

研究报告

## 响应面法优化粉被虫草中虫草素的提取工艺

唐果<sup>1</sup> 孟泽彬<sup>1\*</sup> 文庭池<sup>2</sup> 李茂双<sup>1</sup> 姬玉竹<sup>1</sup> 李维<sup>1</sup> 王晓桃<sup>1</sup>

(1. 贵州师范学院贵州特色生物资源开发利用重点实验室 贵州 贵阳 550018)

(2. 贵州大学西南药用生物资源教育部工程研究中心 贵州 贵阳 550025)

**摘要:**【背景】粉被虫草是民间常用药用真菌，具有抗辐射等多种药理作用，虫草素是其重要的活性物质。【目的】探究粉被虫草中提取虫草素的影响因素，为制取虫草素提供参考。【方法】以虫草素得率为指标，用响应面法优化超声提取工艺。分别考察超声时间、液料比和超声功率对提取效率的影响，在单因素实验基础上进行3因素3水平的响应面分析实验。【结果】最优提取条件为超声时间606 s、液料比45.9:1、超声功率400 W，在此条件下虫草素得率为6.136 mg/g，与模型预测值接近，方程拟合良好。【结论】首次对粉被虫草中虫草素的提取条件进行了研究，将对制取虫草素提供参考，有利于粉被虫草的深度开发利用。

**关键词:** 粉被虫草，虫草素，提取工艺，响应面法

## Optimization of extraction of cordycepin from *Cordyceps pruinosa* by response surface methodology

TANG Guo<sup>1</sup> MENG Ze-Bin<sup>1\*</sup> WEN Ting-Chi<sup>2</sup> LI Mao-Shuang<sup>1</sup> JI Yu-Zhu<sup>1</sup> LI Wei<sup>1</sup>  
WANG Xiao-Tao<sup>1</sup>

(1. Guizhou Bioresource Development and Utilization Key Laboratory, Guizhou Education University, Guiyang, Guizhou 550018, China)

(2. Engineering and Research Center for Southwest Bio-Pharmaceutical Resources of National Education Ministry of China, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

**Abstract:** [Background] *Cordyceps pruinosa* is a traditional medicinal fungus, which has many kinds of pharmacological effects such as anti-radiation. Cordycepin is an important bioactive compound of this fungus. [Objective] The influencing factors of cordycepin extracted from *Cordyceps pruinosa* were studied, so as to provide reference for the preparation of cordycepin from the fungus. [Methods] With extraction yield of cordycepin as the target, the response surface

**Foundation items:** National University Students Innovation and Entrepreneurship Program Foundation of China (201614223034); Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province ([2017]1140); Foundation of Guizhou Provincial Department of Education (KY[2017]020); Foundation of Guizhou Education University (2015BS007, [2016]46)

\*Corresponding author: Tel: 86-851-85816647; E-mail: mengzi2003@126.com

Received: August 27, 2017; Accepted: March 29, 2018; Published online (www.cnki.net): April 18, 2018

基金项目: 国家大学生创新创业项目(201614223034); 贵州省科技厅项目([2017]1140); 贵州省教育厅项目(黔教合KY字[2017]020); 贵州师范学院项目(2015BS007, [2016]46)

\*通信作者: Tel: 86-851-85816647; E-mail: mengzi2003@126.com

收稿日期: 2017-08-27; 接受日期: 2018-03-29; 网络首发日期(www.cnki.net): 2018-04-18

methodology was used to optimize the ultrasonic extraction process. The effects of ultrasonic time, liquid-to-solid ratio and ultrasound power on the extraction efficiency were studied using single factor experiment, then a three levels of response surface methodology experiments was chose to optimize the extraction process. **[Results]** The results showed that the optimum extraction conditions were: ultrasonic time 606 s, liquid-to-solid ratio 45.9:1, ultrasound power 400 W. A cordycepin yield of 6.136 mg/g was obtained under this condition, which was close to the model predicted value and showed the fitting equation was good. **[Conclusion]** In this experiment, the extraction conditions of cordycepin in *Cordyceps pruinosa* were studied for the first time, which would provide reference for the production of cordycepin from *Cordyceps pruinosa* and be helpful for deep use of this fungus.

