

一测多评法同时测定冬虫夏草中 5 个核苷类成分的含量*

咎珂¹, 崔淦², 过立农¹, 刘杰¹, 郑健^{1**}, 马双成^{1**}, 钱正明³, 李文佳³

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 3. 广东东阳光药业有限公司, 东莞 523808)

摘要 目的: 建立一测多评法同时测定冬虫夏草中尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷、2'-脱氧腺苷含量, 并验证方法准确性。**方法:** 采用 RP-HPLC 进行含量测定, 使用 Agilent ZOBAX SB-AQ C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 (A) - 水 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0~5 min, 0%A; 5~15 min, 0%A → 10%A; 15~30 min, 10%A), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 260 nm, 进样量 5 μL。以腺苷为参照物, 建立其对尿苷、肌苷、鸟苷、2'-脱氧腺苷的相对校正因子, 并用该校正因子进行尿苷、肌苷、鸟苷、2'-脱氧腺苷的含量计算, 实现一测多评; 同时采用外标法测定冬虫夏草中 5 个核苷的含量, 并比较计算值与实测值的差异, 以验证一测多评法的准确性和可行性。**结果:** 尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷、2'-脱氧腺苷进样量分别在 4.945~98.90、1.852~37.04、4.795~95.90、5.175~103.5 和 1.892~37.84 μg · mL⁻¹ 范围内呈现良好线性关系; 平均加样回收率 (n=6) 分别为 98.3% (RSD=1.6%)、101.3% (RSD=1.3%)、100.6% (RSD=1.1%)、98.8% (RSD=1.4%) 和 101.1% (RSD=1.7%)。尿苷、肌苷、鸟苷、2'-脱氧腺苷相对于腺苷的相对校正因子分别为 1.41、1.90、1.74 和 0.964; 且在不同实验条件下重现性良好 (RSD<3.0%); 一测多评法的计算结果与外标法实测值之间无显著差异。20 批冬虫夏草中尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷的含量范围分别为 0.101%~0.210%、0.037%~0.135%、0.066%~0.203%、0.015%~0.102% 和 0.0018%~0.013%。**结论:** 建立的一测多评法可作为冬虫夏草中 5 个核苷类化学成分的含量测定方法。**关键词:** 一测多评 (QAMS); 校正因子; 冬虫夏草人工繁育品; 野生冬虫夏草; 核苷; 尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷、2'-脱氧腺苷

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2018) 04-0630-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2018.04.10

Simultaneous determination of five nucleosides in *Cordyceps sinensis* (BerK.) Sacc. by QAMS*

ZAN Ke¹, CUI Gan², GUO Li-nong¹, LIU Jie¹, ZHENG Jian^{1**},
MA Shuang-cheng^{1**}, QIAN Zheng-ming³, LI Wen-jia³

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 3. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., Dongguan 523808, China)

Abstract Objective: To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) for the determination of uridine, inosine, guanosine, adenosine and 2'-deoxyadenosine in *Cordyceps sinensis*, and validate

* 中医药行业科研专项“中药饮片质量保障系统研究(一)”资助(编号 201507002); 十二五国家科技重大专项(2014ZX09304307-002)

** 通信作者 马双成 Tel: (010) 67095272; E-mail: masc@nifdc.org.cn

郑健 Tel: (010) 67095739; E-mail: bjzj825@163.com

第一作者 Tel: (010) 67095739; E-mail: 6206310@qq.com

its feasibility for quality evaluation. **Methods:** An HPLC method was applied to quality assessment using a ZOBAX SB-AQ C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile (A) and water (B) with the gradient elution (0–5 min, 0%A; 5–15 min, 0%A → 10%A; 15–30 min, 10%A), and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The column temperature was set at 30 °C. The chromatograms were monitored at 260 nm. The injection volume was 5 μL. Five nucleosides (uridine, inosine, guanosine and adenosine) and 2'-deoxyadenosine were selected as analytes to evaluate the quality of *Cordyceps sinensis*. The relative correction factors (RCFs) of adenosine to the other four ingredients were calculated. The method was evaluated by the comparison of the quantitative results between external standard method and QAMS method. **Results:** The linear ranges of uridine, inosine, guanosine, adenosine and 2'-deoxyadenosine were 4.945–98.90 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$), 1.852–37.04 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$), 4.795–95.90 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$), 5.175–103.5 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$) and 1.892–37.84 μg · mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$), respectively; the average recoveries ($n=6$) were 98.3% (RSD=1.6%), 101.3% (RSD=1.3%), 100.6% (RSD=1.1%), 98.8% (RSD=1.4%) and 101.1% (RSD=1.7%), respectively. RCFs of uridine, inosine, guanosine, and 2'-deoxyadenosine with reference to adenosine were 1.41, 1.90, 1.74 and 0.964, respectively, and the repeatability was good in different experimental conditions (RSD<3.0%). There were no significant differences between the quantitative results of the QAMS method and external standard method (ESM). The contents of uridine, inosine, guanosine, adenosine and 2'-deoxyadenosine in 20 batches of samples of *Cordyceps sinensis* were 0.101%–0.210%, 0.037%–0.135%, 0.066%–0.203%, 0.015%–0.102% and 0.001 8%–0.013%, respectively.

