

一测多评法测定不同产地茯苓中4种三萜类成分的含量

王妍妍^{1,2,3,4}, 施晓艳^{1,2,3,4}, 张越^{1,2,3,4}, 彭慧^{1,2,3,4}, 温艳艳¹, 彭灿^{1,2,3,4*}, 俞年军^{1,3}, 陈卫东^{1,2,3,4}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012

2. 中药复方安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012

3. 安徽省中医药科学院药物制剂研究所, 安徽 合肥 230012

4. 安徽中医药大学药物代谢研究所, 安徽 合肥 230012

摘要:目的 建立一测多评法同步测定茯苓中4种三萜类成分的含量,并验证该方法的准确性和可行性。方法 以茯苓酸为内参物,建立其与去氢茯苓酸、去氢土莫酸和松苓新酸的相对校正因子(f)与相对保留时间,计算3种成分的含量,实现一测多评,并将一测多评法测得的结果与外标法比较,验证一测多评的可行性。结果 17批不同产地茯苓样品中4个活性成分,采用 f 的计算值与外标法的实测值之间无显著性差异。结论 在对照品缺乏的情况下,以茯苓酸为内参物同时测定去氢茯苓酸、去氢土莫酸、松苓新酸的含量是可行的,一测多评法可用于茯苓中三萜类成分的定量评价研究。

关键词: 茯苓; 一测多评; 相对校正因子; 茯苓酸; 去氢茯苓酸; 去氢土莫酸; 松苓新酸

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)20-4899-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.029

Simultaneous quantitative analysis of four triterpenes in *Poria Cocos* from different habitats by QAMS

WANG Yan-yan^{1,2,3,4}, SHI Xiao-yan^{1,2,3,4}, ZHANG Yue^{1,2,3,4}, PENG Hui^{1,2,3,4}, WEN Yan-yan¹, PENG Can^{1,2,3,4}, YU Nian-jun^{1,3}, CHEN Wei-dong^{1,2,3,4}

1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

2. Anhui Province Key Laboratory of Chinese Medicinal Formula, Hefei 230012, China

3. Institute of Pharmaceutics Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

4. Institute of Drug Metabolism, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To establish a new method and validate its feasibilities by the simultaneous quantitative assay of four triterpenes in *Poria cocos*. **Methods** A new quality evaluation method of multi-components by single marker (QAMS) was established and validated for *P. cocos*. Pachymic acid (PA), dehydropachymic acid (DPA), dehydrotumulosic acid (DTA), and dehydrotrametenolic acid (DMA) were selected as analytes while pachymic acid was chosen as internal reference substance to evaluate the quality. The relative correction factor (RCF) of pachymic acid to the other three triterpenes were calculated. The method was evaluated by the comparison of quantity between external standard method and QAMS method. **Results** The contents of four triterpenes in 17 batches of *P. cocos* from QAMS method were not significantly different from those from external standard method. **Conclusion** The method with a single marker is accurate and feasible to determine PA, DPA, DTA, and DMA when some authentic standard substance are unavailable.

Key words: *Poria cocos* (Schw.) Wolf; quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS); relative correction factor; pachymic acid; dehydropachymic acid; dehydrotumulosic acid; dehydrotrametenolic acid

收稿日期: 2018-03-09

基金项目: 国家中医药管理局项目(ZYBZH-Y-AH-01); 国家重点研发计划项目(2017YFC1701605); 安徽省科技厅公益联动项目(1501Id04004); 安徽道地中药材品质提升协同创新中心项目(皖教科[2013]2号); 安徽高校科研创新团队项目(2016hz23), 大学生创新创业项目(2017149)

作者简介: 王妍妍(1991—), 女, 在读博士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: nuanuan073@sina.com