**Keywords:** *Cordyceps pruinosa*, Cordycepin, Extraction technology, Response surface methodology

虫草是一种虫菌复合体或菌菌复合体(真菌菌核上寄生), 主要寄生于节肢动物, 在世界各地均有分布, 在中国、日本、韩国等亚洲地区长期作为药物使用<sup>[1-2]</sup>。粉被虫草 *Cordyceps pruinosa* Petch, 民间常作为药物使用, 与冬虫夏草同属虫草类真菌, 隶属于真菌界(Fungi)子囊菌门(Ascomycota)子囊菌纲(Ascomycetes)粪壳菌亚纲(Sordariomycetidae)肉座菌目(Hypocreales)虫草菌科(Cordycepitaceae)虫草属(*Cordyceps*), 广泛分布于世界各地<sup>[1-2]</sup>。早期研究表明粉被虫草具有抗辐射<sup>[3-4]</sup>、抗真菌、抗细菌<sup>[5]</sup>、免疫调节<sup>[6]</sup>及调节心血管系统等作用<sup>[7]</sup>; 近来报道其甲醇提取物通过抑制 NF- $\kappa$ B 依赖的炎症基因的表达来抑制炎症, 暗示其有治疗内毒素性休克或败血症的潜在价值<sup>[8]</sup>, 在食品、医药领域有广泛的应用前景<sup>[7]</sup>。目前关于粉被虫草活性成分的报道很少, 从中仅分离到 10 余个化合物: N<sup>6</sup>-(2-羟乙基)-腺苷<sup>[9]</sup>、多糖 ps1、ps2<sup>[10]</sup>、分子式为 C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>O<sub>9</sub> 的天然色素<sup>[11]</sup>、虫草素<sup>[12]</sup>、胆固醇、 $\beta$ -谷甾醇、虫草酸<sup>[13]</sup>、腺嘌呤、尿苷<sup>[14]</sup>。

虫草素(Cordycepin)又称虫草菌素、蛹虫草菌素、3'-脱氧腺苷, 是第一个从真菌中分离出来的核苷类抗菌素, 是虫草的主要活性物质和特征性成分。虫草素分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>, 分子量为 251 Da, 碱性, 针状或片状结晶。虫草素具有广泛的功效, 主要包括: 抗肿瘤、抗菌、抗病毒、免疫调节、抗炎、高血脂调节、抗老化、神经保护、促进学习和记忆、抗氧化剂活性、细胞凋亡, 并对类风湿关节炎产生积极影响, 在治疗白血病方面已进入临床 3 期

试验; 此外, 虫草素和脱氧柯福霉素联合使用治疗第二阶段非洲锥虫病已进入临床前评估<sup>[15-17]</sup>。

2015 年我们首次从粉被虫草中分离出虫草素<sup>[12]</sup>, 目前还没有关于粉被虫草中虫草素提取的研究报道。虽然虫草素也能用化学合成的方法制取, 而且在 1960 年 Todd 和 Ulbricht 就人工合成了虫草素, 但目前的研究均存在反应所需条件较高、产率较低等问题<sup>[18-19]</sup>, 而虫草类真菌人工培养技术成熟, 仍然是虫草素的主要来源。本实验以菌丝体虫草素得率为指标, 首次对粉被虫草中虫草素的提取工艺进行了优化研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

粉被虫草 GUCC8552 菌株保藏于西南药用生物资源教育部工程研究中心。

### 1.2 培养基

PDA 培养基: 马铃薯 200.0 g 切块, 水煮沸 30 min, 过滤取汁, 加入葡萄糖 20.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 000 mL。

种子培养基(g/L): 蔗糖 10.0, 葡萄糖 5.0, 甘油 10.0, 黄豆粉 5.0, 酵母膏 1.0, 磷酸二氢钾 1.0, 硫酸镁 10.0, 氯化钾 0.5, 七水硫酸亚铁 0.01。

液体发酵培养基(g/L): 蛋白胨 10.0, 葡萄糖 10.0, 蔗糖 10.0, 硫酸镁 1.0, 磷酸二氢钾 1.0, 磷酸氢二钾 0.5。

以上培养基均在  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min。

### 1.3 主要试剂和仪器

虫草素对照品购于美国 Sigma 公司; 其他试剂

均为国产分析纯。

高效液相色谱分析仪, 美国安捷伦公司; 超声仪, 昆山市超声仪器有限公司; 电子天平, 德国赛多利斯公司。

#### 1.4 粉被虫草菌丝体的发酵制备

将保存的GZUCC8552菌株转接于PDA斜面培养基上, 26 °C 培养 6–7 d, 活化 2 次。用 10 mL 无菌水洗涤孢子, 将  $4.5 \times 10^9$  个孢子接入液体种子培养基中(装液量为 200 mL/500 mL 三角瓶), 26 °C、100 r/min 恒温暗培养 6 d, 制得种子液。以 3 mL/瓶的接种量将种子液接入灭菌的发酵培养基中(装液量为 200 mL/300 mL 罐头瓶), 于室温(约 20 °C)静置暗培养 120 d, 菌丝体用蒸馏水洗涤后, 60 °C 烘干, 粉碎过 60 目筛, 备用。

