

## 基于指纹图谱和 OPLS-DA 的越南和国产 土茯苓差异性化合物探索

郭威<sup>1,2,3,4</sup>, 孙蓉<sup>4</sup>, 王亮<sup>1,4</sup>, 詹志来<sup>3</sup>, 金艳<sup>3</sup>, 杨滨<sup>2\*</sup>, 黄璐琦<sup>3</sup>

- (1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 中国中医科学院中药资源中心道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700;  
4. 山东省中医药研究院, 济南 250014)

**[摘要]** 目的:分析越南和国产土茯苓化学成分的差异,对差异性化合物进行辨识,并对样品进行产地鉴别。方法:收集越南土茯苓7份,国产土茯苓28份。建立越南和国产土茯苓化学成分色谱指纹图谱,根据相似度评价结果比较两者的差异程度,采用 HPLC-MS 对指纹图谱的主要色谱峰进行归属,共鉴定21个峰。采用聚类分析对样品进行产地鉴别;结合正交信号校正偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)进行差异性化合物的筛选,选取位于 S-plot 图两端并且 VIP > 1 的点作为区分越南与国产土茯苓的差异性化合物。结果:越南和国产土茯苓主要化学成分的含量存在差异性,聚类分析可将35批土茯苓药材分为越南和国产2组,两者的差异性化合物分别为落新妇苷、异落新妇苷、新落新妇苷、黄杞苷,越南土茯苓中差异性化合物的含量显著大于国产土茯苓。结论:采用 OPLS-DA 分析样品的指纹图谱,既可从整体角度分析越南和国内土茯苓化学成分的异同,又可对两者差异性化合物进行辨识,为越南土茯苓入药的可能性及其质量评价提供实验数据。

**[关键词]** 土茯苓; 指纹图谱; 校正偏最小二乘判别分析; 差异性化合物

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)14-0062-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017140062

### Discrimination Markers of Smilacis Glabrae Rhizome from Vietnam and China Based on Fingerprint Combined with OPLS-DA

GUO Wei<sup>1,2,3,4</sup>, SUN Rong<sup>4</sup>, WANG Liang<sup>1,4</sup>, ZHAN Zhi-lai<sup>3</sup>, JIN Yan<sup>3</sup>, YANG Bin<sup>2\*</sup>, HUANG Lu-qi<sup>3</sup>

- (1. School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China; 2. Institute of Chinese Materia, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. State Key Laboratory Breeding Base of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 4. Shandong Academy of Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the chemical differences of Smilacis Glabrae Rhizome from Vietnam and China, identify discrimination markers, and establish the method of identifying the origins of samples. **Method:** Samples were collected from Vietnam (7 batches) and China (28 batches). The chromatography fingerprints of the above samples were established, and the differences between the two kinds of samples were compared according to the similarity evaluation results. At the same time, the main chromatographic peaks were identified by HPLC-MS, and 21 peaks were identified. Cluster analysis was used to identify the origin of the samples. Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was used to determine the discrimination markers between samples collected from Vietnam and China, and the points with VIP > 1 at the

**[收稿日期]** 20170223(003)

**[基金项目]** 中医药行业科研专项(201407003)

**[第一作者]** 郭威,在读博士,助理研究员,从事中药学研究,Tel:18678801862,E-mail:331527800@qq.com

**[通讯作者]** \*杨滨,博士,研究员,从事中药学研究,Tel:010-64014411,E-mail:ybinmm@126.com

ends of S-plot were selected as potential markers. **Result:** Differences in main chemical compounds were found between the samples from Vietnam and China. Thirty-five samples were divided into Vietnam group and China group. Astilbin, isoastilbin, neoastilbin and engeletin were determined to be the discrimination markers, and their contents in samples of Vietnam were obviously higher than those in samples of China. **Conclusion:** Fingerprint coupled with OPLS-DA can be used to analyze the chemical similarity and differences between samples from Vietnam and China. The results provided data not only for the quality evaluation of samples from Vietnam, but also for the answer on whether samples from Vietnam can be used as medicine.