***通信作者** 彭灿(1984—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为药剂学。E-mail: pengcankang@hotmail.com

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 有利水渗湿、健脾宁心之效, 临床上主要用于治疗水肿尿少、痰饮眩晕、脾虚食少等^[1-2]。2014 年, 卫计委发布了关于征求《按照传统既是食品又是中药材物质目录管理办法》意见函, 公布了 86 种药品被列入了药食同源名单, 茯苓即为其中之一。茯苓中主要有效成分为茯苓三萜及茯苓多糖等, 其中去氢茯苓酸、去氢土莫酸、茯苓酸、松苓新酸具有显著的药理活性^[3-7], 是茯苓中主要的三萜酸。茯苓是经典方药中常用的配伍药, 例如, 茯苓是妇科血瘀证方药桂枝茯苓胶囊的组成之一, 研究表明, 由去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸等桂枝茯苓胶囊中 15 个活性成分组成的复合物具有抗炎、抗大鼠子宫肌瘤、免疫调节等作用, 可能为桂枝茯苓胶囊发挥药效的物质基础^[8-10]。

中药的多成分、多功效的作用特点, 决定了单一成分难以准确评价中药质量, 因此, 多成分、多指标的测定已经成为当前国际上广泛认可的质量评价方式, 使用常规方法以多个成分含量测定来评价茯苓药材质量的研究已有报道^[11-12], 但这些方法所需对照品量大, 长期以来一直面临着对照品难求、价格昂贵、货源紧缺等问题, 限制了这些方法在科研、实际生产等中的应用。“一测多评”(quantitative analysis of multi-components by single-maker, QAMS) 技术可以很好地解决这类难题^[13], 这一模式已被《中国药典》2010 年版及 2015 年版收载。因此, 本研究在课题组前期已建立的 HPLC 方法同时测定茯苓中去氢茯苓酸、去氢土莫酸、茯苓酸、松苓新酸含量的基础上^[14], 拟采用一测多评的方法, 以茯苓酸为内参物, 建立其他成分(去氢茯苓酸、去氢土莫酸、松苓新酸)与该成分间的相对校正因子(f), 从而利用茯苓酸一种对照品同时测定样品中 4 种三萜酸的含量。

1 仪器与材料

LC-15C 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 依利特型高效液相色谱仪系统(大连依利特分析仪器有限公司); AB135-S 型电子分析天平(Mettler Toledo 公司); 语路超声清洗仪(深圳市即洁超声科技有限公司); Milli-Q 超纯水系统(Millipore 公司, 美国); COSMOSIL-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), WondaCract ODS-2 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), Unitary-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。

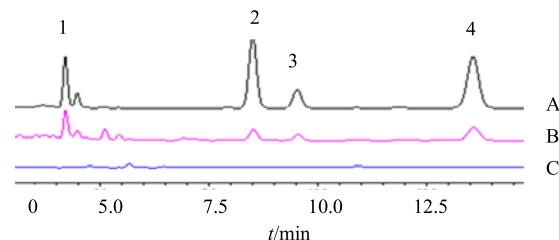
对照品去氢土莫酸(批号 160102, 质量分数≥95%)、去氢茯苓酸(批号 160102, 质量分数≥98%)、茯苓酸(批号 150310, 质量分数≥99%)、松苓新酸(批号 150717, 质量分数≥99%)均购自成都克洛玛生物科技有限公司, 供含量测定用; 乙腈、甲醇均为色谱纯, 水为超纯水。

茯苓样品购自安徽亳州药材市场、广西玉林药材市场。共收集 17 批次样品, 样品 1~3 分别来自广西、贵州和四川, 4~5 来自湖南, 6~7 来自湖北, 8~12 来自云南, 13~17 来自安徽, 经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 符合《中国药典》2015 年版各项规定。

2 方法与结果

2.1 方法学考察

2.1.1 色谱条件^[14] WondaCract ODS-2 (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相乙腈-0.2% 甲酸溶液(76:24); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 222 nm; 进样量 20 μL。在上述色谱条件下, 各组分分离度良好, 色谱图见图 1。



1-去氢土莫酸 2-去氢茯苓酸 3-茯苓酸 4-松苓新酸
1-dehydrotumulosic acid 2-dehydropachymic acid 3-pachymic acid
4-dehydrotrametenolic acid

图 1 混合对照品 (A)、茯苓样品 (B)、空白溶剂 (C) 色谱图
Fig. 1 HPLC of four triterpenes in mixed reference substances (A), *P. cocos* sample (B), and solvent (C)

