

## 发酵虫草菌粉类产品质量标准研究进展

吴瑶<sup>1</sup>, 陈丽华<sup>1\*</sup>, 金晨<sup>1</sup>, 管咏梅<sup>1</sup>, 杨明<sup>2</sup>, 朱卫丰<sup>1</sup>

- (1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004;  
2. 江西省中药提取物及制剂工程技术研究中心, 江西 宜春 336000)

**[摘要]** 随着冬虫夏草资源的日益稀缺,从中分离提取的药用菌株经人工液体深层发酵加工得到的菌粉,即发酵虫草菌粉,已逐渐成为其替代品。现代药理学证明,发酵虫草菌粉与冬虫夏草有效成分类似,具有相似的药理作用。目前,市场上发酵虫草菌粉类产品众多,主要有金水宝胶囊、百令胶囊、心肝宝胶囊、至灵胶囊、宁心宝胶囊五大品种。其中,仅金水宝胶囊和百令胶囊被收载入2015年版《中国药典》,质量标准相对较为全面,而其他产品的质量标准则较为粗放。对于发酵虫草菌粉类产品,目前尚无统一对其产品质量进行全面控制的方法。因此,完善并统一发酵虫草菌粉类产品的质量标准是提升其产品质量标准及保证其产品安全、优质、高效的关键。文章全面综述了发酵虫草菌粉类产品的化学成分及质量标准研究进展,分析了现有发酵虫草菌粉类产品质量标准的不足,提出了建立一个更为科学合理的质量标准新模式以综合评价其质量方法的建议,旨在为发酵虫草菌粉类产品的质量标准提升及规范化生产提供参考。

**[关键词]** 发酵虫草菌粉; 化学成分; 质量标准

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)20-0220-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017200220

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170731.1044.058.html>

**[网络出版时间]** 2017-07-31 10:44

### Chemical Constituents and Quality Control of Products of Fermented *Cordyceps sinensis* Powder

WU Yao<sup>1</sup>, CHEN Li-hua<sup>1\*</sup>, JIN Chen<sup>1</sup>, GUAN Yong-mei<sup>1</sup>, YANG Ming<sup>2</sup>, ZHU Wei-feng<sup>1</sup>

- (1. Key Laboratory for Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2. Jiangxi Province Research Center of Extracts and Preparations Engineering Technology of TCM, Yichun 336000, China)

**[Abstract]** With the increasing scarcity of *Cordyceps sinensis*, fermented *C. sinensis* powder that produced through extraction and separation of medical strains from *C. sinensis* by artificial fermentation has gradually become the substitutes of *C. sinensis*. Modern pharmacology had verified that the pharmacological activity of fermented *C. sinensis* powder is similar to that of *C. sinensis*, because they have similar active ingredients. Currently, there were numerous products of fermented *C. sinensis* powder, mainly including Jinshuibao capsule, Bailing capsule, Xinganbao capsule, Zhiling capsule, Ningxinbao capsule. Among them, only Jinshuibao capsule and Bailing capsule have reached comprehensive quality standards and been recorded in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, while others have inferior quality standards. For the product of fermented *C. sinensis*, the unified quality control method has not been established. Therefore, the establishment of improved and unified quality standards for products of fermented *C. sinensis* powder is the key to improve its quality standard and ensure its safety, high quality and efficiency. This essay summarized the chemical composition and the progress in quality

**[收稿日期]** 20170418(003)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09201-201-30); 国家中药标准化项目(ZYBZH-C-JX-39); 江西省高等学校科技落地计划项目(产学研合作 KJLD13061)

**[第一作者]** 吴瑶,在读硕士,从事中药药剂学研究, Tel:0791-87118614, E-mail:wy00323@163.com

**[通讯作者]** \*陈丽华,教授,博士生导师,从事中药新技术与新剂型研究, Tel:0791-87118658, E-mail:chilly98@163.com

control by analyzing the deficiency of the quality standard of products of fermented *C. sinensis* powder, and propose to establish a more scientific and rational model of quality standard for comprehensively evaluating its quality, with the aim to provide a certain reference for the improvement of quality standard and the standardized production of products of fermented *C. sinensis* powder.

[Key words] fermented *Cordyceps sinensis* powder; chemical composition; quality control

冬虫夏草 (*Cordyceps sinensis*) 为麦角菌科真菌冬虫夏草菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座及幼虫尸体的复合体, 是我国的名贵生药之一, 在《本草纲目拾遗》中就有记载。在我国的西藏、青海、四川、云南、贵州等高海拔地区均有出产<sup>[1]</sup>, 具有降血糖、抗肿瘤、免疫调节、抗氧化<sup>[2]</sup>、对抗生殖损伤<sup>[3]</sup>、治疗慢性肝炎、肾衰竭<sup>[4-7]</sup>等多种药理作用, 且药性温和, 补而不峻。随着人类健康养生意识的提升, 冬虫夏草的挖掘过度, 加上其寄主专一性和环境局限性<sup>[8]</sup>, 野生冬虫夏草已出现供不应求的市场效应。

冬虫夏草替代品有着巨大的市场发展前景, 发展冬虫夏草替代品俨然成为必然趋势。

发酵虫草菌粉是从冬虫夏草中分离提取的药用菌株经液体深层发酵加工得到的菌粉。研究证实, 发酵虫草菌粉产品有与冬虫夏草相似的化学成分及药理作用<sup>[9-10]</sup>。因发酵方法成本相对较低且条件易于控制, 目前市场上发酵虫草菌粉产品已有一定规模, 主要产品有金水宝胶囊、百令胶囊、心肝宝胶囊、至灵胶囊、宁心宝胶囊。其制剂相关概况见表 1。