#### 1.5 菌丝体中虫草素的提取

精确称取粉被虫草菌粉 0.1 g 于 50 mL 具塞试管中, 加一定量蒸馏水, 在一定功率下常温超声提取, 提取液 4 000 r/min 离心 5 min, 取上层液体经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 制得提取液。实验平行 3 次。

#### 1.6 单因素试验

##### (1) 最适提取时间的筛选

以水为溶剂, 在液料比 20:1 和超声功率 200 W 条件下, 分别超声提取 5、10、15、20、25 min, 然后测定菌丝体虫草素得率, 筛选粉被虫草中虫草素的最适提取时间。

##### (2) 最适液料比的筛选

以水为溶剂, 菌丝体干粉按液料比分别为 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1, 超声提取 10 min, 筛选粉被虫草中虫草素的最适提取液料比。

##### (3) 最适超声功率的筛选

以水为溶剂, 液料比 40:1, 分别以 250、300、350、400、450 W 的功率提取, 超声提取 10 min, 测定菌丝体中虫草素提取率, 筛选粉被虫草中虫草素的最适提取功率。

#### 1.7 响应面试验

以单因素实验结果为基础, 选取提取时间、超

声功率和液料比 3 个因素为自变量, 以菌丝体虫草素得率为响应值, 采用 Box-Behnken 中心组合试验设计 3 因素 3 水平的响应面分析法(Design expert 8.0.6.1)对菌丝体中虫草素提取过程进行优化, 以达到最大限度提取的目的。实验因素与水平设计见表 1。

#### 1.8 样品虫草素的测定

参照 Meng 等(2014)的方法用高压液相色谱法(HPLC)测定虫草素含量<sup>[17]</sup>。色谱条件: 反相 C18 惠杰型高效液相色谱柱, Hypersil ODS 5  $\mu\text{m}$ , 柱长 250 mm, 管径 4.6 mm; 流动相甲醇: 双蒸水(10:90, 体积比); 检测波长 254 nm; 柱温 45 °C; 流速 1 mL/min; 进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

#### 1.9 菌丝体中虫草素得率计算

虫草素得率(质量比)=虫草素质量(mg)/菌丝体质量(g)。

#### 1.10 数据处理

用 SPSS 13.0 和 Design expert 8.0.6.1 软件处理数据, 运用 OriginLab OriginPro 8.5 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 时间对菌丝体中虫草素提取效果的影响

在所选高效液相色谱条件下, 样品虫草素与周围物质的分离情况见图 1。由图 1 可以看出, 粉被虫草样品中虫草素的保留时间与虫草素标准品一致; 同时样品虫草素与周围物质的分离情况很好。说明实验所选 HPLC 条件适合虫草素的检测。

表 1 响应面分析因素与水平

Table 1 Factors and their coded levels in response surface analysis

变量 Variables	代码 Symbol	水平 Coded levels		
		-1	0	1
提取时间 Extraction time (min)	A	5	10	15
液料比 Liquid-to-solid ratio (V/W)	B	30:1	40:1	50:1
超声功率 Ultrasonic power (W)	C	350	400	450

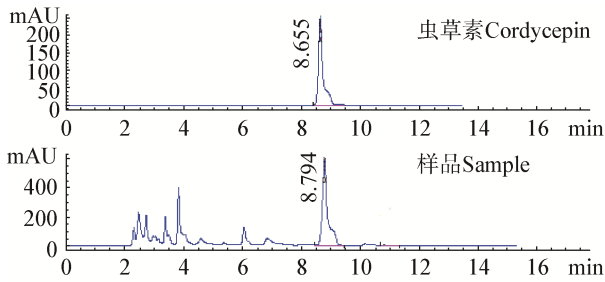


图1 虫草素标准品和粉被虫草提取物的高效液相色谱图  
Figure 1 HPLC spectra of standard cordycepin and *Cordyceps pruinosa* extract

以水为溶剂, 在液料比 20:1 和超声功率 200 W 条件下, 分别超声提取 5、10、15、20、25 min 后测定菌丝体虫草素得率, 结果见图 2。从图 2 可以看出, 随着超声时间的增加, 虫草素得率呈先上升后下降的趋势, 提取 10 min 时虫草素得率最大。因此, 10 min 是粉被虫草中虫草素的最适提取时间。

## 2.2 液料比对菌丝体中虫草素提取效果的影响

以水为溶剂, 菌丝体干粉按液料比分别为 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1 超声提取 10 min, 不同液料比菌丝体中虫草素得率结果见图 3。从图 3 可以看出, 随着液料比的增加, 虫草素得率呈先上升后下降的趋势, 以液料比为 40:1 时虫草素得率最大。因此, 40:1 是粉被虫草中虫草素的最适提取液料比。

