主要为核苷类成分,对其中含量较高的 3 种核苷类成分(腺苷、鸟苷、尿苷)进行方法学考察,结果发现在该方法下三者线性关系、回收率、稳定性均很好,且专属性强,适合作为发酵虫草菌粉类药品的质量控制指标。通过对 2016—2018 年金水宝胶囊样品进行抽查后显示,腺苷、麦角甾醇含量较为稳定,均符合 2015 年版《中国药典》的标准。综合分析,成药的样品抽查检测过程中各个指标成分含量较高,也比较稳定。

核苷类成分是发酵虫草菌粉发挥主要药理作用的物质,腺苷、鸟苷、尿苷更是其中的优势代谢产物,这 3 种成分具有广泛的药理活性^[14]。本研究设定了 2 种提取方法和色谱条件,分别用于测定腺苷、鸟苷、尿苷以及麦角甾醇的含量,可为金水宝胶囊的整体质量控制提供参考。后续还将对发酵虫草菌粉的发酵条件进行优化,结合 HPLC 含量测定筛选出有效成分含量最高的生产条件,比如发酵的基底、时间、温度以及 pH 等,以便更好地控制发酵虫草菌粉的生产过程。另外,还可结合冬虫夏草菌丝的指纹图谱,随时记录菌丝体的特征和生产速率^[15-16],建立标准化的菌种保藏、培养、传代体系,保持菌种的活力^[17]。

[参考文献]

[1] 郑佛荣. 正确认识冬虫夏草的功效和应用[J]. 中国医药指南, 2010, 8(22): 61-62.
[2] 肖瑛, 胡雪峰, 陶盛昌, 等. 鲜冬虫夏草药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(4): 80-85.
[3] YANG J Y, ZHNG W Y, SHI P H, et al. Effects of exopolysaccharide fraction (EPSF) from a cultivated *Cordyceps sinensis* fungus on c-Myc, c-Fos, and VEGF expression in B16 melanoma-bearing mice [J]. *Pathol Res Pract*, 2005, 201(11): 745-750.
[4] LIU C G, SONG J J, TENG M Y, et al. Antidiabetic and antinephritic activities of aqueous extract of *Cordyceps militaris* fruit body in diet-streptozotocin-induced

diabetic sprague dawley rats[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, doi:10.1155/2016/9685257.
[5] 郑健, 霍晓奎, 王妍, 等. 野生及人工繁育冬虫夏草调节免疫和抗衰老作用的对比研究[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(20): 1742-1747.
[6] 李风华, 刘平, 王春树. 虫草菌丝逆转二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化的有效组分及其作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9): 164-168.
[7] 李如意, 宋厚盼, 魏艳霞, 等. 冬虫夏草药理作用的研究进展[J]. 环球中医药, 2016, 9(10): 1284-1288.
[8] 黄慧莲, 杨敏娟, 管咏梅, 等. 近 5 年发酵虫草菌粉的化学成分和临床应用研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(10): 2242-2247.
[9] 王晓, 张萍, 魏锋, 等. 发酵虫草菌粉及制剂质量控制方法研究进展[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(10): 63-66.
[10] 赵斌. 中草药化学成分单晶结构分析与中药材和中成药 X 射线衍射 Fourier 图谱鉴定研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2002.
[11] ZHANG H Y, LI Y H, MI J N, et al. GC-MS profiling of volatile components in different fermentation products of *Cordyceps sinensis* mycelia [J]. *Molecules*, 2017, 22(10): E1800.
[12] 朱卫丰, 赵加茜, 刘小林, 等. 金水宝胶囊中发酵虫草菌粉多糖的指纹图谱研究[J]. 中草药, 2017, 48(16): 3322-3326.
[13] 陶科, 王忠彦, 国锦琳. 冬虫夏草菌深层发酵及菌丝体活性成分测定方法探讨[J]. 四川食品与发酵, 2002, 38(3): 34-36.
[14] 刘洋, 李明花, 邢向红. 核苷类抗肿瘤药物研究进展[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(21): 2493-2498.
[15] 秦伟瀚, 花雷, 郭延奎, 等. UPLC-Q-TOF-MS 结合代谢组学分析冬虫夏草不同部位的差异性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 69-76.
[16] 张剑霜, 喻浩, 钟欣, 等. 基于 GC-MS 代谢组学技术比较冬虫夏草与蝉花的质量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 23-29.
[17] 杨平, 赵晓霞, 张永文. 发酵虫草菌类产品的标准比较与评价[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 463-468.

[责任编辑 刘德文]