表 1 发酵虫草菌粉类产品概况<sup>[11]</sup>

Table 1 General situation of fermented *Cordyceps sinensis* powder

品名	原料	菌种	生产厂家
金水宝胶囊	发酵虫草菌粉 (Cs-4)	蝙蝠蛾拟青霉菌 ( <i>Paecilomyces hepiali</i> )	江西济民可信金水宝制药有限公司*
百令胶囊	发酵冬虫夏草菌粉 (Cs-C-Q80)	中华被毛孢 ( <i>Hirsutella sinensis</i> )	杭州中美华东制药有限公司*
至灵胶囊	虫草被孢菌粉 ( <i>Cordyceps motierella</i> power)	被孢霉菌 ( <i>Mortierella</i> sp)	4 个生产厂家, 分别为长兴制药股份有限公司、长沙东风药业有限公司、浙江圣博康药业有限公司、大同市利群药业有限责任公司
宁心宝胶囊	虫草头孢菌粉 ( <i>C. mycelium</i> power)	虫草头孢 ( <i>Cephalosporium sinensis</i> Chen. sp. now)	国内有 106 家企业生产, 主要以正大青春宝药业、云南白药集团丽江药业有限公司等为主
心肝宝胶囊	人工虫草菌丝粉 (artificial <i>C. mycelium</i> power)	粉红胶霉 ( <i>Gliocadium roseum</i> )	河北长天制药有限公司*

注: \* 为独家生产品种。

## 1 发酵虫草菌粉化学成分

发酵虫草菌粉产品中成分众多, 主要成分类型有核苷类、甾醇类、多糖类、氨基酸类、醇类、鞘脂类。此外, 还存在多种其他类成分, 包括蛋白质多肽、生物碱、多胺、挥发油、硬脂酸、软脂酸、维生素、有机酸、金属元素和黄酮类<sup>[12]</sup>等。金属元素主要有锌、铁、铜、铅、锰等, 且其含量铁 > 锰 > 锌 > 铜 > 铅<sup>[13]</sup>; 黄酮类化合物主要包括染料木素、黄豆黄素等。具体见表 2。

**1.1 核苷类** 核苷类成分为冬虫夏草及发酵虫草菌粉类产品的重要活性物质之一, 是维持生物细胞生命活动的基本组成元素<sup>[14]</sup>; 是构成核酸 RNA, DNA 单体的前体, 也是生物氧化、能量代谢中的能源物质和抗病毒、抗肿瘤药物的中间体<sup>[15]</sup>, 在抗癌市场中占据了将近五分之一的市场份额<sup>[16]</sup>。另外,

表 2 虫草菌粉类产品化学成分一览

Table 2 Chemical composition of fermented *Cordyceps sinensis* powder

类型	具体成分
核苷类	鸟苷、尿苷、腺苷、腺嘌呤、尿嘧啶、胸腺嘧啶、次黄嘌呤、虫草素、胞嘧啶、肌苷、胸苷、鸟嘌呤和 2' 脱氧尿苷等
甾醇类	麦角甾醇、胆甾醇、麦角甾醇过氧化物、豆甾醇、西托糖苷和 $\beta$ -谷甾醇等
多糖类	甘露糖、半乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖等
氨基酸类	天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸、结氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、络氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸等
醇类	D-甘露醇等
鞘脂类	多球壳菌素、磷酸鞘氨醇、糖鞘脂、神经酰胺等
其他类	蛋白质多肽、生物碱、多胺、挥发油、硬脂酸、软脂酸、维生素、有机酸, 金属元素和黄酮类等

核苷类药物还有增强免疫、抗氧化、抗炎<sup>[17]</sup>、促进血管和淋巴管生成等作用<sup>[18]</sup>。发酵虫草菌粉中主要含有 13 种核苷类成分<sup>[19]</sup>,其中,鸟苷、尿苷、腺苷作为优势代谢成分,在各发酵虫草菌粉制剂中含量较高<sup>[20]</sup>,均高于天然虫草中含量,其中以腺苷药理作用最为明显<sup>[21]</sup>。在 5 种虫草菌粉产品中,宁心宝胶囊和至灵胶囊中 3 种成分含量相当,均为最高且批次间差异性较大;其次为心肝宝胶囊、金水宝胶囊;百令胶囊为最低<sup>[22]</sup>。虫草素(3'-脱氧腺苷)作为第一个从真菌中分离出来的核苷类抗生素,为北虫草的主要代谢产物,但天然虫草中是否存在虫草素还存在争论<sup>[23]</sup>,这可能与学者取材的冬虫夏草的生长环境及地理因素等相关。研究发现,在中华被毛孢菌种培养基中加入  $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  5'-核苷酸酶时,虫草素的产量提高到原水平的 201.1%。经证实,5'-核苷酸酶参与了虫草素的生物合成<sup>[24]</sup>。