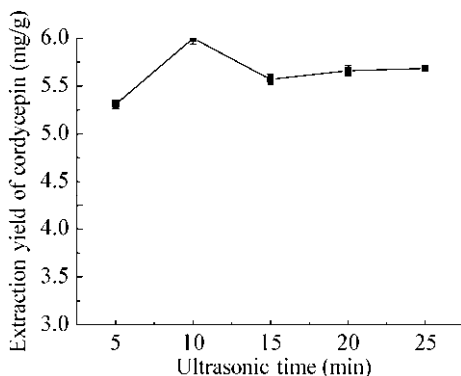


图2 超声时间对粉被虫草中虫草素提取效果的影响  
Figure 2 Effect of extraction time on the extraction efficiency of cordycepin in *Cordyceps pruinosa*

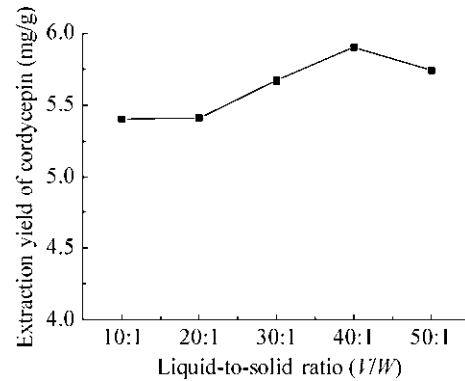


图3 液料比对粉被虫草中虫草素提取效果的影响  
Figure 3 Effect of liquid-to-solid ratio on the extraction efficiency of cordycepin in *Cordyceps pruinosa*

## 2.3 超声功率对菌丝体中虫草素提取效果的影响

以水为溶剂, 液料比 40:1, 分别以 250、300、350、400、450 W 的功率超声提取 10 min, 测定菌丝体中虫草素提取率, 结果见图 4。从图 4 可以看出, 随着超声功率的增加, 虫草素得率呈先上升后下降的趋势, 以超声功率为 400 W 时虫草素得率最大。因此, 400 W 是粉被虫草中虫草素的最适提取功率。

## 2.4 响应面法优化粉被虫草中虫草素的提取工艺

采用 Box-Behnken 中心组合试验设计 3 因素 3 水平的响应面分析法, 对菌丝体中虫草素提取过程进行优化, 响应面分析方案及实验结果见表 2。由 Design expert 8.0.6.1 软件处理数据, 其方差分析结果见表 3。对响应值与各个因素进行回归拟合, 该

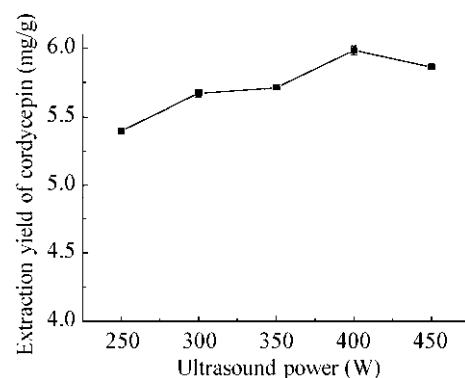


图4 超声功率对粉被虫草中虫草素提取效果的影响  
Figure 4 Effect of ultrasonic power on the extraction efficiency of cordycepin in *Cordyceps pruinosa*

表 2 响应面分析方案及结果

Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

序号 No.	A	B	C	虫草素得率 Cordycepin yield (mg/g)
1	-1	-1	0	5.322
2	1	-1	0	5.125
3	-1	1	0	5.795
4	1	1	0	5.706
5	-1	0	-1	5.652
6	1	0	-1	5.563
7	-1	0	1	6.143
8	1	0	1	5.352
9	0	-1	-1	5.188
10	0	1	-1	5.747
11	0	-1	1	5.161
12	0	1	1	6.048
13	0	0	0	6.036
14	0	0	0	6.122
15	0	0	0	6.102
16	0	0	0	6.114
17	0	0	0	5.988

表 3 回归方程方差分析

Table 3 Analysis of variance for the fitted regression equation

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	df	均方 Mean squares	F	$P_{r>F}$
模型 Model	2.120	9	0.240	21.49	0.000 3
A	0.170	1	0.170	15.48	0.005 6
B	0.780	1	0.780	71.18	<0.000 1
C	0.038	1	0.038	3.50	0.103 7
AA	2.92E-03	1	2.92E-03	0.27	0.622 1
BB	0.120	1	0.120	11.22	0.012 2
CC	0.027	1	0.027	2.45	0.161 5
AB	0.210	1	0.210	18.90	0.003 4
AC	0.560	1	0.560	50.67	0.000 2
BC	0.130	1	0.130	11.47	0.011 6
残差 Residual	0.077	7	0.011		
失拟项 Lack of fit	0.063	3	0.021	6.25	0.054 5
纯误差 Pure error	0.014	4	3.38E-03		
总和 Total	2.200	16			