[ **Key words** ] Smilacis Glabrae Rhizome; fingerprint; OPLS-DA; discrimination markers

土茯苓味甘、性平,具有除湿、解毒、通利关节等功效,主要用于治疗湿热淋虫、痈肿、疥癣、梅毒以及汞中毒所致的肢体拘挛、筋骨疼痛<sup>[1]</sup>,是中成药“肾康复胶囊”、“复方青黛丸”、“银屑灵膏”、“通风定胶囊”等的主要原料之一。

目前,国内土茯苓野生资源日趋紧张,难以满足市场需求,并且很多国内土茯苓落新妇昔的含量达不到 2015 年版《中国药典》要求。在前期市场调查中,发现广西玉林药材市场的土茯苓商品多来自越南,其落新妇昔含量远高于《中国药典》限量<sup>[2]</sup>,在国内已经作为土茯苓使用。越南土茯苓资源丰富,量多价低,有弥补国内资源不足潜力,林耿丰<sup>[3]</sup>根据淀粉粒的形状和药材断面颜色,认为越南土茯苓为土茯苓的混淆品。越南土茯苓植物来源不明确,质量评价相关的文献报道较少,是否可作为土茯苓入药,需做进一步的研究。为明确越南土茯苓能否药用,需先阐明其与国产土茯苓的化学成分是否存在差异,并进一步对其差异性成分进行指认。

本文采集了越南土茯苓 2 份,国产土茯苓 6 份,并同时购买越南土茯苓 5 份,国产土茯苓 20 份,以此为研究对象,采用指纹图谱对其主要成分进行分析,并结合正交信号校正偏最小二乘判别分析(orthogonal signal correction partial least square discrimination, OPLS-DA)对两者差异性化合物进行辨识,探讨越南和国产土茯苓的化学成分差异,为越南土茯苓的成药性及其质量评价提供参考数据。

### 1 材料

1200 系列高效液相色谱系统,6320 离子阱质谱检测器(美国安捷伦公司);BP211D 型电子天平(德国赛多利斯公司);Simplicity 纯水仪(美国密理博公司);LC-350A 型超声波中药处理机(济宁市中区鲁超仪器厂)。

土茯苓商品药材共 27 份,分别购自广西玉林、河北安国、安徽亳州药材市场(表 1);采集品共 8 份,分别采自越南广宁省和中国广西壮族自治区,经

浙江大学傅承新教授和中国科学院植物研究所金效华副研究员鉴定为百合科光叶菝葜 *Smilax glabra* 的干燥根茎(表 2)。

表 1 土茯苓商品药材信息

Table 1 Specific information of commercial *Smilacis Glabrae* Rhizome

No.	编号	产地	性状特征	购买地
1	A1	广西	断面白色、粉性足	玉林
2	A2	越南	断面红棕色、韧性强	玉林
3	A3	越南	断面红棕色、韧性强	玉林
4	A4	越南	断面红棕色、韧性强	玉林
5	A5	越南	断面红棕色、韧性强	玉林
6	A6	越南	断面红棕色、韧性强	玉林
7	B1	云南	断面白色、粉性足	安国
8	B2	云南	断面红色、韧性较强	安国
9	B3	云南	断面白色、粉性足	安国
10	B4	湖南	断面红色、韧性较强	安国
11	B5	湖南	断面白色、粉性足	安国
12	B6	湖南	断面白色、粉性足	安国
13	B7	湖南	断面白色、粉性足	安国
14	B8	湖南	断面白色、粉性足	安国
15	B9	湖南	断面白色、粉性足	安国
16	C1	广西	断面红色、韧性较强	亳州
17	C2	广西	断面白色、粉性足	亳州
18	C3	广西	断面白色、粉性足	亳州
19	C4	广西	断面红色、韧性较强	亳州
20	C5	广西	断面白色、粉性足	亳州
21	C6	广西	断面白色、粉性足	亳州
22	C7	广西	断面红色、韧性较强	亳州
23	C8	湖南	断面白色、粉性足	亳州
24	C9	湖南	断面红色、韧性较强	亳州
25	C10	湖南	断面红色、韧性较强	亳州
26	C11	湖南	断面白色、粉性足	亳州
27	C12	湖南	断面白色、粉性足	亳州