Conclusion: The established QAMS method could be used for the assay of 5 nucleosides in *Cordyceps sinensis*.

Keywords: quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS); relative correction factor (RCF); cultivated *Cordyceps sinensis*; wild *Cordyceps sinensis*; nucleosides; uridine; inosine; guanosine; adenosine; 2'-deoxyadenosine

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (BerK.) Sacc. 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体, 主要分布在我国青海、西藏、甘肃、云南和四川等高海拔地区, 是传统的名贵中药材, 在中国有悠久的药用历史, 具有补肾益肺、止咳化痰的功效^[1-3]。近年来, 冬虫夏草的人工繁育技术获得突破, 为冬虫夏草野生资源稀缺可持续发展提供了一条途径^[4]。核苷类成分是冬虫夏草的主要活性成分, 具有明显的药理活性, 《中华人民共和国药典》以下简称中国药典) 以腺苷为含量测定指标。冬虫夏草的核苷类成分研究较多, 尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷、2'-脱氧腺苷等为含量较高的 5 个核苷^[5-10]。

一测多评法作为一种对多指标质量控制的有效方法, 只测定某个代表性成分, 同时可计算出其他待测成分的含量, 是一种适合中药特点的多指标质量评价的新模式^[11-15]。冬虫夏草作为一种常用中药材, 仅有 1 篇文献报道采用一测多评法测定尿苷、尿苷和腺苷 3 个成分^[16]。本实验以腺苷对照品作为内标物, 建立其与尿苷、肌苷、鸟苷、2'-脱氧腺苷的相对

校正因子进行含量计算, 并考察方法耐用性及系统适用性, 以验证一测多评法在冬虫夏草多指标质量控制中应用的适用性及可行性。

1 仪器与试剂

Ultimate 3000 型液相色谱仪 (Thermo 公司), QUINTIX313-1CN 型万分之一电子天平 (Sartorius 公司), MSE125S 型十万分之一电子天平 (Sartorius 公司), KQ-500DV 型超声波清洗器 (江苏昆山市超声仪器有限公司), Milli-Q 去离子水发生器 (密理博公司)。

对照品尿苷 (批号 110887-200202)、肌苷 (批号 140669-201305)、鸟苷 (批号 111977-201501) 和腺苷 (批号 110879-200202) 均由中国食品药品检定研究院提供, 2'-脱氧腺苷由上海源叶生物技术公司提供, HPLC-DAD (面积归一化法) 检测纯度均大于 98.0%。甲醇和乙腈为色谱纯 (Fisher 公司), 试验用水为超纯水。

10 批野生冬虫夏草 (YS-1~YS-10 号样品) 采自于西藏自治区、青海省、四川省、甘肃省、云南省; 10

批冬虫夏草人工繁育品(RG-1~RG-10号样品)由广东东阳光药业有限公司提供,均经中国食品药品检定研究院郑健研究员鉴定为麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (BerK.) Sacc. 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体。