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸和松苓新酸对照品 1.92、2.04、1.96、0.39 mg 置 2 mL 量瓶中, 加甲醇配制成含去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸和松苓新酸质量浓度分别为 96、102、98、19.5 μg/mL 的混合对照品溶液 0 号, 备用。分别吸取上述混合对照品溶液 1、0.4、0.2、0.1、0.04、0.02 mL 置 2 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为混合对照品溶液 1~6 号, 备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 取茯苓粉末(过 40 目筛)约 1 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶

中,精密加 95%甲醇 20 mL,密塞,称定质量,40 ℃下超声 30 min,放冷,再称定质量,并用 95%甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 标准曲线的绘制 分别精密吸收“2.1.2”项下的混合对照品溶液 20 μ L,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积,以进样质量浓度为横坐标(X),以峰面积为纵坐标(Y),用最小二乘法进行线性回归,得到各成分的回归方程及线性范围。结果表明 4 种茯苓三萜在线性范围内线性良好,见表 1。

表 1 茯苓药材中 4 种三萜成分的回归方程与线性范围
Table 1 Regression equations of four triterpenes from *P. cocos*

成分	回归方程	r^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
去氢土莫酸	$Y=5\,141\,X+819.93$	0.999 8	0.960~48.000
去氢茯苓酸	$Y=11\,849\,X+1\,663.5$	0.999 8	1.020~51.000
茯苓酸	$Y=3\,504.6\,X-10.585$	0.999 5	0.980~49.000
松苓新酸	$Y=13\,168\,X+74.78$	0.999 7	0.195~9.750

2.1.5 f 的计算 在上述色谱条件下,取 1~6 号对照品溶液,分别进样 20 μ L,记录各成分的峰面积,以茯苓酸为内参物,计算其他组分与内参物的 f 。按公式 $f_{k/m}=f_k/f_m=(W_k\times A_m)/(W_m\times A_k)$ (A_k 为内参物峰面积, W_k 为内参物的质量或浓度, A_m 为其他组分 m 的峰面积, W_m 为其他组分 m 的质量或浓度),结果表明,以茯苓酸为内参物,其他成分的 f 的 RSD 均小于 5%,见表 2。

2.1.6 精密度试验 取同一混合对照品溶液(4 号),于 1 d 内连续进样 6 次,记录去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸、松苓新酸的峰面积,测得日内

精密度 RSD 分别为 1.55%、1.61%、1.47%、1.53%;吸取同一混合对照品溶液,连续进样 3 d,每天 2 次,记录去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸、松苓新酸的峰面积,测得日间精密度 RSD 分别为 1.88%、1.76%、1.98%、1.62%,表明该方法的日内和日间精密度均良好。

2.1.7 重复性试验 取同一批茯苓药材(1 号样品)粉末(过 40 目筛)约 1 g,共 6 份,精密称定,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下分别进样测定,测得去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸、松苓新酸平均质量分数分别为 0.581、0.238、0.524、0.025 mg/g, RSD 分别为 1.49%、1.65%、1.97%、1.76%。结果表明该方法重复性良好。

2.1.8 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h,在“2.1.1”项色谱条件下测定,并记录峰面积,结果表明去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸、松苓新酸峰面积的 RSD 分别为 2.21%、1.33%、2.04%、1.54%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取已测定的同一批(1 号样品)次药材 6 份各约 1.0 g,精密称定,分别加入一定量的对照品溶液,按“2.1.3”项下的方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下测定,计算加样回收率。结果表明茯苓中上述 4 种三萜类成分的平均加样回收率分别为 91.77%、89.43%、102.41%、104.85%, RSD 分别为 2.73%、1.98%、2.01%、2.42%,表明方法的准确度良好。

2.2 QAMS 法的耐用性和系统适应性评价

2.2.1 不同色谱柱及不同仪器对 f 的影响 取“2.1.2”项下制备的混合对照品溶液,考察 LC-15C 和依利特型 2 种高效液相色谱仪系统和 COSMOSIL-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)、WondaCract ODS-2 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)、Unitary-C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 3 种色谱柱的 f ,结果表明, f 之间无显著性差异, RSD 均小于 5%,见表 3。