表 2 土茯苓采集药材信息

Table 2 Specific information of collected Smilacis Glabrae Rhizome

No.	编号	采集地	性状特征	采集时间
28	D1	中国广西玉林市小平山路边,水库旁,背阴处	断面白色,粉性足	2016-04-24
29	D2	中国广西玉林市小平山,树下,背阴处	断面白色,粉性足	2016-04-24
30	D3	中国广西玉林市小平山,树下,背阴处	断面白色,粉性足	2016-04-24
31	D4	中国广西玉林市小平山,树下,背阴处	断面白色,粉性足	2016-04-24
32	D5	中国广西玉林市大平山,向阳处	断面白色,粉性足	2016-04-24
33	D6	中国广西玉林市大平山,背阴处	断面白色,粉性足	2016-04-24
34	D7	越南广宁省平辽县横模镇龙轰村,背阴处	断面白色,粉性足	2016-11-20
35	D8	越南广宁省平辽县横模镇龙轰村,背阴处	断面红色,韧性较强	2016-11-20

注:鉴定结果均为光叶菝葜。

乙腈(色谱纯,德国 Fisher 公司),超纯水(美国密理博公司),甲酸、甲醇等其他试剂均为分析纯。对照品落新妇苷(批号 111798-201504),黄杞苷(批号 111906-201102),白黎芦醇(批号 111535-200502),花旗松素(批号 111816-201102)购自中国食品药品检定研究院;丁香酸(批号 15070231),表儿茶素(批号 15111432)购自上海同田生物技术股份有限公司。

## 2 方法

**2.1 供试品溶液的制备** 取供试品粉末(过 2 号筛)0.25 g,精密称定,准确加入甲醇 8 mL,称重,超声提取 30 min(200 W,40 kHz),冷却至室温,甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

**2.2 对照品溶液的制备** 分别取落新妇苷、黄杞苷、白黎芦醇、花旗松素、丁香酸、表儿茶素对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液,即得。

**2.3 色谱条件** 采用 Thermo Hypersil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),检测波长 291 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,进样量 10 μL,流动相为 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~10 min,5%~10% B;10~15 min,10% B;15~25 min,10%~15% B;25~40 min,15% B;40~45 min,15%~18% B;45~70 min,18% B)。

**2.4 质谱条件** 采用电喷雾离子源,扫描级数 5 级,扫描范围  $m/z$  50~1 000,扫描速度 26 000 amu·s<sup>-1</sup>,喷雾气压力 241.3 kPa,干燥气温度 350 ℃,干燥气流速 9 L·min<sup>-1</sup>,毛细管电压 4 000 V,分流比 4:1。

**2.5 数据处理与分析** 将色谱数据(AIA 格式)导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版),生成指纹图谱的对照图谱,计算各样品与对照

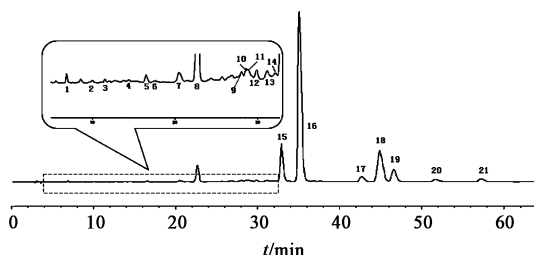
图谱的相似度。

将指纹图谱数据集矩阵导入 SIMCA-P14.1 软件(Umetrics, Umea, 瑞典)进行聚类分析和 OPLS-DA。建立 OPLS-DA 模型时,先对数据进行 permutation 分析,假设检验次数设为 200;对两组数据的差异性进行整体分析,得到 S-plot 图和变量权重重要性排序(variable importance in projection, VIP)预测值分布图,选取位于 S-plot 图两端并且 VIP>1 的点作为差异性标志物。

采用 DataAnalysis 对正、负离子模式总离子流图进行分析,根据相对保留时间、碎片离子信息和分子式匹配软件,结合 Scifinder, Chemspider 等数据库以及相关文献报道对各主要分子离子峰进行鉴定。

## 3 结果

**3.1 方法学试验** 进行了样品的精密度试验、稳定性试验、重复性试验,以落新妇苷峰(色谱峰 16)(图 1)为参照峰,各主要色谱峰相对保留时间 RSD 均<1%,相对峰面积 RSD 均<3%。结果表明,仪器精密度良好,实验方法的重复性良好,供试液在 24 h 内稳定。