2 方法与结果

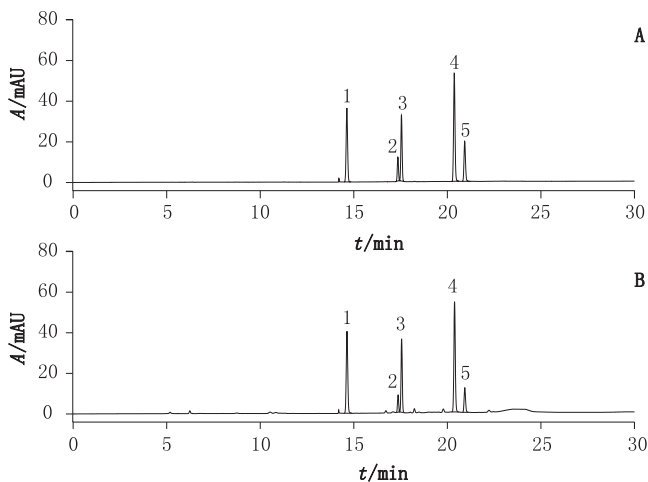
2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液 取尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和2'-脱氧腺苷的对照品适量,精密称定,加20%甲醇制成每1 mL含尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和2'-脱氧腺苷分别为494.5、185.2、479.5、517.5和189.2 μg 的对照品储备液。分别取各对照品储备液适量,加水制成每1 mL含上述5个成分分别为49.45、18.52、47.95、51.75和18.92 μg 的混合溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液 取本品粉末(过3号筛)约0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入20%甲醇10 mL,称量,超声处理(功率300 W,频率40 kHz,20 $^{\circ}\text{C}$ 以下)30 min,再称量,用20%甲醇补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2 色谱条件与系统适用性

采用Agilent ZOBAX SB-AQ C_{18} 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),以乙腈(A)-水(B)为流动相,梯度洗脱(0~5 min, 0%A; 5~15 min, 0%A $\rightarrow$ 10%A; 15~30 min, 10%A),柱温30 $^{\circ}\text{C}$,检测波长260 nm,进样量5 μL 。各峰与邻峰的分离度均大于1.5,理论塔板数按腺苷计算在6000以上。对照品及样品的色谱图见图1。



1. 尿苷(uridine) 2. 肌苷(inosine) 3. 鸟苷(guanosine) 4. 腺苷(adenosine)
5. 2'-脱氧腺苷(2'-deoxyadenosine)

图1 混合对照品(A)及RG-5号冬虫夏草(B)HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *Cordyceps sinensis* sample No. RG-5 (B)

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密吸取各对照品储备液0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 mL,分别置于5个10 mL量瓶中,加20%甲醇定容至刻度,摇匀,即得系列浓度的混合对照品溶液。分别精密吸取上述混合对照品溶液各5 μL ,注入液相色谱仪,测定,以各对照品质量浓度 $X(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ 为横坐标,以峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,结果见表1,表明各化合物在相应线性范围内线性关系良好。

表1 各被测成分的回归方程、相关系数(r)和线性范围

Tab. 1 Regression equations, correlation coefficients (r), linear ranges of the investigated components

成分(composition)	回归方程(regression equation)	r	线性范围(linear range)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
尿苷(uridine)	$Y=0.205X-0.008$	0.999 9	4.945~98.90
肌苷(inosine)	$Y=0.337X-0.063$	0.999 9	1.852~37.04
鸟苷(guanosine)	$Y=0.274X+0.014$	0.999 9	4.795~95.90
腺苷(adenosine)	$Y=0.296X-0.045$	0.999 9	5.175~103.5
2'-脱氧腺苷(2'-deoxyadenosine)	$Y=0.431X-0.016$	0.999 9	1.892~37.84

2.3.2 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液5 μL ,按“2.2”项下色谱条件测定,连续进样6次,记录峰面积。结果尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和2'-脱氧腺苷峰面积的RSD($n=6$)分别为0.46%、0.88%、0.69%、1.0%和0.92%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取同一批样品(YS-1号样品)粉末6份,每份0.2 g,精密称定,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,

记录峰面积,计算含量。结果样品中尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和2'-脱氧腺苷平均含量($n=6$)分别为0.210%、0.101%、0.138%、0.058%和0.003%,RSD分别为0.95%、1.2%、0.98%、1.2%和1.4%,表明重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液(YS-1号样品)5 μL ,分别在0、2、4、8、12、24 h进样测定。结果尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和2'-脱氧腺苷峰面积的RSD($n=6$)分别为0.97%、1.2%、1.0%、0.78%

和 0.58%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的 YS-1 号样品粉末 6 份, 每份约 0.1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入各对照品溶液 (尿苷 $201.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 肌苷 $193.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 鸟苷 $93.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 腺苷 $71.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 2'-脱氧腺苷 $11.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 各 1 mL, 分别按照“2.1.2”项下方法制备供试溶液, 按“2.2”项下色谱条件测定, 记录峰面积, 计算回收率, 结果尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷平均加样回收率 ($n=6$) 分别为 98.3%、101.3%、100.6%、98.8% 和 101.1%, RSD 分别为 1.6%、1.3%、1.1%、1.4% 和 1.7%。