**1.2 甾醇类** 麦角甾醇是一种植物甾醇类化合物,广泛存在于真菌类植物中,是天然虫草及其替代品中甾醇类的主要成分,以游离及结合两种形式存在<sup>[25]</sup>;是组成真菌生物膜的重要活性物质,脂溶性维生素 D<sub>2</sub> 的前体<sup>[26]</sup>;具有抗癌、抗氧化等药理作用<sup>[27]</sup>;已有学者建立通过检测麦角甾醇的含量变化来分析柑橘真菌污染程度的方法<sup>[28]</sup>。在野生冬虫夏草及人工虫草中,均分离鉴定出了 7 种甾醇类化合物,其中麦角甾醇所占比例最高,高于 44%,其次为胆甾醇、谷甾醇,所占比例分别为 31.0% ~ 37.0%, 9.0% ~ 14.0%<sup>[29]</sup>。不同厂家生产的发酵虫草菌粉制剂中麦角甾醇含量各异,但均高于野生冬虫夏草和人工北虫草。据已有文献报道<sup>[30]</sup>,金水宝胶囊、百令胶囊、至灵胶囊、宁心宝胶囊、心肝宝胶囊中麦角甾醇含量就属百令胶囊为最高,达  $6.06 \sim 6.10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

**1.3 多糖类** 虫草多糖是大量存在于虫草及虫草菌粉产品中的一类高分子复合物,约占冬虫夏草干重的 3% ~ 8%<sup>[31]</sup>,虫草菌丝体中多糖质量分数在 2.97% ~ 4.48%<sup>[32]</sup>。具有调节免疫、抗氧化、抗肿瘤、保肝护肝等作用<sup>[33-36]</sup>。虫草菌丝制剂中多糖结构不尽相同,受菌种、培养基条件(培养时间,温度, pH, 碳源, 氮源, 硫酸盐种类等)<sup>[37-39]</sup>和培养基种类<sup>[40]</sup>等因素的影响。且干燥方法会对多糖的抗氧化活性及单糖比例造成影响,冷冻干燥法相比于喷雾干燥法及烘干法,对多糖抗氧化活性及单糖比例影响较小,是值得推荐的一种多糖干燥方法<sup>[41]</sup>。自 1977 年日本报道了 1 种由甘露聚糖核心和半乳糖

基寡糖支链组成的水溶性冬虫夏草多糖 CS-I 后,学者们对虫草多糖的结构及其活性研究逐渐兴起<sup>[42]</sup>,结构不同的多糖发挥着相同或者不同的药理作用。

虫草多糖(CSP)中平均相对分子质量为  $2.70 \times 10^4$  Da 的 CPS1-2<sup>[35]</sup>和平均相对分子质量为  $9.76 \times 10^5$  Da 的 NCSP-50<sup>[43]</sup>均能刺激血管扩张物质 NO 的分泌,前者还能降低 ET-1 和肾上腺素、去甲肾上腺素、血管紧张素 II 的水平,抑制转化生长因子 TGF- $\beta$ 1 的增长和降低炎症介质 C 反应蛋白的水平,可用于抗高血压治疗;新型多糖 CMPA90-1<sup>[44]</sup>,含硒多糖<sup>[45]</sup>和多糖 CPS-F<sup>[46]</sup>均表现出抗氧化活性且 CMPA90-1 和 CPS-F 都具抗炎活性;菌多糖 MPCs<sup>[47]</sup>和平均相对分子质量为 20 200 Da 的均一多糖 CP2-c2-s2<sup>[48]</sup>均具有免疫调节作用,前者可用于治疗卡介苗及脂多糖引起的免疫性肝损伤,后者可用于抗衰老;渣多糖 RPS<sup>[49]</sup>可降低血液和肝中脂质的水平,增强谷氨酸丙酮酸酯转氨酶和抗氧化活性,是潜在的抗高血脂、抗肝损伤和抗氧化药物。另外,多糖 CME-1<sup>[50]</sup>可通过抑制血小板活化从而预防或治疗心血管疾病;多糖 CMN1<sup>[51]</sup>可对抗缺氧,用于急性高原病的治疗。市场上多糖类产品主要以虫草胞外粗多糖或菌丝粗多糖为主,但由于技术限制,目前报道的研究多是针对粗多糖,即使通过分离纯化得到单一组分,也仅有其相对分子质量及一级结构的研究<sup>[52]</sup>,无法从分子水平上确切阐述其作用机制和药理功能,故其结构有待进一步的发掘和研究。作为虫草及虫草菌粉产品中共有并具有较强药理活性的特征性成分,建议将其纳入虫草菌粉类产品的质量标准当中。

**1.4 氨基酸类** 氨基酸是构成蛋白质的基本单位,是生物体内不可缺少的营养成分之一,与生物的生命活动有着密切联系。据有关文献报道<sup>[53]</sup>,天然虫草与人工虫草中均含有 17 种氨基酸和 8 种必需氨基酸,人工虫草中总氨基酸含量大于天然虫草中总氨基酸含量。不同产地虫草和不同类型虫草真菌菌丝体中游离氨基酸含量差异较大,但不同类型氨基酸所占比例无明显差异<sup>[54]</sup>。于士军等<sup>[55]</sup>运用聚类分析与主成分分析对 7 种虫草真菌菌丝体中游离氨基酸含量进行分析,发现中华被毛孢、细脚棒束孢、古尼拟青霉、粉被玛利亚霉 4 种虫草真菌菌丝体中苯丙氨酸、天冬氨酸、色氨酸和精氨酸 4 种氨基酸含量均比蛹拟青霉、蝉棒束孢菌丝、戴氏绿僵菌菌丝中 4 种氨基酸含量要高;戴氏绿僵菌丝中甲硫氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、组氨酸、苏氨酸和丝氨酸的含量均