6. 丁香酸;7. 表儿茶素;13. 花旗松素;16. 落新妇苷;19. 黄杞苷;20. 白黎芦醇

图 1 土茯苓 HPLC-MS 指纹谱

Fig. 1 HPLC-MS chromatogram of Smilacis Glabrae Rhizome

**3.2 色谱峰的归属** 通过与对照品对比及分析各级质谱图提供的碎片离子信息,对图 1 各色谱峰进行归属,确定了峰 1~21 的化合物信息,包括 1

个多酚类化合物,3 个有机酸类化合物,13 个黄酮类化合物。相关化合物推断信息见表 3。其中,与对照品对比,峰 6,7,13,16,19,20 分别为丁香酸、表儿茶素、花旗松素、落新妇苷、黄杞苷、白藜芦醇

的色谱峰;峰 1,2,3,根据氮规则,相对分子质量整数部分为奇数的化合物含奇数个氮,再结合分子匹配软件给出的分子式,推测可能为生物碱类化合物。

表 3 土茯苓的化学成分鉴定

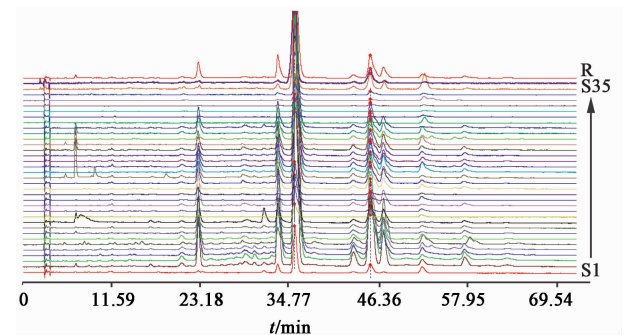
Table 3 Identification of chemical constituents of Smilacis Glabrae Rhizome

峰号	(+) ESI-MS	分子式	(-) ESI-MS	化合物名称/类型	参考文献
1	-	-	392.0, 322.8, 254.7, 186.6	生物碱	-
2	488.2	-	486.1, 357.0, 165.9, 121.0	生物碱	-
3	472.2	-	470.1, 341.0, 297.0, 279.8	生物碱	-
4	291.0	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	288.9, 244.9, 202.9, 174.8	儿茶素	[4]
5	181.1	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179.0, 135.0, 107.1, 91.2	咖啡酸	[4]
6	199.1	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	196.9, 181.9, 166.9, 123.1, 95.2	丁香酸	[5]
7	-	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	289.0, 244.9, 202.9, 175.0, 159.0	表儿茶素	[4]
8	337.0	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> O <sub>8</sub>	335.0, 178.9, 135.0, 107.1	5-O-咖啡酰莽草酸	[4,6-8]
9	-	C <sub>30</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	629.2, 475.0, 310.9, 224.9, 194.9	二羟基苯丙酸取代的落新妇苷异构体	[9-10]
10	-	C <sub>30</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	629.2, 475.1, 310.9, 267.0	二羟基苯丙酸取代的落新妇苷异构体	[9-10]
11	-	C <sub>30</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	629.2, 475.1, 310.9, 174.9	二羟基苯丙酸取代的落新妇苷异构体	[9-10]
12	321.0	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	319.0, 162.9, 119.0	-	-
13	305.0	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	303.0, 284.9, 240.9, 212.9, 184.9	花旗松素	[11-12]
14	453.1	C <sub>24</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	451.0, 341.0, 216.9, 188.9, 160.8	cinchonain	[10,13]
15	451.1	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	449.1, 285.0, 240.9, 212.9, 184.9	新落新妇苷	[4]
16	451.1	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	449.1, 284.9, 240.9, 212.9, 185.0	落新妇苷	[4]
17	451.1	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	449.1, 285.0, 240.9, 212.9, 168.9	新异落新妇苷	[4]
18	451.1	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	449.1, 285.0, 240.9, 221.9, 186.9	异落新妇苷	[4]
19	435.1	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	433.1, 268.9, 224.9, 197.0, 166.8	黄杞苷	[4]
20	229.1	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	227.0, 184.9, 143.0, 115.4	白藜芦醇	[14]
21	435.1	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	433.1, 268.9, 224.9, 168.9, 125.7	异黄杞苷	[4]