2.2.2 不同柱温对 f 的影响 实验中采用 LC-15C 高效液相色谱系统, Unitary-C₁₈ 柱,分别在不同柱温(25、30、35 ℃)条件下对 3 种茯苓三萜酸的 f 的影响,结果表明各成分之间 f 重复性良好,无显著性差异, RSD 均小于 5%,见表 4。

2.3 待测组分的色谱峰定位

取“2.1.2”项下制备的混合对照品溶液,考察

表 2 茯苓药材中 3 种成分的 f

Table 2 RCF of three triterpenes from *P. cocos*

对照品	f 茯苓酸/去氢土莫酸	f 茯苓酸/去氢茯苓酸	f 茯苓酸/松苓新酸
1	1.467	3.381	3.754
2	1.507	3.458	3.813
3	1.522	3.469	3.743
4	1.481	3.450	3.789
5	1.495	3.429	3.721
6	1.492	3.375	3.680
平均值	1.494	3.427	3.750
RSD/%	1.289	1.171	1.262

表 3 不同仪器和不同色谱柱测得的 f

Table 3 RCF of different instruments and columns

仪器	色谱柱	f 茯苓酸/去氢土莫酸	f 茯苓酸/去氢茯苓酸	f 茯苓酸/松苓新酸
LC-15C	COSMOSIL-C ₁₈	1.462	3.392	3.674
	WondaCract ODS-2	1.494	3.427	3.750
	Unitary-C ₁₈	1.505	3.447	3.792
依利特型液相	COSMOSIL-C ₁₈	1.482	3.505	3.771
	WondaCract ODS-2	1.518	3.460	3.848
	Unitary-C ₁₈	1.463	3.404	3.687
平均值		1.487	3.439	3.754
RSD/%		1.521	1.195	1.746

表 4 不同柱温对 f 的影响

Table 4 RCF of different column temperature

柱温/°C	f 茯苓酸/去氢土莫酸	f 茯苓酸/去氢茯苓酸	f 茯苓酸/松苓新酸
25	1.459	3.586	3.731
30	1.494	3.427	3.750
35	1.467	3.583	3.767
RSD/%	1.43	2.44	1.47

LC-15C 和依利特型 2 种高效液相色谱仪系统和 COSMOSIL-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、WondaCract ODS-2 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Unitary-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 3 种色谱柱的相对保留时间和保留时间差^[15]。结果表明, 各成分的相对保留时间波动较小, RSD 均小于 5%, 见表 5, 故采用相对保留时间对色谱峰进行定位。

表 5 应用不同仪器和不同色谱柱测得的相对保留时间

Table 5 Relative retention time of different instruments and columns

仪器	色谱柱	相对保留时间		
		去氢土莫酸	去氢茯苓酸	松苓新酸
LC-15C	COSMOSIL-C ₁₈	0.438	0.892	1.428
	WondaCract ODS-2	0.440	0.893	1.425
	Unitary-C ₁₈	0.455	0.870	1.419
依利特型液相	COSMOSIL-C ₁₈	0.488	0.872	1.429
	WondaCract ODS-2	0.438	0.892	1.428
	Unitary-C ₁₈	0.410	0.894	1.422
平均值		0.448	0.886	1.425
RSD/%		1.987	1.273	0.278

2.4 QAMS 法与外标法 (ESM) 的数据比较

取 17 批茯苓药材样品, 首先采用 ESM 计算茯苓中茯苓酸的含量, 然后采用 ESM 和 QAMS 分别计算茯苓中去氢土莫酸、去氢茯苓酸及松苓新酸的含量, 并将 2 种方法的结果进行比较, 用相对误差来表示 2 种方法的差异性, 以验证一测多评法的可行性, 见表 6。相对误差 (RE) = $(C_{\text{QAMS}} - C_{\text{ESM}}) / C_{\text{ESM}}$ (C_{QAMS} 为 QAMS 测得的含量, C_{ESM} 为 ESM 测得的含量)^[16], 结果可知 RE 均小于 5%, 提示建立的 QAMS 有较好的准确性与可行性。

3 讨论

QAMS 的核心思想是解决对照品缺乏供应或者降低检测成本的问题。目前, 国内外学者已从茯苓中分离鉴定出约 80 多种三萜酸, 但普遍存在的问题是分离成本较高, 因而导致茯苓相关对照品在市场供应上缺乏或价格昂贵, 这对通过测定

