

【评价方法学】

不同产地土贝母中皂苷类成分的HPLC特征图谱及3种主要皂苷的含量测定

曾滢棱, 谭宁, 高艳, 陆洋*, 杜守颖*

北京中医药大学中药学院, 北京 100029

摘要: 目的 建立不同产地土贝母药材中皂苷类成分的特征图谱, 并测定其中3种主要皂苷的含量, 为该药材质量控制提供参考依据。方法 采用Thermo Hypersil GOLD aQ C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 体积流量1.0 mL/min, 进样量10 μL, 柱温30 ℃, 检测波长214 nm, 建立15批土贝母HPLC特征图谱, 并进行相似度评价、主成分分析及聚类分析; 采用Diamonsil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-水为流动相进行等度洗脱测定药材中3种皂苷类成分的含量。结果 建立的15批土贝母特征图谱共标定6个共有峰, 相似度为0.845~0.98; 主成分分析及聚类分析均将15批药材分为两类, 与相似度评价结果一致; 得到影响药材质量的3个皂苷成分(土贝母昔甲、乙、丙)并对其进行了含量测定, 结果15批药材都符合药典含量限度的要求。结论 本研究所建立的HPLC特征图谱结合含量测定以及相似度评价, 主成分分析, 聚类分析等评价方法, 可以全面、准确和有效地用于土贝母药材的质量评价。

关键词: 特征图谱; 土贝母; 含量测定; 主成分分析; 聚类分析; 土贝母昔甲; 土贝母昔乙; 土贝母昔丙

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)10-1816-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.10.012

HPLC characteristic spectrum analysis of *Bolbostemma paniculatum* from different areas and content determination of three saponins

ZENG Yanling, TAN Ning, GAO Yan, LU Yang, DU Shouying

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To establish the HPLC characteristic spectrum of *Bolbostemma paniculatum* from different areas, determine the contents of three saponins, and provide basis for quality control of *B. paniculatum*. **Methods** For characteristic spectrum, chromatographic experiments were performed on an Thermo Hypersil GOLD aQ C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) using gradient elution with acetonitrile-aqueous as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min, the detection wavelength was 214 nm, the sample size was 10 μL, and the column temperature was set at 30 ℃. In the end, similarity evaluation, principal component analysis and cluster analysis were carried out. An HPLC method for quantitative analysis was applied with an Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) using isocratic elution with acetonitrile-aqueous as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength was 214 nm, the sample size was 10 μL, and the column temperature was set at 30 ℃. **Results** There were 6 common peaks identified in the characteristic spectra of 15 batches of *B. paniculatum*, and the similarity was between 0.845-0.98. All batches of samples can be classified into two groups by using PCA and HCA, which were in accordance with the results of similarity evaluation. The three key components (tubeimoside I, II and III) affecting the quality of the medicinal materials were identified and their contents were determined. **Conclusion** The HPLC characteristic spectrum, similarity evaluation, PCA, CA and content determination method can comprehensively, accurately and effectively evaluate the quality of *B. paniculatum*.

收稿日期: 2018-04-12

项目基金: 北京中医药大学研究生自主课题项目(2018-JYB-XS)

第一作者: 曾滢棱(1992—), 女, 汉族, 硕士研究生。

*通信作者: 杜守颖, 女, 博士, 教授, 博士生导师。Tel: (010)84738615 E-mail: dushouying@263.net

陆洋, 男, 博士, 副教授, 博士生导师。Tel: (010)84738615 E-mail: landocean28@163.com

Key words: characteristic spectrum; *Bolbostemma paniculatum*; content determination; principal component analysis; cluster analysis; tubeimoside I; tubeimoside II; tubeimoside III