3.3 越南与国产土茯苓样品化学成分的比较 35 批样品的指纹图谱叠加见图 2,并将越南和国产土茯苓分别计算相似度(表 4)。越南各样品与越南对照图谱的相似度均 >0.9,表明越南产地样品的化学成分一致性较好。28 批国产土茯苓与国产对照图谱的相似度差异较大,6 批介于 0.3~0.8,3 批介于 0.8~0.9,19 批 >0.9。越南和国产土茯苓对照图谱(图 3)表明,越南土茯苓主要成分的峰面积大于国产土茯苓。

SIMCA-P14.1 聚类分析得到的聚类树图(图 4)和 OPLS-DA 模型的得分图(图 5)显示,35 批土茯苓药材明显分为越南和国产两组,表明两组样品中化学成分存在差异。

S-plot 图中 S 型曲线上的每一个点代表一个化合物,差异性化合物分布在 S 型曲线的上下两端。S 曲线上端应为国产药材中峰面积较大的化合物,下端为越南药材中峰面积较大的化合物。从图 6 可知,S 型曲线的上端缺失,差异性化合物主要集中在 S 型曲线的下端,说明越南药材中部分化合物的含



S1~S35. 1~35 号样品;R:对照指纹谱

图 2 35 批样品 HPLC 指纹谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of 35 batches of samples

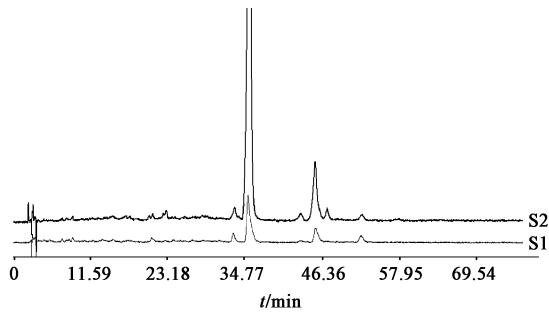
量较大。在 0.95 的置信区间内, VIP > 1 的化合物在两组分类中发挥重要作用,结合各变量的 VIP 值(表 5),越南与国产药材的差异化合物确定为落新妇苷、异落新妇苷、新落新妇苷、黄杞苷。其中,落新妇苷的 VIP 值最大,是产地鉴别最重要的标识物。

对差异性化合物在越南和国产药材中的相对含量进行统计分析,结果表明,新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷、黄杞苷在越南土茯苓中的含量显著大

表 4 35 批土茯苓 HPLC-MS 指纹图谱相似度

Table 4 Similarity of 35 batches Smilacis Glabrae Rhizome

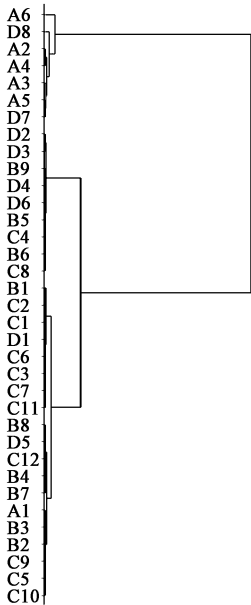
编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
A1	0.901	B4	0.954	C4	0.971	D1	0.906
A2	0.991	B5	0.654	C5	0.960	D2	0.328
A3	0.993	B6	0.815	C6	0.967	D3	0.485
A4	0.983	B7	0.974	C7	0.960	D4	0.614
A5	0.991	B8	0.847	C8	0.965	D5	0.743
A6	0.939	B9	0.914	C9	0.811	D6	0.545
B1	0.978	C1	0.928	C10	0.958	D7	0.942
B2	0.978	C2	0.940	C11	0.975	D8	0.975
B3	0.963	C3	0.976	C12	0.975		