茯苓中三萜酸的含量而达到茯苓质量控制的目的十分不利。因此, 本研究选择价格相对适中、易得的茯苓酸作为内参物, 通过优化检测波长、流动相等因素, 最终使得 4 种三萜成分在 16 min 内分析完全, 并利用茯苓酸, 建立了 QAMS 法, 本研究极大地缩短了分析时间、降低了分析成本。

本研究分别考察了 Shimadzu LC-15C, 大连依利特型高效液相色谱仪和 3 根不同品牌的色谱柱 COSMOSIL-C₁₈、WondaCract ODS-2、Unitary-C₁₈ 对茯苓酸与去氢土莫酸、去氢茯苓酸、松苓新酸之间 f 的影响, 结果发现各成分 f 重复性良好, 验证了 QAMS 在茯苓质量控制中的可行性和适应性。

目前, 对于色谱峰定位方法主要有 2 种: 一是利用待测成分与内参物保留时间的差值定位; 二是采用待测成分与内参物的相对保留时间比值定位。

表 6 ESM 和 QAMS 测定 17 批茯苓样品中 4 种三萜酸的含量

Table 6 Contents of four triterpenes by QAMS and ESM in *P. cocos*

编号	来源	去氢土莫酸/(mg·g ⁻¹)	去氢茯苓酸/(mg·g ⁻¹)			茯苓酸/(mg·g ⁻¹)			松苓新酸/(mg·g ⁻¹)			总和/(mg·g ⁻¹)		
		ESM	ESM	QAMS	RE/%	ESM	QAMS	RE/%	ESM	QAMS	RE/%	ESM	QAMS	RE/%
1	广西	0.491	0.458	0.462	0.974	0.233	0.232	-0.438	0.027	0.028	3.001	1.209	1.213	0.351
2	贵州	0.430	0.443	0.447	0.948	0.224	0.223	-0.203	0.019	0.020	0.874	1.115	1.119	0.351
3	四川	0.409	0.367	0.371	1.087	0.220	0.219	-0.299	0.020	0.020	1.746	1.016	1.020	0.362
4	湖南-1	0.571	0.621	0.626	0.851	0.309	0.308	-0.142	0.020	0.021	2.331	1.521	1.526	0.350
5	湖南-2	0.517	0.581	0.586	0.832	0.238	0.237	-0.166	0.025	0.026	2.495	1.361	1.366	0.372
6	湖北-1	0.705	0.789	0.796	0.874	0.245	0.245	-0.089	0.085	0.088	3.150	1.823	1.833	0.513
7	湖北-2	0.708	0.687	0.693	0.864	0.268	0.267	-0.070	0.037	0.038	3.056	1.700	1.707	0.405
8	云南-1	0.551	0.470	0.476	1.214	0.245	0.244	-0.200	0.041	0.041	1.608	1.306	1.312	0.450
9	云南-2	0.597	0.527	0.533	1.116	0.212	0.212	-0.029	0.072	0.073	0.993	1.409	1.416	0.464
10	云南-3	0.618	0.665	0.657	-1.248	0.260	0.259	-0.266	0.086	0.087	0.869	1.628	1.620	-0.507
11	云南-4	0.569	0.506	0.512	1.119	0.222	0.221	-0.082	0.053	0.054	1.276	1.350	1.356	0.456
12	云南-5	0.471	0.399	0.404	1.186	0.189	0.189	0.135	0.039	0.039	1.683	1.098	1.103	0.514
13	安徽-1	0.487	0.463	0.468	1.165	0.198	0.198	0.067	0.027	0.028	2.311	1.175	1.181	0.523
14	安徽-2	0.419	0.440	0.443	0.729	0.224	0.223	-0.463	0.033	0.034	3.128	1.116	1.119	0.286
15	安徽-3	0.872	0.938	0.945	0.787	0.320	0.319	-0.439	0.076	0.078	2.587	2.205	2.213	0.360
16	安徽-4	0.775	0.866	0.875	0.994	0.351	0.349	-0.569	0.091	0.091	0.482	2.084	2.090	0.317
17	安徽-5	0.481	0.462	0.466	0.837	0.198	0.197	-0.674	0.043	0.043	0.493	1.184	1.187	0.232