土贝母是葫芦科植物土贝母 *Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franquet 的干燥块茎,具有消肿散结、清热解毒之功效^[1]。该药材所含的皂苷类化学成分为其主要活性成分,在抗肿瘤^[2-5]、抗炎^[6]、抗病毒^[7-9]、免疫抑制^[10-11]等方面具有显著药理作用,其中以土贝母苷甲、乙、丙 (tubeimoside I, II, III) 为典型代表^[12]。土贝母药材无明显道地产区,广泛分布于全国各地;受气候及生态环境等的影响,各产地间存在着品质差异。2015年版《中国药典》^[13]仅以土贝母苷甲作为含测指标,难以全面反映其内在质量;目前虽有文献探讨其指纹图谱建立^[14],但也仅以相似度为评价指标,未对其特征峰进行相关统计学分析,信息量非常有限。本实验将从特征图谱建立结合含量测定的角度对不同产地土贝母质量进行研究,采用相似度、主成分分析与聚类分析的评价方法,旨在从整体上,特征上去为土贝母药材质量控制提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪(LC-20AD 并联双柱泵,自动进样器,DAD 检测器),日本岛津公司;超声波清洗器(KQ5200DA),昆山市超声仪器有限公司;电子天平(TB-215D),德国赛多利斯。

1.2 试剂

实验所用的15批土贝母药材从陕西、宁夏、山西、甘肃、山东、云南及河北等多个省采集,基本覆盖了土贝母药材在全国的种植分布,详见表1;经北京中医药大学中药学院鉴定系张媛教授鉴定为土贝母 *Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franquet, 粉碎后过4号筛,干燥器中放置,备用。土贝母苷甲对照品(中国食品药品检定研究院,批号111536-201605,纯度>98%),土贝母苷乙、土贝母苷丙对照品(均由成都普思生物技术有限公司提供,批号分别为115810-12-3、115810-13-4,纯度>98%);乙腈为色谱纯,水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

2 特征图谱方法与结果

2.1 色谱条件

经过反复调节条件,综合考虑峰形、分离度、吸光度、峰数、出峰时间以及柱压,最终确立色谱条件为:Hypersil GOLD aQ C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 体积流量 1.0 mL/min, 进样量为 10 μL, 柱温

表1 15批土贝母药材产地

Table 1 Origin of 15 batches of *Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franquet

编号	产地
S1	陕西省宝鸡市凤县
S2	陕西省延安市宝塔区临镇
S3	陕西省铜川市耀州区柳林镇
S4	陕西省铜川市耀州区瑶曲镇
S5	陕西省咸阳市旬邑县土桥镇
S6	陕西省咸阳市旬邑县排夏乡
S7	陕西省宝鸡市陈仓区
S8	陕西省西安市户县蒋村镇
S9	陕西省渭南市澄城县
S10	宁夏回族自治区固原市隆德县
S11	山西省运城市万荣县
S12	甘肃省庆阳市镇原县城关镇
S13	山东省淄博市沂源县石桥镇
S14	云南省保山市
S15	河北省安国市

30℃,检测波长为214 nm,乙腈(A)-水(C)作为流动相进行梯度洗脱(0~15 min, 2%~5%A; 15~35 min, 5%~25%A; 35~65 min, 25%~35%A; 65~80 min, 35%~35%A)。

2.2 供试品溶液的制备

精密称定过四号筛后的土贝母药材粉末0.3 g, 置250 mL圆底烧瓶中,移液管移取70%乙醇50 mL,称重,加热回流1 h,放冷,再次称重,补足乙醇减失量,摇匀,滤过,精密移取25 mL续滤液,水浴蒸干,加10 mL水转移至分液漏斗,用正丁醇(经水饱和)萃取4次,每次20 mL,合并正丁醇层萃取液,蒸干,40%乙腈溶解残渣,定容至5 mL量瓶中,摇匀,0.45 μm微孔膜滤过,取续滤液进行HPLC分析。

2.3 混合对照品溶液的制备

精密称取土贝母苷甲、土贝母苷乙及土贝母苷丙对照品,加40%乙腈制成含土贝母苷甲0.896 mg/mL,含土贝母苷乙0.302 mg/mL,含土贝母苷丙0.418 mg/mL的混合对照品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取6号药材粉末,按“2.2”项下的方法制备供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件连续进样6次,记录色谱图,以其中土贝母苷甲出峰为