比其他样品中高,但 7 个虫草真菌菌丝中游离必需氨基酸所占比例均在 65% 以上。研究证实<sup>[56]</sup>,在虫草液体培养基中加入  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  锌后,菌丝体生物量达到  $10.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,虫草菌丝体中锌的质量分数达到  $4\,875.1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,总氨基酸与必需氨基酸的含量均有大幅增加,分别比以前高出 11.1% 和 15.2%,此发现于虫草菌粉产品发酵工艺提升有重要参考价值。对于独家生产品种百令胶囊、金水宝胶囊、心肝宝胶囊,总氨基酸质量分数分别为 294.0 ~ 346.7, 224.0 ~ 281.7, 199.3 ~ 224.9  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,多厂家生产的至灵胶囊和宁心宝胶囊,由于原料及生产工艺不一,总氨基酸含量差异较大,分别为 241.1 ~ 356.1, 234.9 ~ 331.7  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ <sup>[57]</sup>。

**1.5 醇类** D-甘露醇是虫草发挥药效的主要成分之一,于 1954 年被首次分离出来,后经学者再次鉴定,确定其真实结构为甘露醇<sup>[58]</sup>。甘露醇具有利尿、降低颅内压和眼内压、镇咳、祛痰和平喘等多种功效,其含量受物种多样性和微生态环境的影响。研究表明<sup>[59]</sup>,天然虫草与虫草菌丝体中甘露醇含量差异显著,前者远远大于后者。天然虫草中甘露醇质量分数在 9.85% ~ 11.5%,而虫草菌丝体中甘露醇质量分数不足 4.93%。在 3 种发酵虫草菌粉产品中,百令胶囊中甘露醇质量分数最高,为 29.5 ~ 36.5  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ <sup>[60]</sup>;金水宝胶囊次之,宁心宝胶囊最低。

**1.6 鞘脂类** 鞘脂类(SPs)是一类具有高度多样性的脂类,其既可以作为细胞膜的结构组成部分,也可以作为细胞信号传导介质。在中枢神经系统的发育和活动等大多数生物过程中,其药理学、基因处理以及他们的信号系统都强调了鞘脂类化合物的重要性。同样,SPS 积累或信号传导的扰动也与许多疾病状态有关,如神经管缺陷、神经炎症、中风和痴呆<sup>[61]</sup>。1994 年,多球壳菌素作为一种强效免疫抑制剂在虫草发酵液中被首次分离出来,这预示着鞘脂类成分可能是虫草及虫草菌粉制剂中的有效成分。MI 等<sup>[62]</sup>从天然虫草中鉴别出了 43 种鞘氨醇碱和 303 种神经酰胺,并且发现鞘氨醇碱免疫抑制作用强于神经酰胺。随后,首次对天然虫草及虫草菌丝中的鞘脂类成分进行定量分析,发现天然野生虫草及虫草菌丝中均含有大量不同类型的鞘脂类成分,其含量差异为鞘氨醇碱/神经酰胺 > 磷酸鞘氨醇 > 糖鞘脂。不同的是①天然虫草中的主要鞘脂类成分为鞘氨醇碱,而虫草菌丝中的主要鞘脂类成分为神经酰胺。②天然虫草中鞘磷脂含量约高出虫草

菌丝中鞘脂类含量的 10 倍。③虫草菌丝中肌醇磷酸基神经酰胺和糖鞘脂含量均高于天然虫草<sup>[63]</sup>。此研究对天然虫草及虫草菌丝的质量控制及更合理利用具有重要价值。

**1.7 蛋白质多肽类** 蛋白质是构成人体组织器官的支架和主要物质,在人的生命活动中起着重要作用,是虫草及虫草菌丝制剂中的生物活性成分之一。但虫草中不仅存在有益蛋白质,也存在能诱导细胞凋亡的有害蛋白质,热处理及碱化处理能破坏其诱导细胞凋亡的能力<sup>[64]</sup>。目前鲜有将蛋白质作为目标成分对虫草进行质量控制的文献报道。LI 等<sup>[65]</sup>利用聚丙烯酰胺凝胶电泳法和双向凝胶电泳法对来自青海、台湾、四川 3 个不同产地的天然虫草中蛋白质进行分离,利用层序聚类分析对其结果进行分析,以研究虫草中蛋白质与其产地的关系。结果表明,利用聚丙烯酰胺凝胶电泳法对蛋白质进行分离分析所得结果无差异,而利用双向凝胶电泳法对蛋白质进行分离的蛋白质斑点有显著性差异,并可将其产地聚为台湾、青海 2 类。把蛋白质作为目标成分,将有益于虫草及虫草菌粉类产品质量标准的进一步完善。

## 2 发酵虫草菌粉类产品质量标准

据权威统计,国内外报道的从天然冬虫夏草中提取分离的虫草属真菌约有 400 种,我国已报道的就有 60 余种<sup>[66]</sup>。由于菌种差异,加上各厂家发酵条件和生产工艺各不相同,导致各类产品质量参差不齐;由于质量标准不一,发酵虫草菌粉类产品质量可控性差。

其中,金水宝胶囊和百令胶囊分别于 2000 年,2005 年开始载入《中国药典》。2 个品牌均为独家生产品种,质量标准测试指标较为全面,自 2000 年以来,其质量标准也在不断完善。至灵胶囊,心肝宝胶囊和宁心宝胶囊收载于原卫生部部颁药品标准,由多厂家生产,质量标准较为混乱,各产品质量标准研究具体内容见表 3。