模型对应的回归方程如下:

$$Y=6.07-0.15A+0.31B+0.069C+0.027AB-0.18AC+0.082BC-0.22A^2-0.36B^2-0.17C^2。$$

对二次回归方程进行方差分析, 模型  $P<0.01$ , 此时回归方差模型极显著, 该试验方法可靠。方程失拟项不显著, 表明该回归模型与实测值能较好地拟合。回归系数  $R^2=0.965$   $2>0.9$ , 表明该模型相关度好。回归方程各项的方差分析表明: A、B、 $A^2$ 、 $B^2$  均达到极显著水平, AC、 $C^2$  达到显著水平。同时由 F 值可推断<sup>[20]</sup>, 在所选择的实验范围内, 3 个因素对虫草素提取率的影响大小依次为: 液料比(B)> 提取时间(A)> 超声功率(C)。

响应面 Y 对于因素 A、B、C 值构成的三维空间在二维平面上的等高图可直观地反映各因素之间的相互作用。Design expert 8.0.6.1 软件处理得到响应面分析结果见图 5-7。可以看出, 3 个三维图

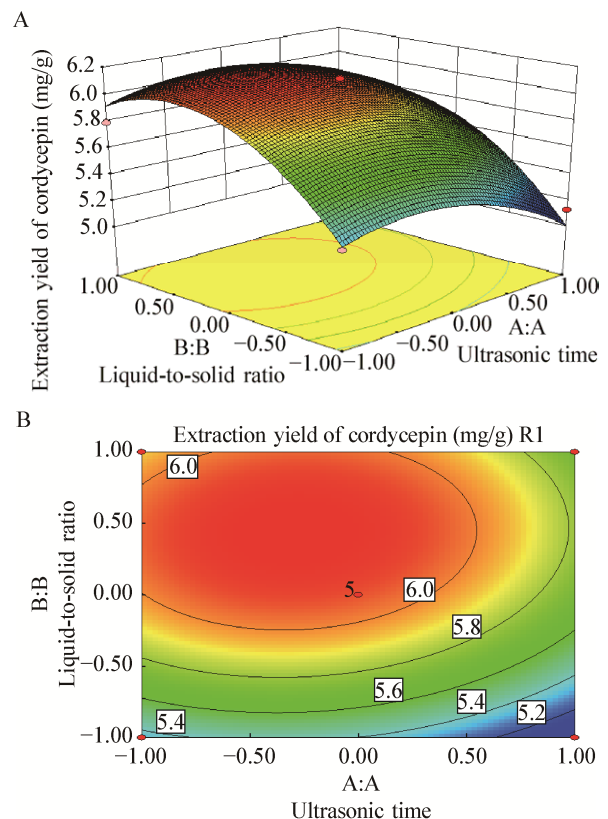


图 5 时间、液料比对提取效果的三维响应面图(A)和等高线图(B)

Figure 5 3D response surface figure (A) and contour map (B) of effect between extraction time with liquid-to-solid ratio

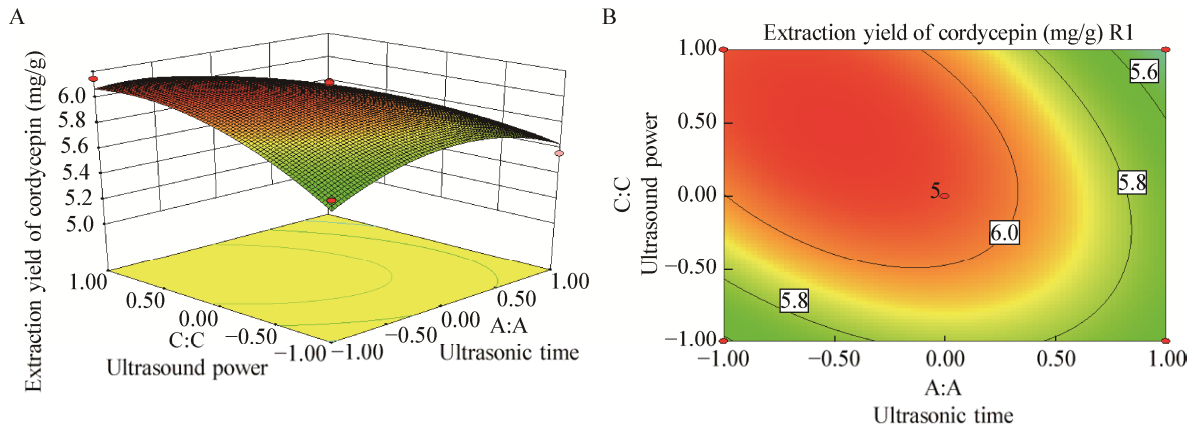


图6 时间、超声功率对提取效果的三维响应面图(A)和等高线图(B)