2.4 校正因子重现性考察

2.4.1 高效液相色谱仪及色谱柱考察 试验考察采用 Thermo Ultimate 3000、Waters H-Class 和 Agilent 1260 型 3 台高效液相色谱系统和 Agilent ZOBAX SB-AQ (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm)、Waters ACQUITY HSS T3 C₁₈ (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm)、SHIMADZU

InertSustain AQ-C₁₈ (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm) 3 种色谱柱时的相对校正因子 (相对校正因子 $= A_i \times C_s / A_s \times C_i$, 式中 A_s 为待测成分 s 的峰面积, C_s 为质量浓度; A_i 为内参物 i 的峰面积, C_i 为质量浓度)。结果 (表 2) 表明, 采用不同的色谱柱及高效液相色谱仪, 相对校正因子具有较好的重现性, 能够用于上述 5 个核苷的含量测定。

2.4.2 待测组分色谱峰的定位 本研究采用各待测成分间的相对保留值 (待测成分与内参物调整保留时间之比) 作为定位标准, 并在不同品牌高效液相色谱系统和不同色谱柱下对该参数进行考察。结果表明, 不同仪器和色谱柱下各成分间的相对保留值波动较小, RSD 在 1.2%~3.2%, 见表 3。结果说明, 在对照品短缺的情况下, 利用相对保留值进行色谱峰定位, 可根据内参物的保留时间, 结合各色谱峰的紫外吸收特征及相对保留值, 能够较准确地确定目标峰的位置。因此选用各成分相对保留值这一参数作为冬虫夏草中上述 5 个目标色谱峰的定位指标比较合理。

表 2 不同仪器和色谱柱测得的相对校正因子

Tab. 2 The relative correction factor (RCF) obtained from different equipments and columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	相对校正因子 (RCF)			
		f_1	f_2	f_3	f_4
Thermo 3000	SB-AQ	1.41	1.95	1.74	0.974
	T3	1.40	1.91	1.76	0.964
	InertSustain	1.38	1.90	1.73	0.987
Waters H-Class	SB-AQ	1.40	1.89	1.75	0.982
	T3	1.42	1.86	1.71	0.978
	InertSustain	1.43	1.90	1.73	0.985
Agilent 1260	SB-AQ	1.40	1.92	1.75	0.965
	T3	1.42	1.91	1.76	0.987
	InertSustain	1.39	1.88	1.74	0.979
平均值 (average)		1.41	1.90	1.74	0.964
RSD/%		1.1	1.3	0.93	0.90

注 (note): $f_1=f$ 尿苷 (uridine) / 腺苷 (adenosine), $f_2=f$ 肌苷 (inosine) / 腺苷 (adenosine), $f_3=f$ 鸟苷 (guanosine) / 腺苷 (adenosine), $f_4=f$ 2'-脱氧腺苷 (2'-deoxyadenosine) / 腺苷 (adenosine)

表 3 不同仪器和色谱柱下目标成分的相对保留时间

Tab. 3 The relative retention time obtained from different equipments and columns

仪器 (instrument)	色谱柱 (column)	相对保留时间 (relative retention time)			
		t_1	t_2	t_3	t_4
Thermo 3000	SB-AQ	0.691	0.862	0.892	1.03
	T3	0.678	0.825	0.856	1.04
	InertSustain	0.646	0.834	0.861	1.05
Waters H-Class	SB-AQ	0.671	0.864	0.903	1.03
	T3	0.646	0.816	0.862	1.05
	InertSustain	0.652	0.841	0.864	1.02
Agilent 1260	SB-AQ	0.705	0.878	0.905	1.03
	T3	0.652	0.829	0.869	1.04
	InertSustain	0.659	0.848	0.857	1.06
平均值 (average)		0.667	0.844	0.874	1.04
RSD/%		3.2	2.4	2.3	1.2

注 (note): $t_1=t$ 尿苷 (uridine) / 腺苷 (adenosine), $t_2=t$ 肌苷 (inosine) / 腺苷 (adenosine), $t_3=t$ 鸟苷 (guanosine) / 腺苷 (adenosine), $t_4=t$ 2'-脱氧腺苷 (2'-deoxyadenosine) / 腺苷 (adenosine)