S1. 国产; S2. 越南

图 3 越南与国产土茯苓 HPLC-MS 对照指纹谱

Fig. 3 HPLC-MS reference fingerprint of samples from Vietnam and China



1. 越南; 2. 国产

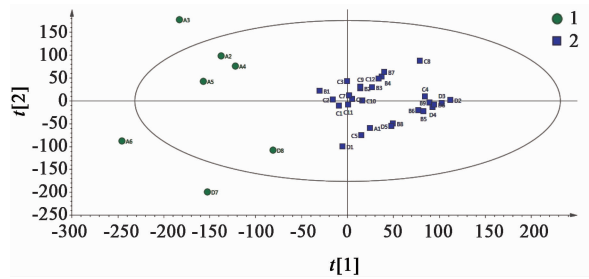
图 4 越南与国产土茯苓 HPLC-MS 指纹谱的聚类树状关系

Fig. 4 Cluster dendrogram of samples from Vietnam and China

于国产土茯苓, 可作为区分两者的差异性标识物 (图 7)。

#### 4 讨论

分别采用 OPLS 与 PLS 对指纹图谱的数据进行



1. 越南; 2. 国产

图 5 越南与国产土茯苓共有峰峰面积的得分

Fig. 5 Score plot of samples from Vietnam and China

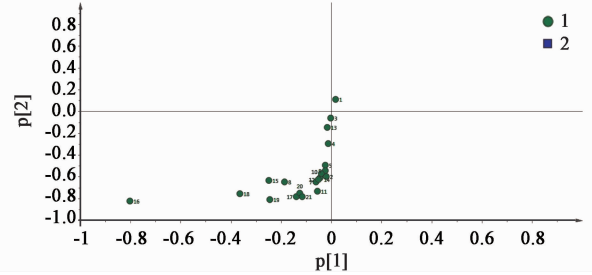


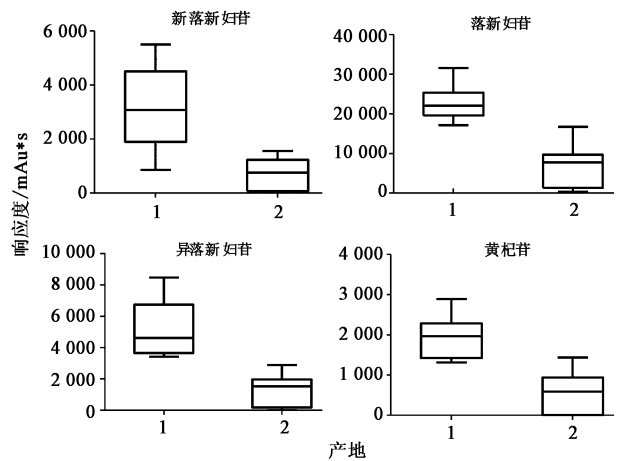
图 6 越南与国产土茯苓变量贡献度的 S-plot

Fig. 6 S-plot of samples from Vietnam and China

表 5 各变量的 VIP 值

Table 5 VIP values of variables

峰号	VIP 值	峰号	VIP 值	峰号	VIP 值
1	0.075 0	9	0.112 2	16	3.587 5
2	0.090 7	10	0.205 6	17	0.629 9
3	0.011 7	11	0.251 1	18	1.633 1
4	0.055 2	12	0.230 0	19	1.098 6
5	0.114 2	13	0.077 0	20	0.561 8
7	0.278 0	14	0.183 0	21	0.518 5
8	0.839 2	15	1.119 2		



1. 越南 (n=7); 2. 国产 (n=28)

图 7 越南与国产土茯苓差异化合物的相对含量 (x ± s)

Fig. 7 Relative content of marker compounds in samples from Vietnam and China (x ± s)

了分析,两组样品在 PLS-DA 得分图中不能很好区分,而在 OPLS 得分图中区分显著,即 OPLS-DA 明显提高了模型的分辨能力。究其原因,OPLS-DA 可将正交信号校正方法与 PLS 进行结合,从而对 PLS 的结果进行修正,可以滤除与研究对象无关的噪音<sup>[15]</sup>,从而增强模型的有效性和对新样品的预测能力,可更好地表达组间差异。与聚类分析相比,OPLS-DA 不仅能实现产地鉴别,还能筛选获得产地特征成分标记物<sup>[16]</sup>,有利于快速获得区分越南与国产土茯苓的候选标识物。