参照,计算各色谱峰相对保留时间的RSD在0.02%~0.11%,相对峰面积的RSD在0.60%~2.86%,符合要求。

2.4.2 重复性试验 取6号药材粉末6份,按“2.2”项下的方法制备供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件进行测定,记录色谱图,以其中土贝母昔甲出峰为参照,计算各色谱峰相对保留时间的RSD在0.03%~0.19%,相对峰面积的RSD在1.36%~2.89%,符合要求。

2.4.3 稳定性试验 取“重复性试验”项下的一供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件,分别在2、4、6、

8、10、12、24 h进样测定,以其中土贝母昔甲出峰为参照,计算各色谱峰相对保留时间的RSD在0.07%~0.11%,相对峰面积的RSD在0.60%~2.72%,符合要求,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.5 土贝母皂苷类成分特征图谱的建立及评价

2.5.1 不同产地土贝母皂苷类成分特征图谱的建立 将15批土贝母药材粉末分别按照“2.2”项下的方法制备供试品溶液,同时按“2.3”项下的方法制备混合对照品溶液;按“2.1”项下的色谱条件进行测定,记录色谱图。将15批药材皂苷类成分特征图谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系

图1 15批土贝母的HPLC特征图谱

Fig. 1 HPLC characteristic spectrum of 15 batches of extract of *Bolbostemma paniculatum*

统”(2012版)软件中,设定S1为参照图谱,选择其中峰面积较大且分离度良好的6号峰作为Mark峰对保留时间进行校正;15批药材在全谱峰匹配模式下生成了6个共有峰(图1)。根据对照品保留时间比对,确定了样品特征图谱当中峰3为土贝母昔乙,峰4为土贝母昔丙,峰6为土贝母昔甲(图2),其余峰1、峰2及峰5通过紫外光谱比对可推测其同属皂苷类成分(图3)。

2.5.2 特征图谱相似度评价 在“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012版)的分析处理过程中,选择图2中S1号土贝母的色谱图为参照图谱,以“中位数”法作为对照图谱生成方式,设定时间窗宽度为0.1 min,系统根据各批次样品色谱图的共有模式生成对照图谱R(图4),并计算出1至15批土贝母药材皂苷类成分特征图谱与对照图谱R的相似度

3-土贝母昔甲;4-土贝母昔丙;6-土贝母昔乙
3-tubeimoside I; 4- tubeimoside III; 5- tubeimoside II
图2 空白对照(A)、混合对照品(B)及土贝母样品(C)的HPLC图
Fig. 2 HPLC chromatograms of blank control (A), mixed reference substance (B) and *Bolbostemma paniculatum* sample (C)

图3 各共有峰的紫外光谱图

Fig. 3 UV spectra of the common peaks

分别为 0.944、0.914、0.932、0.944、0.932、0.939、0.938、0.908、0.845、0.906、0.938、0.98、0.909、0.95 及 0.934;其中,除第9号药材以外,其余各批次药材与对照特征图谱之间的相似度均大于 0.90,说明其余各批次药材的相似度良好。

表2 特征向量矩阵

Table 2 Eigenvector matrix

峰号	特征向量	
	PC1	PC2
1	0.424	-0.133
2	0.271	-0.390
3	0.496	0.283
4	0.505	-0.015
5	-0.095	0.837
6	0.486	0.224

图4 15批土贝母皂苷类成分的HPLC对照特征图谱
Fig. 4 HPLC reference characteristic spectrum of 15 batches of extract of *Bolbostemma paniculatum*

2.5.3 主成分分析 主成分分析(PCA)是一种通过高低维数信息的映射过程,将原本复杂的信息集中到几个主成分上以简化信息量,分析数据结构特征的方法^[15]。将15批土贝母药材皂苷类成分HPLC图谱中的各共有峰峰面积除以药材的取样量,得到单位质量药材的峰面积;再借助SAS 9.4 统计分析软件进行主成分分析。按照主成分对应的特征值应大于1的提取原则,本实验提取了2个主成分,累积贡献率达到75.78%,表明该2个主成分能代表6个指标在15批样品中75.78%的信息。其中PC1的特征值为3.497,方差贡献率为58.28%;PC2的特征值为1.050,方差贡献率为17.49%;特征向量矩阵见表2。