2.5 一测多评法与外标法的结果比较

分别取野生冬虫夏草和人工繁育品约 0.2 g, 精密称定, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.2”项下色谱条件进行测定, 采用外标法和一测多评法计

算冬虫夏草中尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷含量, 见表 4。经 t 检验比较, 结果显示常规的外标法实测含量值与一测多评法计算的含量无显著性差异, 说明一测多评法可用于冬虫夏草的多成分质量评价研究。

表 4 外标法 (ESM) 和一测多评法 (QAMS) 测定冬虫夏草中 5 个核苷的含量 (%, $n=2$)

Tab. 4 The content of five nucleosides in *Cordyceps sinensis* (BerK.) Sacc. by external standard method (ESM) and quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS)

样品编号 (sample No.)	尿苷 (uridine)		肌苷 (inosine)		鸟苷 (guanosine)		腺苷 (adenosine)	2'- 脱氧腺苷 (2'-deoxyadenosine)	
	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	QAMS	ESM	ESM	QAMS
RG1	0.212	0.210	0.103	0.101	0.141	0.138	0.058	0.003 0	0.002 9
RG2	0.114	0.111	0.042	0.041	0.083	0.081	0.052	0.006 5	0.006 3
RG3	0.185	0.182	0.055	0.054	0.155	0.152	0.082	0.003 1	0.003 3
RG4	0.186	0.183	0.044	0.044	0.112	0.108	0.041	0.004 2	0.004 4
RG5	0.170	0.166	0.048	0.046	0.171	0.166	0.102	0.004 3	0.004 5
RG6	0.168	0.166	0.050	0.049	0.101	0.099	0.062	0.007 5	0.007 4
RG7	0.145	0.144	0.038	0.037	0.103	0.101	0.058	0.011	0.011
RG8	0.175	0.173	0.052	0.051	0.114	0.112	0.042	0.002 6	0.002 7
RG9	0.174	0.171	0.139	0.135	0.147	0.142	0.015	0.005 0	0.005 0
RG10	0.202	0.201	0.061	0.060	0.175	0.172	0.095	0.001 7	0.001 8
YS1	0.201	0.198	0.055	0.055	0.178	0.175	0.088	0.011	0.011
YS2	0.145	0.141	0.091	0.090	0.185	0.182	0.062	0.009 1	0.009 2
YS3	0.186	0.183	0.062	0.061	0.176	0.173	0.091	0.008 1	0.008 3
YS4	0.152	0.151	0.050	0.048	0.086	0.083	0.065	0.013	0.013
YS5	0.102	0.101	0.037	0.038	0.163	0.162	0.058	0.008 7	0.008 5
YS6	0.171	0.169	0.111	0.108	0.206	0.203	0.047	0.004 4	0.004 3
YS7	0.214	0.210	0.049	0.048	0.151	0.146	0.068	0.009 6	0.009 4
YS8	0.182	0.181	0.109	0.107	0.169	0.165	0.021	0.004 4	0.004 2
YS9	0.121	0.122	0.049	0.050	0.086	0.084	0.055	0.009 0	0.008 8
YS10	0.128	0.125	0.041	0.042	0.068	0.066	0.042	0.012	0.012

3 讨论

采用一测多评校正因子进行样品含量计算, 由于在不同波长下偏差较大, 如何选定适合的波长对降低测定误差很关键。经二极管阵列检测器分析, 尿苷、肌苷、鸟苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷的最大吸收波长分别为 262、248、254、260 和 260 nm, 综合考虑 5 个成分, 结果发现在 260 nm 处上述 5 个成分均具有较大吸收且色谱峰分离度均大于 1.5, 达到色谱分析要求, 因此选用 260 nm 作为检测波长。

本研究同时考察了 Thermo Ultimate 3000、Waters H-Class 和 Agilent 1260 型 3 台高效液相色谱仪以及不同品牌的 3 根色谱柱, 结果由表 2 和表 3 可看出, 尿苷、肌苷、鸟苷和 2'-脱氧腺苷成分和内参物腺苷之间的相对校正因子重现性良好, 说明一测多评法对