载入 2015 年版《中国药典》的金水宝胶囊和百令胶囊质量标准定性及定量测定均较为全面,易于对产品质量进行控制;而至灵胶囊、心肝宝胶囊、宁心宝胶囊生产来源不统一,只针对 1 种或 2 种成分进行定性及定量测定,不足以对产品内在质量进行有效表征、综合评价和全面控制。如何统一发酵虫草菌粉类产品质量标准,建立一个科学而全面的质量评价新模式是目前亟待解决的问题。

中药指纹图谱是实现鉴别中药真实性、评价质

表 3 发酵虫草菌粉类产品质量标准进展

Table 3 Survey of study on chemical constituents and quality control of fermented *Cordyceps sinensis* powder

品名	部颁标准及《中国药典》质量标准进展
金水宝胶囊	薄层色谱鉴别氨基酸;纸色谱鉴别甘露醇;薄层扫描法测定腺苷含量; 2000 年版《中国药典》薄层色谱鉴别 3 种核苷、氨基酸、甘露醇,HPLC 测定腺苷含量; 2015 年版《中国药典》新增核苷的 5 个色谱峰测定和麦角甾醇的含量测定
百令胶囊	2005 年版《中国药典》TLC 鉴别氨基酸 3 个色谱峰;HPLC 法鉴别腺苷、尿苷等 6 个主色谱峰;氨基酸分析仪测定总氨基酸含量;滴定法测定甘露醇含量;HPLC 法测定腺苷含量; 2010 年版《中国药典》新增麦角甾醇的鉴别; 2015 年版《中国药典》新增 HPLC 法氨基酸色谱峰的鉴别
至灵胶囊	TLC 鉴别腺苷;滴定法测定甘露醇含量和 HPLC 测定腺苷含量
心肝宝胶囊	TLC 鉴别腺苷;滴定法测定甘露醇含量和 HPLC 测定腺苷含量
宁心宝胶囊	腺苷的色谱鉴别;定氮法含量测定;腺苷含量测定

量一致性和产品稳定性的可行模式<sup>[67]</sup>,其专属性强,可为中药的整体质量控制提供科学依据,能真正对产品内在质量进行综合评价,控制中药质量的稳定性和有效性。近年来,中药指纹图谱作为一种中药质量评价新模式,已被世界卫生组织、美国食品药品监督管理局、中国国家食品药品监督管理局所接受和运用于各种中药的质量评价当中<sup>[68]</sup>。多位学者也对虫草及虫草菌丝类产品指纹图谱进行了研究,如 YU 等<sup>[69]</sup>在 HPLC 的基础上建立了人工蛹虫草的化学指纹图谱,能对人工蛹虫草质量做出有效评价;祝明等<sup>[70]</sup>建立了发酵虫草菌粉类产品百令胶囊的化学指纹图谱,此法专属性较强,可用于百令胶囊的鉴别。但因单一成分在中药中存在适谱性,而指纹图谱主要针对药材的定性研究,反映药材质量的均一性、稳定性,故实现对产品的多指标含量测定也是提升产品质量标准的关键。当前中药质量控制模式已逐渐由单一成分含量测定向多指标成分含量测定转型,但中药材化学对照品分离难度大,部分化学对照品较不稳定或价格过于昂贵,严重制约着其应用范围。

一测多评技术(QAMS)<sup>[71]</sup>能通过测定产品中某一有效成分的含量,从而实现对多种成分含量的同步测定。其原理为以在产品中含量相对较高、廉价易得、较为稳定为原则<sup>[72]</sup>,选取内标物,通过内标物与其他有效成分间的相对校正因子(RCF),对多

种含量进行同步测定。此方法也已被应用于多种中药的多指标含量测定<sup>[73-75]</sup>,并被收载于 2015 年版《中国药典》。中药指纹图谱与一测多评方法相结合,再联合现代各种虫草及虫草菌粉质量标准研究方法,如亲水性色谱法(HILIC)结合电喷雾质谱法(ESI-MS)对核苷和核酸碱基进行定性及定量分析<sup>[76]</sup>;核磁共振氢谱技术结合多变量技术分析对氨基酸、核苷、有机酸、葡萄糖和黄酮类化合物进行代谢组学信息分析<sup>[77]</sup>;傅里叶变换近红外光谱变换技术(FT-NIR)测定支链氨基酸含量<sup>[78]</sup>;糖凝胶电泳(PACE)联合高效薄层色谱法(HPTLC)获得多糖的水解产物和其结构特征<sup>[79]</sup>;多列液相色谱法分析虫草中大分子和小分子物质<sup>[80]</sup>;超高效液相色谱串联质谱微波辅助衍生结合双重超声辅助分散液微萃取法对植物甾醇进行定量分析<sup>[81]</sup>;电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法分析虫草中的金属元素<sup>[82]</sup>等,可以实现产品质量的全面控制与评价。

### 3 小结

综上所述,目前市场上的发酵虫草菌粉类产品种类繁多,质量参差不齐,尚无统一全面的质量控制方法,产品质量难以得到保证。现有质量标准存在只能部分反映产品质量的局限性,不足以对产品内在质量进行综合评价。笔者认为,以中药指纹图谱及多指标成分定量分析为指标,联合现代各种质量标准研究方法,并把多糖的测定纳入虫草菌粉类产品的质量评价当中,建立一个更为科学合理的质量标准新模式来指导虫草菌粉类产品的规范化生产,才能实现对虫草菌粉类产品质量的全面控制,以确保其安全、优质、高效。

#### [参考文献]

[1] 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,2016,10(9):1284-1288.