Figure 6 3D response surface figure (A) and contour map (B) of effect between extraction time with ultrasonic power

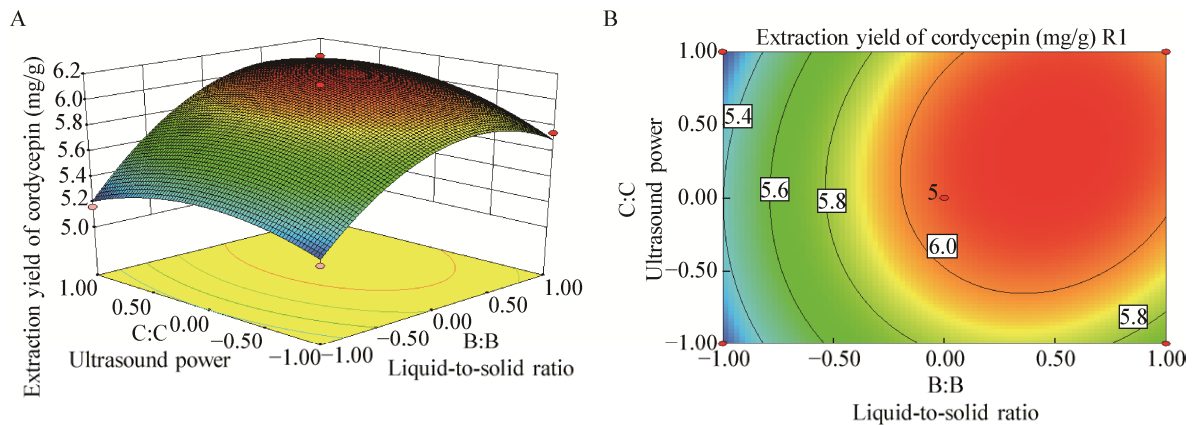


图7 液料比、超声功率对提取效果的三维响应面图(A)和等高线图(B)

Figure 7 3D response surface figure (A) and contour map (B) of effect between liquid-to-solid ratio with ultrasonic power

均呈钟型,表明本实验所选超声时间、液料比和功率3个因素的设定值范围内包含了响应极值;等高线表明超声时间与液料比之间、超声时间与超声功率之间有较强的交互作用,液料比与超声功率之间交互作用较弱。

根据所得到的模型,预测最优工艺条件:超声时间 606 s、水料比 45.9:1、超声功率 421 W,在此条件下虫草素的得率理论上可达到 6.152 mg/g。但考虑到超声仪器每次调节的幅度是 50 W 的实际情况,将最佳工艺修正为超声时间 606 s、水料比 45.9:1、超声功率 400 W。在修正条件下,实际的提取率为  $6.136 \pm 0.011$  mg/g,与理论值较为接近,且与单因素试验中各组最好的提取率均有极显著

差异( $P < 0.01$ ),表明采用响应面法优化得到的提取条件参数是可靠的。

### 3 讨论与结论

本实验用响应面法对粉被虫草中虫草素的提取工艺进行了优化研究,超声提取的最佳工艺条件为超声时间 606 s、水料比 45.9:1、超声功率 400 W,在此条件下虫草素得率为 6.136 mg/g,实验首次对粉被虫草中虫草素的提取工艺进行了研究。

虫草素是虫草中一个主要的、特征性的生物活性物质,是衡量虫草质量的指标性物质之一。目前已报道的虫草素产生菌主要是虫草属的一些种类及从其中分离得到的菌株,包括蛹虫草及其无性型

蛹虫草拟青霉、泰山虫草、九州虫草、蝉花及其无性型蝉拟青霉、香棒虫草、虫草头孢菌、古尼虫草、新疆虫草、蝙蝠蛾被孢霉、拟黑虫草、蝙蝠蛾柱霉、克列特尼棒束孢霉、无冠构巢曲霉<sup>[16]</sup>、轮枝拟青霉<sup>[21]</sup>以及粉被虫草<sup>[17]</sup>。关于虫草素的提取工艺研究绝大多数集中于蛹虫草中虫草素的提取优化,其他种的研究很少。化学物质的提取得率反映了物质的提取效率,也可以反映出物质的含量。殷东林等(2015)测得蛹虫草中虫草素的得率为 68.7 mg/g<sup>[22]</sup>,这是已报道的蛹虫草中虫草素的最高含量,也是虫草中虫草素的最高含量。在其他虫草虫草素含量中,李祝等(2011)报道轮枝拟青霉中虫草素优化后得率为 3.247 mg/g<sup>[21]</sup>,李瑞雪等(2013)报道蝉拟青霉中虫草素得率约为 2.3 mg/g<sup>[23]</sup>。我们 2014 年在粉被虫草中发现了虫草素,并在 2015 年分离到虫草素的单体。在本实验中我们测得了 6.136 mg/g 的含量,这一含量在所有报道虫草种类中仅次于蛹虫草,高于轮枝拟青霉和蝉拟青霉的含量。由此可见,粉被虫草是提取分离虫草素的一个很有潜力的资源品种,但是目前的主要问题在于含量不高,可以通过优化培养基或培养条件、诱变育种、寻找新种质资源等方式提高粉被虫草中虫草素的含量和产量。