在表2中,6个共有峰对应了影响主成分的6个变量,特征向量的数值及符号代表变量在主成分当中的权重,权重越大,表明该化合物在药材主成分分析中作用越大。可以看出,峰3(土贝母昔乙)、峰4(土贝母昔丙)、峰6(土贝母昔甲)对PC1的影响为最大,而PC1相较于其他主成分在解释不同产地土贝母特征图谱信息中起关键作用。以PC1、PC2的得分向量分别作为横、纵坐标对15个样本作主成分得分图(图5),由结果可知9号样品的PC1值显著大于其他样品,离群较远,其余14批样品在得分图中的分布较为接近,这与相似度评价结果相符合。

2.5.4 聚类分析(HCA) 聚类分析法(HCA)是在未知类别数目的情况下,借助数理统计方法用已收集到的信息归类研究对象的方法^[16],在实际分析过程中,常与PCA法联用。本实验运用SAS 9.4 软件,以单位质量药材的6个共有峰峰面积为原始数据,经标准化处理,采用类平均法对15批药材进行聚类分析,结果见图6。由结果可知,当15批样品分为两类时,S9自成一类,其余样品聚为一类;当15批样品分为三类时,S9自成一类,S13和S14分为一类,其

图5 主成分得分图
Fig.5 PCA scores plot

图6 系统聚类树状图
Fig.6 Dendrogram for the systematic clustering

余样品聚为一类。聚类结果和主成分分析、相似度评价结果一致。

3 含量测定方法与结果

3.1 色谱条件

Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-水(30:70)为流动相等度洗脱 50 min; 波长 214 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30℃; 进样量 10 μL。

3.2 对照品溶液的制备

精密称取对照品土贝母苷甲、土贝母苷乙及土贝母苷丙适量, 用 40% 乙腈制成每 1 mL 含土贝母苷甲 0.813 mg, 含土贝母苷乙 0.309 mg 以及含土贝母苷丙 0.312 mg 的混合对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备

精密称定过四号筛后的土贝母药材粉末 0.3 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 移液管移取 70% 乙醇 50

mL, 称重, 超声 30 min(250 W, 50 kHz), 放冷, 再次称重, 补足乙醇减失量, 摇匀, 滤过, 精密移取 25 mL 续滤液, 水浴蒸干, 加 10 mL 水转移至分液漏斗, 用水饱和的正丁醇萃取 4 次(20、20、10、10 mL), 合并正丁醇层萃取液, 蒸干, 40% 乙腈溶解残渣, 定容至 5 mL 量瓶中, 摇匀, 0.45 μm 微孔膜滤过, 取续滤液进行 HPLC 分析。每批药材平行制备 3 份样品, 共 45 个样品。

3.4 方法学考察

3.4.1 线性关系考察 取“3.2”项下混合对照品储备液适量稀释到不同的质量浓度, 按“3.1”项下色谱条件进样测定, 以峰面积积分值(A)为纵坐标, 浓度(C)为横坐标进行线性回归, 所得标准曲线以及线性范围如表 3 所示。

表3 3种皂苷类成分的线性回归方程及范围

Table 3 The regression equations, coefficient correlation of references and linear ranges (n = 6)

对照品	标准曲线	R	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
土贝母苷甲	y=115 233.8x-25545.5	0.999 8	0.085~2.936
土贝母苷乙	y=1 113 301.4x-4040	0.999 9	0.032~0.639
土贝母苷丙	y=1 117 025.7x-3728.4	0.999 9	0.030~0.595

3.4.2 精密度试验 取 8 号药材粉末, 按“3.3”项下的方法制备供试品溶液, 按“3.1”项下色谱方法连续进样 6 次, 测得土贝母苷甲、土贝母苷乙及土贝母苷丙色谱峰面积的 RSD 值分别为 1.13%、2.98%、1.64%, 精密度均符合要求。