[2] LIU J Y, FENG C P, LI X, et al. Immunomodulatory and antioxidative activity of *Cordyceps militaris* polysaccharides in mice[J]. Int J Biol Macromol, 2016, 86(5): 594-598.

[3] WANG J, CHEN C, WANG Z H, et al. Protective effect of *Cordyceps militaris* extract against bisphenol A induced reproductive damage [J]. Syst Biol Reprod Med, 2016, 62(4): 249-257.

[4] ZHAGN G Q, HUANG Y D, BIAN Y, et al. Hypo-lipemic activity of the fungi cordyceps militaris *Cordyceps sinensis*, *Tricholoma mon golicum* and *Omphalia lapidescens* in streptozocin-induced diabetic rats[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2006, 72(6): 1152-1156.

- [ 5 ] 赵克蕊,王维亭,赵专友.冬虫夏草的药理作用[J].国外医药:植物药分册,2006,21(3):105-108.
- [ 6 ] CHEN H C, WENG L H. Comparison on efficacy between *Astragalus-Polygonum* anti-fibrosis decoction and Jinshuibao capsule in treating liver fibrosis of chronic-hepatitis B [J]. Chin J Intergrated Traditional Western, 2001, 7(1): 26-29.
- [ 7 ] 姚书文,李钰,陈丽华,等.冬虫夏草及各种发酵虫草菌粉产品药效学差异的文献研究[J].中国药房,2015,26(3):294-298.
- [ 8 ] XIAO J H, SUN Z H, ZHANG X J, et al. Efficient extraction and rapid quantitative determination of nucleoside compounds from *Cordyceps jiangxiensis*, a new *Cordyceps* producing-cordycepin [J]. Afr J Microbiol Res, 2014, 8(1): 75-84.
- [ 9 ] 张薇薇,龚韬,韩东河,等.人工虫草与冬虫夏草成分的比较研究[J].北京中医药,2016,35(1):87-91.
- [ 10 ] 邹秦文,肖新月,林瑞超.冬虫夏草液体深层发酵菌丝体相关制剂的研究现状[J].药物分析杂志,2009,29(4):680-685.
- [ 11 ] 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.
- [ 12 ] 孙晶波,于晶,安丽萍,等.不同来源北冬虫夏草中总黄酮的提取及含量测定[J].北方园艺,2015,13(11):137-139.
- [ 13 ] 钟承赞,管咏梅,李钰,等.发酵虫草菌粉中微量元素含量的测定[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(19):67-70.
- [ 14 ] 宗时宇,浦益琼,张彤,等.虫草属核苷类成分分析方法的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(16):219-225.
- [ 15 ] 黄丽萍,黄丽英,李喜载,等.液相色谱-质谱联用分析银线莲中六种核苷类物质[J].中国医院药学杂志,2015,35(8):678-682.
- [ 16 ] 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.
- [ 17 ] Tuli H S, Sandhu S S, Sharma A K, et al. Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to Cordycepin [J]. 3 Biotech, 2014, 4(1): 1-12.
- [ 18 ] 宋林,朱晓龙,裘聪,等.核苷类逆转录酶抑制剂对血管生成和淋巴管生成的作用和机制研究[J].中国病理生理杂志,2016,32(8):1514.
- [ 19 ] ZONG S Y, HAN H, WANG B, et al. Fast simultaneous determination of 13 nucleosides and nucleobases in *Cordyceps sinensis* by UHPLC-ESI-MS/MS [J]. Molecules, 2015, 20(12): 21816-21825.
- [ 20 ] 钱正明,李文庆,王传喜,等.高效液相色谱定量分析比较4种虫草药材的核苷类成分[J].中国中药杂志,2016,41(13):2493-2499.
- [ 21 ] 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].中国药学杂志,2015,50(4):293-298.
- [ 22 ] 张萍,肖新月,李远科,等.5种发酵虫草制剂中核苷及碱基成分的分析[J].药物分析杂志,2009,29(6):889-893.
- [ 23 ] 唐晓双,陈和平,宋林洵,等.不同产地的蛹虫草、虫草花与冬虫夏草中虫草素含量对比[J].航天医学与医学工程,2016,29(2):116-119.
- [ 24 ] LIN S, LIU Z Q, XUE Y P, et al. Biosynthetic pathway analysis for improving the cordycepin and cordycepic acid production in *Hirsutella sinensis* [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2016, 179(4): 633-649.
- [ 25 ] YUAN J P, WANG J H, KUANG H C, et al. Simultaneous determination of free ergosterol and ergosteryl esters in *Cordyceps sinensis* by HPLC [J]. Food Chem, 2007, 105(4): 1755-1759.
- [ 26 ] 相聪坤,宿树兰,关胜江,等. HPLC法测定不同产地不同品种马勃药材中麦角甾醇[J].中草药,2016,47(8):1397-1400.
- [ 27 ] ZHU Z Y, WANG Z Q, LIU F, et al. Synthesis and antitumor activity of a new ergosterol derivative [J]. Chem Nat Compd, 2016, 52(2): 252-255.
- [ 28 ] 唐艳斌,段晓艳,王丽娟,等.麦角甾醇含量检测分析柑橘真菌污染程度的方法研究[J].中国酿造,2016,35(6):50-54.
- [ 29 ] 钱正明,李文庆,孙敏甜,等.冬虫夏草化学成分分析[J].菌物学报,2016,35(4):466-490.
- [ 30 ] 张萍,肖新月,黄玮,等. RP-HPLC-UV法测定5种发酵虫草制剂中麦角甾醇的含量[J].药物分析杂志,2011,31(2):258-260.
- [ 31 ] SUN K, ZHU Z, DING L, et al. Study on submerged fermentation conditions for intracellular polysaccharide of *Cordyceps gunni* [J]. Lect Notes Elec Eng, 2014, 249(1): 343-349.
- [ 32 ] LIN H Y, Tsai S Y, Tseng Y L, et al. Gamma irradiation for improving functional ingredients and determining the heat treatment conditions of *Cordyceps militaris* mycelia [J]. J Therm Anal Calorim, 2015, 120(1): 439-448.
- [ 33 ] Hsieh C, Tsai M J, Hsu T H, et al. Medium optimization for polysaccharide production of *Cordyceps sinensis* [J]. Microbiol Biotechnol, 2005, 120(2): 145-157.
- [ 34 ] LIU J Y, FENG C P, LI X, et al. Immunomodulatory and antioxidative activity of *Cordyceps militaris* polysaccharides in mice [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 86: 594-598.
- [ 35 ] XIANG F, LIN L, HU M, et al. Therapeutic efficacy of a polysaccharide isolated from *Cordyceps sinensis* on hypertensive rats [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 82:

- 308-341.
- [36] ZHU Z Y, LIU X C, TANG Y L, et al. Effects of cultural medium on the formation and antitumor activity of polysaccharides by *Cordyceps gunnii* [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2016, 122(4): 494-498.
- [37] LIU S, LIU Z Q, Baker P J, et al. Enhancement of cordyceps polysaccharide production via biosynthetic pathway analysis in *Hirsutella sinensis* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 92: 872-880.
- [38] 方尚瑜, 贾志华, 张霞, 等. 碳氮源对液体培养蛹虫草生物合成多糖的影响 [J]. *食品科学*, 2013, 34(13): 165-169.
- [39] Kumar S S, Nandini G, Singh A N. Optimized extraction, composition, antioxidant and antimicrobial activities of exo and intracellular polysaccharides from submerged culture of *Cordyceps cicadae* [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15(1): 446-456.
- [40] ZHU Z Y, LIU X C, DONG F Y, et al. Influence of fermentation conditions on polysaccharide production and the activities of enzymes involved in the polysaccharide synthesis of *Cordyceps militaris* [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2016, 100(9): 3909-3921.
- [41] WANG J, NIE S, KAN L, et al. Comparison of structural features and antioxidant activity of polysaccharides from natural and cultured *Cordyceps sinensis* [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2017, 26(1): 55-62.
- [42] 王普, 郑明, 何军邀, 等. 虫草多糖的化学结构及药理活性研究进展 [J]. *浙江工业大学学报*, 2010, 38(2): 129-133.
- [43] WANG J, NIE S, CUI S W, et al. Structural characterization and immunostimulatory activity of a glucan from natural *Cordyceps sinensis* [J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 67: 139-147.
- [44] JING Y, ZHU J, LIU T. Structural characterization and biological activities of a novel polysaccharide from cultured *Cordyceps militaris* and its sulfated derivative [J]. *J Agr Food Chem*, 2015, 63(13): 3464-3471.
- [45] ZHU Z Y, LIU F, GAO H, et al. Synthesis, characterization and antioxidant activity of selenium polysaccharide from *Cordyceps militaris* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 93 (Pt A): 1090-1099.
- [46] WANG Y, WANG Y, LIU D, et al. *Cordyceps sinensis* polysaccharide inhibits PDGF-BB-induced inflammation and ROS production in human mesangial cells [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 125: 135-145.
- [47] DONG K Z, GAO Y S, WANG X H, et al. Protective effect of mycelial polysaccharides from *Cordyceps sinensis* on immunological liver injury in mice [J]. *Medical J Chin People's Liberation Army*, 2016, 41(4): 284-288.
- [48] LIU X J, HUANG Y C, CHEN Y J, et al. Partial structural characterization, as well as immunomodulatory and anti-aging activities of CP2-c2-s2 polysaccharide from *Cordyceps militaris* [J]. *RSC Adv*, 2016, 106(6): 104094-104103.
- [49] WANG L, XU N, ZHANG J, et al. Antihyperlipidemic and hepatoprotective activities of residue polysaccharide from *Cordyceps militaris* SU-12 [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 131: 355-362.
- [50] CHANG Y, Hsu W H, LU W J, et al. Inhibitory mechanisms of CME-1, a novel polysaccharide from the mycelia of *Cordyceps sinensis*, in platelet activation [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2015, 16(5): 451-461.
- [51] DONG Y, HU S, LIU C, et al. Purification of polysaccharides from *Cordyceps militaris* and their antihypoxic effect [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2): 1312-1317.
- [52] 胡贤达, 周菲, 黄雪, 等. 冬虫夏草中虫草多糖的药理研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(6): 224-229.
- [53] 刘建华, 孙月, 卜宁. 人工培育蛹虫草与野生蛹虫草氨基酸成分测试分析 [J]. *中国食用菌*, 1999, 18(3): 18-19.
- [54] 王丽, 宋志峰, 黄璜, 等. HPLC 测定不同产地冬虫夏草中氨基酸的含量 [J]. *中成药*, 2010, 32(6): 984-987.
- [55] 于士军, 刘肖肖, 张胜利, 等. 7 种虫草真菌菌丝游离氨基酸的聚类分析和主成分分析 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, (7): 2715-2721.
- [56] LE J, LIU J, BO Z, et al. The effect of Zn on the Zn accumulation and biosynthesis of amino acids in mycelia of *Cordyceps sinensis* [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2006, 13(1): 45-51.
- [57] 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.
- [58] 蔡仲军, 尹定华, 黄天福, 等. 不同产地冬虫夏草甘露醇含量比较 [J]. *中国药房*, 2003, 14(8): 57-58.
- [59] WANG J, KAN L, NIE S, et al. A comparison of chemical composition, bioactive components and antioxidant activity of natural and cultured *Cordyceps sinensis* [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2015, 63(1): 2-7.
- [60] 刘薇, 肖新月, 宋宗华, 等. HPLC-RID 法替代滴定法测定百令胶囊中甘露醇含量的研究 [J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(1): 159-162.
- [61] LAI M K P, Chew W S, Torta F, et al. Biological effects of naturally occurring sphingolipids, uncommon variants, and their analogs [J]. *Neuro Mol Med*, 2016, 18(3): 396-414.
- [62] MI J N, HAN Y, XU Y, et al. New immunosuppressive