虫草素的来源除了虫草等真菌的生物合成外,还有化学合成。在 1960 年 Todd 和 Ulbricht 人工合成了虫草素之后,又有一些学者进行了研究,但仍然存在反应条件较高、产率较低、生产成本过高等问题<sup>[18-19]</sup>。到目前为止,生物合成仍然是虫草素提取、分离的主要来源。本实验运用响应面法成功找到了粉被虫草中虫草素的最佳提取工艺,为虫草素的制取提供了有益的参考,有利于对粉被虫草的深度开发利用。

## REFERENCES

- [1] Liang ZQ. Flora Fungorum Sinicorum Vol. 32 *Cordyceps*[M]. Beijing: Science Press, 2007: 10-47 (in Chinese)  
梁宗琦. 中国真菌志 第三十二卷 虫草属[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 10-47
- [2] Sung GH, Hywel-Jones NL, Sung JM, et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi[J]. *Studies in Mycology*, 2007, 57: 5-59
- [3] Huang JZ, Liang ZQ, Liu AY. Protection to anti-ultraviolet radiation of *Bacillus thuringiensis* in *Mariannaea pruinosa*[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 1992, 5(2): 63-67 (in Chinese)  
黄建忠, 梁宗琦, 刘爱英. 粉被虫草(*Cordyceps pruinosa* Petch)无性型对苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis* subsp. *galleria Heimpel*)抗紫外辐射的保护效应[J]. *西南农业学报*, 1992, 5(2): 63-67
- [4] Liu JL, Tong YY. Effects of *Cordyceps taii* zymotic fluid and *Cordyceps pruinosa* zymotic fluid on humoral immunity in radiated mice[J]. *Journal of Guiyang Medical College*, 1999, 24(4): 323-325 (in Chinese)  
刘杰麟, 童宜英. 戴氏虫草和粉被虫草菌丝体发酵液对放射损伤小鼠体液免疫的影响[J]. *贵阳医学院学报*, 1999, 24(4): 323-325
- [5] Liu JL, Gu JY. Study on bacterial inhibition and fungal inhibition by *Cordyceps pruinosa*[J]. *Journal of Guiyang Medical College*, 1997, 22(4): 344-346 (in Chinese)  
刘杰麟, 谷俊莹. 粉被虫草抑制细菌和真菌作用的初步研究[J]. *贵阳医学院学报*, 1997, 22(4): 344-346
- [6] Liu JL, Fei Y. Enhancement of *Cordyceps taii* polysaccharide and *Cordyceps pruinosa* polysaccharide on cellular immune function *in vitro*[J]. *Immunological Journal*, 2001, 17(3): 189-191 (in Chinese)  
刘杰麟, 费樱. 戴氏虫草和粉被虫草多糖对巨噬细胞等活性的影响[J]. *免疫学杂志*, 2001, 17(3): 189-191
- [7] Xu L, Li CR, Rong YW, et al. Artificial culture of *Cordyceps pruinosa* with three kinds of plant hormones addition[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2008, 35(1): 80-83 (in Chinese)  
徐莉, 李春如, 荣跃文, 等. 3种植物激素对粉被虫草子实体形成的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2008, 35(1): 80-83
- [8] Kim KM, Kwon YG, Chung HT, et al. Methanol extract of *Cordyceps pruinosa* inhibits *in vitro* and *in vivo* inflammatory mediators by suppressing NF- $\kappa$ B activation[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2003, 190(1): 1-8
- [9] Furuya T, Hirotani M, Matsuzawa M. *N*<sup>6</sup>-(2-hydroxyethyl) adenosine, a biologically active compound from cultured mycelia of *Cordyceps* and *Isaria* species[J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(11): 2509-2512
- [10] Huang JZ, Shi QQ, Zhou XL, et al. Isolation and identification and characterization of polysaccharide ps1 and ps2 from mycelia of *Cordyceps pruinosa*[J]. *Journal of Fujian Teachers University (Natural Science)*, 1998, 14(3): 82-85 (in Chinese)  
黄建忠, 施巧琴, 周晓兰, 等. 粉被虫草菌丝体多糖的分离纯化及其性质[J]. *福建师范大学学报: 自然科学版*, 1998, 14(3): 82-85
- [11] Wang XD, Zhang DL, Geng GQ, et al. Natural pigments of *Mariannaea pruinosa* preparation with high-speed counter-current chromatography and analysis with ESI-MS[J].