3.4.3 稳定性试验 取 8 号药材粉末, 按“3.3”项下的方法制备供试品溶液, 按“3.1”项下色谱方法分别于制备后 1、2、3、4、5、6、12、24 h 进样, 测定土贝母苷甲、土贝母苷乙及土贝母苷丙的峰面积, 计算 RSD 分别为 1.03%、2.84%、1.51%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.4.4 重复性试验 取 8 号药材粉末共 6 份, 按“3.3”项下的方法制备供试品溶液, 按“3.1”项下的色谱条件进行含量测定。分别计算药材中土贝母苷甲、土贝母苷乙及土贝母苷丙的平均含量为 1.722 4%(RSD=1.16%)、0.300 4%(RSD=1.64%)、0.519 7%(RSD=2.82%), 重复性符合要求。

3.4.5 加样回收率 精密称定 8 号土贝母药材粉末 0.15 g 置具塞锥形瓶中, 一共 6 份, 分别加入含有土

贝母昔甲、土贝母昔乙及土贝母昔丙对照品的乙醇溶液 50 ml(其中昔甲、昔乙、昔丙的加入量与药材粉末中含量相同),按“3.3”项下的方法制备供试品溶液,按“3.1”项下的色谱条件进行含量测定,计算3种成分的平均回收率及RSD,3种皂昔的平均回收率在99.92%~101.99%,RSD均小于3.00%,表明方法精确度良好。

3.5 样品测定

精密称取15批土贝母药材粉末,分别按“3.3”项下方法制备供试品溶液,按“3.1”项下的色谱条件进样检测,结果见表4,由结果可知S1~S15中的土贝母昔甲含量均大于1.0%,即15批药材都符合药典含量限度的要求;其中9号药材3种成分的总含量最高,达3.442%,其余批次药材3种成分总含量在2.068%至2.992%。

表4 土贝母样品中3种皂昔类成分的含量测定结果

Table 4 The content of three saponins in 15 samples

No.	土贝母昔	土贝母昔	土贝母昔	昔甲+昔
	甲/%	乙/%	丙/%	乙+昔 丙/%
S1	1.316	0.240	0.512	2.068
S2	1.866	0.353	0.692	2.912
S3	1.696	0.316	0.730	2.742
S4	1.609	0.298	0.699	2.606
S5	1.553	0.335	0.593	2.481
S6	1.920	0.367	0.682	2.969
S7	1.498	0.318	0.653	2.469
S8	1.753	0.285	0.504	2.542
S9	2.259	0.417	0.766	3.442
S10	1.579	0.341	0.596	2.515
S11	1.848	0.355	0.709	2.911
S12	1.921	0.381	0.614	2.917
S13	1.905	0.391	0.696	2.992
S14	1.718	0.312	0.701	2.731
S15	1.701	0.355	0.600	2.656

4 讨论

4.1 特征图谱的提取方法及色谱条件选择

本实验运用HPLC的方法首次建立了不同产地土贝母药材皂昔类成分的特征图谱,在药材目标类成分的提取分离过程中,参考《天然药物化学》(第六版)^[17]中皂昔类成分的提取分离通法及《中国药典》(2015版)中对土贝母中皂昔类成分含量测定时所采用的方法,选用70%的乙醇提取药材,再经正丁醇萃取其中皂昔类成分。提取方法及时间选取

了最简便的超声提取30 min以及回流提取30、60、90 min,通过特征图谱大致形貌及主要色谱峰峰面积的对比,综合提取效果与经济效率选择了回流提取60 min的方法。在色谱条件的选择过程中,土贝母皂昔类活性成分在药典中规定的吸收波长在214 nm左右,此波长下甲醇作为流动相存在较大的末端吸收,因此流动相选用乙腈-水体系。采用岛津高效液相二极管阵列检测器,对样品进行了全波长的扫描,遵循信息最大量原则,发现在214 nm下,色谱图峰分离度较好,主要色谱峰响应值较高,基线噪音低,满足特征图谱的检测需求。因此选择以214 nm作为检测波长,同时此波长也符合《中国药典》2015版中土贝母所含主要活性成分皂昔类化合物的吸收波长。