通过随机多次( $n = 200$ )改变分类变量的排列顺序建立 OPLS-DA 模型,其中, $R_x^2(\text{cum}) = 0.933$ , $R_y^2(\text{cum}) = 0.772$ ,表明模型有较好的概括解释率; $Q^2(\text{cum}) = 0.697$ ,表明模型有较好的预测能力;一般认为当  $R^2$  和  $Q^2$  值  $> 0.5$  时,模型的稳定性及预测能力均较好,故本实验所建立模型的稳定性及预测能力均达到要求,可用于鉴别越南与国产药材。

一般而言,采收期、生长年限、产地环境等是影响药材质量的主要因素。土茯苓为多年生药材,严爱娟等<sup>[2]</sup>研究表明生长年限对土茯苓中落新妇苷含量影响较小。迄今为止,尚未见有关采收期和生长环境对土茯苓质量影响的报道,越南的高温多雨可能是导致越南和国内土茯苓化学成分含量差异的主要原因。

不同于《中国药典》(2015 年版)采用 60% 甲醇加热回流土茯苓样品,本文采用甲醇超声提取样品,原因如下:一是落新妇苷耐热性较差,不宜采用加热回流法提取<sup>[17]</sup>。另一个原因是甲醇渗透入药材细胞的能力较强,适宜作为药材指纹图谱研究的提取溶剂。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015: 17.  
[2] 严爱娟,郭增喜,张文婷,等. 产地及生长年限对土茯苓中落新妇苷含量的影响[J]. 中国现代应用药学, 2016,33(6):803-806.  
[3] 林耿丰. 土茯苓质量评价体系初步研究[D]. 广州:广州中医药大学,2011.  
[4] 徐文皓,尹莲. 土茯苓黄酮部位成分分析及指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(7): 112-116.  
[5] 易以军,曹正中,杨文红,等. 土茯苓化学成分的研究(Ⅲ):光叶菝葜甙的分离和鉴定[J]. 药学学报, 1995,30(9):718-720.

[6] 徐硕,尚明英,刘广学,等. 高效液相色谱法测定土茯苓药材中 7 种活性成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2015,40(3):469-479.  
[7] ZHANG Q F, Cheung H Y, ZENG L B. Development of HPLC fingerprint for species differentiation and quality assessment of Rhizoma Smilacis Glabrae [J]. J Nat Med, 2013, 67(1): 207-211.  
[8] XU S, SHANG M Y, LIU G X, et al. Chemical constituents from the rhizomes of *Smilax glabra* and their antimicrobial activity [J]. Molecules, 2013, 18(5): 5265-5287.  
[9] GU W Y, LI N, Leung E L H, et al. Metabolites software-assisted flavonoid hunting in plants using ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. Molecules, 2015, 20(3): 3955-3971.  
[10] GU W Y, LI N, Leung E L H, et al. Rapid identification of new minor chemical constituents from *Smilacis Glabrae Rhizoma* by combined use of UHPLC-Q-TOF-MS, preparative HPLC and UHPLC-SPE-NMR-MS techniques [J]. Phytochem Anal, 2015, 26(6): 428-435.  
[11] 吴博,马跃平,袁久志,等. 土茯苓化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2010,27(2):116-119.  
[12] DAI D, ZHAO W, GAO F, et al. Simultaneous chemical fingerprint and quantitative analysis of *Rhizoma Smilacis Glabrae* by accelerated solvent extraction and high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2015,38(9):1466-1475.  
[13] Beltrame F L, Rodrigues F E, Barros F A P, et al. A validated higher-performance liquid chromatography method for quantification of cinchonain Ib in bark and phytopharmaceuticals of *Trichilia catigua* used as *Catuaba* [J]. J Chromatogra A, 2006, 1119(1): 257-263.  
[14] 陈广耀,沈连生,江佩芬. 土茯苓化学成分的研究[J]. 北京中医药大学学报,1996,19(1):44-48.  
[15] 阿基业. 代谢组学数据处理方法——主成分分析[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(5): 481-489.  
[16] 黄璐琦,袁媛,袁庆军,等. 中药分子鉴定发展中的若干问题探讨[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3663-3667.  
[17] 隋欣,王人悦. 落新妇苷稳定性的研究[J]. 食品研究与开发,2015,36(8):10-12.

[责任编辑 顾雪竹]