- sphingoid base and ceramide analogues in wild *Cordyceps* [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38641.
- [63] MI J N, WANG J R, JIANG Z H, et al. Quantitative profiling of sphingolipids in wild *Cordyceps* and its mycelia by using UHPLC-MS [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20870.
- [64] BAI K C, Sheu F. A novel protein from edible fungi *Cordyceps militaris* that induces apoptosis [J]. *J Food Drug Anal*, 2016: [http://dx. doi. org/10. 1016/j. jfda. 2016. 10. 013](http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.013).
- [65] LI C H, ZUO H L, ZHANG Q, et al. Analysis of soluble proteins in natural *Cordyceps sinensis* from different producing areas by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and two-dimensional electrophoresis [J]. *Pharmacognosy Res*, 2017, 9(1): 34-38.
- [66] 余伯成, 唐亮. 冬虫夏草药理学研究进展 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2011, 17(5): 585-590.
- [67] 李强, 杜思逸, 张忠亮, 等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望 [J]. *中草药*, 2013, 44(22): 3095-3104.
- [68] ZHAO Y, KAO C P, LIAO C R, et al. Chemical compositions, chromatographic fingerprints and antioxidant activities of *Citri Exocarpium Rubrum* (Juhong) [J]. *Chin Med*, 2017, 12(1): 1-15.
- [69] YU R M, YE B, YAN C Y, et al. Fingerprint analysis of fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris* by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2007, 44(3): 818-823.
- [70] 祝明, 金樟照, 陈勇, 等. 百令胶囊的指纹图谱鉴别研究 [J]. *中成药*, 2007, 29(9): 1254-1256.
- [71] CUI L L, ZHANG Y Y, SHAO W, et al. Analysis of the HPLC fingerprint and QAMS from pyrrosia species, industrial crops and products [J]. *Ind Crop Prod*, 2016, 85: 29-37.
- [72] XIE J, LI J, LIANG J, et al. Determination of contents of catechins in oolong teas by quantitative analysis of multi-components via a single marker (QAMS) method [J]. *Food Anal Method*, 2017, 10(2): 363-368.
- [73] LI D W, ZHU M, SHAO Y D, et al. Determination and quality evaluation of green tea extracts through qualitative and quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) [J]. *Food Chem*, 2016, 197 (PtB): 1112-1120.
- [74] JIANG Y H, CHEN H, WANG L L, et al. Quality evaluation of polar and active components in crude and processed *Fructus Corni* by quantitative analysis of multicomponents with single marker [J]. *J Anal Method Chem*, doi:10.1155/2016/6496840.
- [75] LIN S, YE J, ZHANG W D, et al. Development and validation of an analytical method for the determination of flavonol glycosides in Ginkgo leaves and ShuXueNing injections by a single marker [J]. *J Chromatogr Sci*, 2016, 54(6): 1041-1049.
- [76] ZHAO H Q, WANG X, LI H M, et al. Characterization of nucleosides and nucleobases in natural *Cordyceps* by HILIC-ESI/TOF/MS and HILIC-ESI/MS [J]. *Molecules*, 2013, 18(8): 9755-9769.
- [77] Park S J, Hyun S H, Suh H W, et al. Biochemical characterization of cultivated *Cordyceps bassiana* mycelia and fruiting bodies by 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Metabolomics*, 2013, 9(1): 236-246.
- [78] WEI X, XU N, WU Di, et al. Determination of branched-amino acid content in fermented *Cordyceps sinensis* mycelium by using FT-NIR spectroscopy technique [J]. *Food Bioprocess Technol*, 2014, 7(1): 184-190.
- [79] WU D T, Cheong K L, WANG L Y, et al. Characterization and discrimination of polysaccharides from different species of *Cordyceps* using saccharide mapping based on PACE and HPTLC [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 103(1): 100-109.
- [80] QIAN Z, LI S. Analysis of *Cordyceps* by multi-column liquid chromatography [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2016, 7(2): 202-207.
- [81] SUN J, ZHAO X E, DANG J, et al. Rapid and sensitive determination of phytosterols in functional foods and medicinal herbs by using UHPLC-MS/MS with microwave-assisted derivatization combined with dual ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction [J]. *J Separat Sci*, 2017, 40(3): 725-732.
- [82] WEI X, HU H K, ZHENG B G, et al. Profiling metals in *Cordyceps sinensis* by using inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Anal Method*, 2017, 9(4): 724-728.

[责任编辑 顾雪竹]