- Food and Fermentation Industries, 2011, 37(1): 175-178 (in Chinese)  
王小董, 张德龙, 耿广青, 等. 粉被玛利亚霉中天然色素的高速逆流色谱法分离制备及质谱分析[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(1): 175-178
- [12] Meng ZB, Kang JC, Wen TC, et al. Cordycepin and N<sup>6</sup>-(2-Hydroxyethyl)-Adenosine from *Cordyceps pruinosa* and their interaction with human serum albumin[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121669
- [13] Meng ZB, Han JY, Luo DC, et al. Study on the chemical compounds of *Cordyceps pruinosa* chloroform extract[J]. Journal of Guizhou Education University, 2015, 31(9): 24-26 (in Chinese)  
孟泽彬, 韩近雨, 骆弟春, 等. 粉被虫草氯仿部分化学成分研究[J]. 贵州师范学院学报, 2015, 31(9): 24-26
- [14] Meng ZB, Chen Q, Yi Y, et al. Study on the chemical compounds *Cordyceps pruinosa* ethylacetate extract[J]. South China Agriculture, 2015, 9(25): 50-52 (in Chinese)  
孟泽彬, 陈青, 易越, 等. 粉被虫草乙酸乙酯部化学成分研究[J]. 南方农业, 2015, 9(25): 50-52
- [15] Kang JC, Kang C, Wen TC, et al. Pharmacological research progress of cordycepin[J]. Mycosystema, 2011, 30(2): 191-197 (in Chinese)  
康冀川, 康超, 文庭池, 等. 虫草菌素药理学研究进展[J]. 菌物学报, 2011, 30(2): 191-197
- [16] Yang T, Dong CH. Cordycepin research and exploitation: progress and problems[J]. Mycosystema, 2011, 30(2): 180-190 (in Chinese)  
杨涛, 董彩虹. 虫草素的研究开发现状与思考[J]. 菌物学报, 2011, 30(2): 180-190
- [17] Meng ZB, Wen TC, Kang JC, et al. *Cordyceps pruinosa* produces cordycepin and N<sup>6</sup>-(2-hydroxyethyl)-adenosine in culture[J]. Archives of Biological Sciences, 2014, 66(4): 1411-1421
- [18] Tu HY, Li XF, Lü XY. Review on chemosynthesis of 3'-deoxyadenosine[J]. Chemical Industry Times, 2006, 20(2): 66-69 (in Chinese)  
涂红艳, 李啸风, 吕秀阳. 虫草素的化学合成进展[J]. 化工时刊, 2006, 20(2): 66-69
- [19] Li QH, Yang RC, Ruan ZZ, et al. Total synthesis of cordycepin[J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2013, 33(6): 1340-1344 (in Chinese)  
李启欢, 阳如春, 阮志忠, 等. 虫草素的全合成研究[J]. 有机化学, 2013, 33(6): 1340-1344
- [20] Huang DS, Shi W, Han L, et al. Optimization of vacuum belt drying process of Gardeniae Fructus in Reduning injection by Box-Behnken design-response surface methodology[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(12): 2330-2335 (in Chinese)  
黄道省, 石伟, 韩蕾, 等. Box-Behnken 法优化热毒宁注射液栀子浸膏带式干燥工艺[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2330-2335
- [21] Li Z, Shi MX, Ge YY, et al. Optimization of microwave extraction of cordycepin from *Paecilomyces verticillatus*[J]. China Brewing, 2011, 30(5): 74-76 (in Chinese)  
李祝, 施渺筱, 葛永怡, 等. 轮枝拟青霉中虫草素的微波提取工艺优化[J]. 中国酿造, 2011, 30(5): 74-76
- [22] Yin DL, Chen Q, Sun W. Study on extraction of cordycepin from *Cordyceps militaris*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(18): 4560-4562 (in Chinese)  
殷东林, 陈琼, 孙伟. 蛹虫草虫草素提取工艺的研究[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(18): 4560-4562
- [23] Li RX, Wang TC, Hu F, et al. Extraction condition of cordycepin in *Paecilomyces cicadae*[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(2): 218-221 (in Chinese)  
李瑞雪, 汪泰初, 胡飞, 等. 蝉拟青霉中虫草素提取工艺研究[J]. 食品科技, 2013, 38(2): 218-221