冬虫夏草中 5 个核苷类成分含量的测定具有可行性。

分别采用外标法和一测多评法对 10 批冬虫夏草人工繁育品和 10 批野生品中 5 个核苷的含量测定结果进行比较分析, 采用相对平均偏差比较 2 种方法的准确性, 2 种方法对同一样品的测定结果之间的相对平均偏差均在 3% 以内, 表明 2 种测定方法所得结果具有较好的重现性, 一测多评法可用于冬虫夏草中 5 个核苷类成分的含量测定。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2015 年版. 一部[S]. 2015: 115
ChP 2015. Vol I [S]. 2015: 115
- [2] 郭海平, 杨智敏. 冬虫夏草药理作用研究进展[J]. 中草药, 1999, 30(3): 231
GUO HP, YANG ZM. Pharmacological study progress of *Cordyceps*

- sinensis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 1999, 30(3): 231
- [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
HU XD, HUANG X, WANG B, *et al.* Progress in studies on antitumor and immunomodulatory effect of *Cordyceps sinensis* [J]. Drug Eval Res, 2015, 38(4): 448
- [4] 李文佳, 董彩虹, 刘杏忠, 等. 冬虫夏草培植技术研究进展[J]. 菌物学报, 2016, 35(4): 1
LI WJ, DONG CH, LIU XZ, *et al.* Research advances in artificial cultivation of Chinese *Cordyceps* [J]. Mycosystema, 2016, 35(4): 1
- [5] YANG FQ, LI DQ, FENG K, *et al.* Determination of nucleotides, nucleosides and their transformation products in *Cordyceps* by ion-pairing reversed-phase liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2010, 1217(34): 5501
- [6] GUO FQ, LI A, HUANG LF, *et al.* Identification and determination of nucleosides in *Cordyceps sinensis* and its substitutes by high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection [J]. J Pharm Biomed Anal, 2006, 40(3): 623
- [7] FAN H, LI SP, XIANG JJ, *et al.* Qualitative and quantitative determination of nucleosides, bases and their analogues in natural and cultured *Cordyceps* by pressurized liquid extraction and high performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS) [J]. Anal Chim Acta, 2006, 567(2): 218
- [8] HUANG LF, LIANG YZ, GUO FQ, *et al.* Simultaneous separation and determination of active components in *Cordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris* by LC/ESI-MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2003, 33(5): 1155
- [9] 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
QIAN ZM, LI WJ, WANG CX, *et al.* Quantitative analysis of nucleosides in four *Cordyceps* genus by HPLC [J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(13): 2493
- [10] 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): 476
QIAN ZM, LI WJ, SUN MT, *et al.* Analysis of chemical compounds in Chinese *Cordyceps* [J]. Mycosystema, 2016, 35(4): 476
- [11] 王智民, 钱忠直, 张启伟. 一测多评法建立的技术指南[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 657
WANG ZM, QIAN ZZ, ZHANG QW. The guidelines for establishment of QAMS [J]. China J Chin Mater Med, 2011, 36(6): 657
- [12] 李倩, 刘伟, 罗祖良, 等. 一测多评法测定丹参中丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I、二氢丹参酮 I 的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 824
LI Q, LIU W, LUO ZL, *et al.* Simultaneous determination of four tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* by QAMS [J]. China J Chin Mater Med, 2012, 37(6): 824
- [13] 付滢舟, 冯有龙, 曹玲, 等. 一测多评法测定速效救心丸中冰片的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(5): 775
FU YZ, FENG YL, CAO L, *et al.* Determination of borneol in Suxiao Jiuxin pills by quantitative analysis of multi-components by single-marker [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(5): 775
- [14] 李安平, 杨锡, 丁永辉, 等. 一测多评 HPLC 法测定丹参注射液中 7 个水溶性成分含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(1): 144
LI AP, YANG X, DING YH, *et al.* HPLC method for simultaneous measurement of seven water-soluble ingredients with single marker in Danshen injection [J]. Chin J Pharm Anal, 2012, 32(1): 144
- [15] 王智民, 高惠敏, 付雪涛, 等. 一测多评法中药质量评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1925
WANG ZM, GAO HM, FU XT, *et al.* Multi-components quantitation by one marker new method for quality evaluation of Chinese herbal medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2006, 31(23): 1925
- [16] 钱正明, 孙敏甜, 艾中, 等. 一测多评法测定冬虫夏草中 3 种核苷的含量[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(15): 1297
QIAN ZM, SUN MT, AI Z, *et al.* Simultaneous determination of three nucleosides in *Cordyceps sinensis* by QAMS [J]. Chin Pharm J, 2015, 50(15): 1297

(本文于 2017 年 5 月 18 日收到)