本研究考察了同一色谱条件下待测成分与内参物保留时间的差值及与内参物的相对保留时间比值,结果显示相对保留时间比值的波动较小,RSD均小于5%。

茯苓中所使用的4种对照品虽然经过了波谱、光谱的结构鉴定及HPLC面积归一化法的质量分数检查,质量分数均大于95%,但可能未经过严格的纯度鉴定,使得对照品的实际质量分数偏低,这是造成相对校正因子偏离的可能原因之一^[16]。此外,在17批不同产地的4种三萜酸含量测定的结果中,虽然3种三萜酸的RE均小于5%,但松苓新酸的RE值相对偏大,原因可能为茯苓新酸在茯苓中含量较低,较小的差异值均可引起较大的误差。

综上所述,本研究选用对照品相对易得且化合物性质相对稳定的茯苓酸为内参物,建立了该成分与茯苓中去氢土莫酸、去氢茯苓酸、松苓新酸的 f 。并通过对17批不同产地茯苓药材与饮片的测定,验证了茯苓中4种三萜成分QAMS测定的准确性,为茯苓的质量控制提供了参考方法。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] 梁学清,李丹丹,黄忠威.茯苓药理作用研究进展[J].

河南科技大学学报:医学版,2012,30(2):154-156.

- [3] Cuellar M J, Giner R M, Recio M D C, *et al.* Effect of the basidiomycete *Poria cocos* on experimental dermatitis and other inflammatory conditions [J]. *Chem Pharm Bull*, 1997, 5: 492-494.
- [4] Zhou L, Zhang Y C, Gapter L A, *et al.* Cytotoxic and anti-oxidant activities of lanostane-type triterpenes isolated from *Poria cocos* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56: 1459-1462.
- [5] Kim T G, Lee Y H, Lee N H, *et al.* The antioxidant property of pachymic acid improves bone disturbance against AH plus-in-duced inflammation in MC-3T3 E1 cells [J]. *J Endod*, 2013, 39(4): 461-466.
- [6] Lee Y H, Lee N H, Bhattarai G, *et al.* Anti-inflammatory effect of pachymic acid promotes odontoblastic differentiation via HO-1 in dental pulp cells [J]. *Oral Diseases*, 2013, 19(2): 193-199.
- [7] Kang H M, Lee S K, Shin D S, *et al.* Dehydrotrametenolic acid selectively inhibitions the growth of H-ras transformed rats 2 cells and induces apoptosis through casppase-3 pathway [J]. *Life Sci*, 2006, 78: 607-613.
- [8] 仲云熙,孙建国,王广基.桂枝茯苓胶囊药理作用与临床应用研究进展[J].中草药,2016,47(17):3115-3120.

- [9] 张新庄, 萧伟, 徐筱杰, 等. 基于网络药理学的桂枝茯苓胶囊治疗痛经、子宫肌瘤和盆腔炎的分子作用机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(1): 81-94.
- [10] 李家春, 孙兰, 李红娟, 等. 桂枝茯苓胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1333-1335.
- [11] 杨鹏飞, 李保明, 王振中, 等. HPLC 法同时测定桂枝茯苓胶囊中 4 种茯苓三萜酸成分 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3215-3218.
- [12] 张靓琦, 贾英, 罗洁, 等. 超高效液相色谱法同时测定茯苓中去氢土莫酸等 6 种活性成分的含量 [J]. 中国药学杂志, 2012, 47(13): 1080-1083.
- [13] 陆兔林, 石上梅, 蔡宝昌, 等. 基于一测多评的中药多成分定量研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2525-2529.
- [14] 彭灿, 余生兰, 张静, 等. HPLC 同时测定茯苓中 4 种三萜酸的含量 [J]. 中药材, 2017, 40(7): 1644-1647.
- [15] 杨菲, 王智民, 张启伟, 等. “一测多评”法测定丹参酚酸类成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(17): 2372-2379.
- [16] 高慧敏, 宋宗华, 王智民, 等. 适合中药特点的质量评价模式—QAMS 研究概述 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 405-416.