4.2 分析方法评价

本实验在以特征图谱中各共有峰峰面积为指标因素的主成分分析中,第一主成分的方差贡献率高达58.28%,为第二主成分方差贡献率的3倍以上,说明它主要解释了不同产地的土贝母特征图谱信息。通过“2.5.3”中结果去分析各化合物对第一主成分贡献的权重,发现土贝母昔甲、土贝母昔乙及土贝母昔丙相较于其他共有成分更能反映出不同产地土贝母的特征图谱差异,并且此3种成分也是多篇文献^[12]报道的土贝母药材中主要活性成分,提示可将它们作为土贝母质控的指标性成分。从主成分得分图中可以看出,15批药材划分为两类,其中9号药材自成一类,这与系统聚类及特征图谱相似度评价的结果均一致。通过主成分得分图的横纵坐标可以发现9号药材与其他药材的差异来源于第一主成分,因此,选择对第一主成分贡献权重最多的土贝母昔甲、土贝母昔乙及土贝母昔丙进行含量测定,得出9号药材中3种成分的总含量及分别的含量均为15批药材中最多,佐证了指标性成分选择的合理性。综上,可以得出结论土贝母昔甲、土贝母昔乙及土贝母昔丙会较大程度的影响药材质量并形成不同产地的药材差异性,建议选择此3种成分为特征性成分,将其纳入土贝母的质量控制与评价指标中。本研究所采用的方法在建立特征图谱及测定3种皂昔类成分含量的同时还应用了相似度评价、主成分分析和聚类分析对不同产地土贝母药材进行了分类和质量评价,前后相互验证,互为补充,以保证方法的全面准确,为土贝母药材的质量评价提供了参考。

参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 2006. 上海: 上海科学技术出版社.
- [2] 李铁英, 李华, 战涛, 等. 土贝母苷甲在非小细胞肺癌异种移植鼠模型中抑制肿瘤血管生成的研究 [J]. 解放军医药杂志, 2016(11): 56-60.
- [3] 史海龙, 党琳, 崔亚亚, 等. 基于反向分子对接技术土贝母皂苷甲抗肿瘤机制研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2016(07): 124-129.
- [4] 安超, 杨萌, 胡明昕, 等. 土贝母提取物对人乳腺癌MDA-MB-231-GFP裸鼠模型的抗肿瘤作用评价 [J]. 中华中医药杂志, 2013(02): 390-393.
- [5] 钟洪哲, 郭红, 王雅婕, 等. 土贝母苷甲对人肝癌HepG2细胞迁移和侵袭的抑制作用 [J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2016(09): 705-708.
- [6] 鲁科明, 袁丁, 张长城. 皂苷抗炎活性研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2008(07): 1658-1660.
- [7] 张晓辉, 王建明, 孙乃学. 土贝母皂甙对单纯疱疹病毒性角膜炎作用的实验研究 [J]. 国际眼科杂志, 2011(01): 22-24.
- [8] 周艳萌, 吴中明, 向晓波. 土贝母皂苷体外抗乙型肝炎病毒的药效研究 [J]. 时珍国医国药, 2006(11): 2134-2136.
- [9] 周艳萌, 吴中明, 向晓波, 等. 土贝母皂甙体内抗乙型肝炎病毒的实验研究 [J]. 遵义医学院学报, 2007(03): 232-235.
- [10] 王芳, 马润娣, 于立坚. 土贝母苷甲诱导的人宫颈癌HeLa细胞凋亡的超微结构变化及环孢菌素A的保护作用 [J]. 南方医科大学学报, 2007(05): 679-681.
- [11] 于立坚, 张永平, 马润娣, 等. 土贝母皂苷抑制对苯二胺诱发豚鼠接触性皮炎效应的研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2016(11): 1626-1631.
- [12] 黄瑾, 张杰, 顾正兵. 高效液相色谱法同时测定土贝母中土贝母苷甲、乙和丙的含量 [J]. 中国药业, 2016(01): 58-60.
- [13] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [14] 李晓晶, 姜琳琳, 吴智南, 等. 土贝母的HPLC指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2007(06): 926-929.
- [15] 杨莹莹, 王晓燕, 冯夏珍, 等. 主成分分析和聚类分析法研究刺玫果黄酮类成分HPLC指纹图谱 [J]. 食品工业科技, 2017(24): 231-237.
- [16] 孙振球, 徐勇勇. 医学统计学[M]. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [17] 吴立军. 天然药物化学[M]. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.