

· 论著 ·

HPLC-ELSD 同时测定铁破锣中 3 种三萜皂苷含量及体外抗氧化性研究

周 静, 叶朝晖, 吴燕华 (宁波市妇女儿童医院, 浙江 宁波, 315010)

[摘要] **目的** 建立同时测定铁破锣中 3 种三萜皂苷 Beesioside I、II、III 含量的方法, 并研究铁破锣中三萜皂苷的体外抗氧化性。**方法** 运用反相高效液相色谱-蒸发光散射检测法 (HPLC-ELSD) 对铁破锣中三萜皂苷进行含量测定, 并对所用含量测定方法进行方法学考察; 同时, 对铁破锣中三萜皂苷清除自由基的能力和总的抗氧化能力进行体外试验。**结果** HPLC-ELSD 方法可同时测定 Beesioside I、II、III 的含量, 且该方法线性关系良好、精密度、重复性、稳定性均好, 回收率高; 铁破锣中三萜皂苷能够有效清除 ABTS⁺、DPPH· 和羟基自由基, 并且具有很好的抗氧化能力。**结论** HPLC-ELSD 方法简便、快速、准确、重现性好, 可作为铁破锣中三萜皂苷 (Beesioside I、II、III) 的含量测定及质量控制标准方法, 体外试验表明铁破锣中三萜皂苷具有良好的自由基清除和抗氧化能力。

[关键词] 铁破锣; 三萜皂苷; 高效液相色谱-蒸发光散射法; 抗氧化

[中图分类号] R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)04-0337-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.010

The assay of three triterpenoid saponin extracted from *Bessia calthaeifolia* simultaneously by HPLC-ELSD and their antioxidant effects *in vitro*

ZHOU Jing, YE Zhaohui, WU Yanhua (Department of Pharmacy, Ningbo Women and Children's Hospital, Ningbo 315010, China)

[Abstract] **Objective** To establish a method for simultaneous determination of three triterpenoid saponins (Beesioside I, II, III), and investigate antioxidant effects of triterpenoid saponin extracted from *Bessia calthaeifolia*. **Methods** The content assay of triterpenoid saponin extracted from *Bessia calthaeifolia* was conducted by high performance liquid chromatography method with evaporative light-scattering detector (HPLC-ELSD). The methodology validation was performed to confirm the content determination. The free radicals scavenging activities and antioxidant effects of the triterpenoid saponin were evaluated *in vitro*. **Results** The HPLC-ELSD method can simultaneously determine the content of Beesioside I, II and III. It has good linearity, precision, repeatability and stability with high recovery. The triterpenoid saponins showed great activity on scavenging ABTS⁺, DPPH· and OH free radicals and antioxidant effects. **Conclusion** The HPLC-ELSD method has good specificity, stability, repeatability and accuracy. This method can be used for content determination and quality standard of three triterpenoid saponins (Beesioside I, II, III) from *Bessia calthaeifolia*. The triterpenoid saponins exhibited free radicals scavenging effects and antioxidant effects.

[Key words] *Bessia calthaeifolia*; triterpenoid saponin; HPLC-ELSD method; antioxidant effects

铁破锣 (*Beesia calthaeifolia* Maxim. Ulbr.) 系毛茛科升麻族铁破锣属植物, 是我国特有的一种民间常用草药, 药理活性主要有抗炎、抗肿瘤、抑制核苷酸转运等^[1]。有研究^[2-5]表明, 从产于云南的铁破锣根茎中分离得到 4 个三萜皂苷 (beesioside I、II、III、IV), 而后鞠建华^[6-9]等又从贵州省凡净山和甘肃省文县产的铁破锣中分离并鉴定了 24 个 cycloartane 型三萜皂苷类化合物。前期研究结果表明

HPLC 具有操作简便、快速, 结果准确等优点^[10-12]。但是由于皂苷化学结构比较相近, 极性较大, 且无紫外吸收, 应用紫外检测器检测该成分时往往灵敏度偏低, 很难对其进行定量研究, 因此, 选用 ELSD 检测器对该成分的含量进行检测。本实验首次同时测定了从铁破锣中提取出来的 3 种三萜皂苷 (Beesioside I、II、III) 的含量, 并对此进行了方法学的考察, 以期对铁破锣药材的质量控制提供一种可行的分析方法。

近年来中外学者对铁破锣的研究越来越多, 对化学成分的研究也越来越深入, 但对于铁破锣三萜皂苷的体外抗氧化研究罕有报道, 本研究通过对铁

[基金项目] 宁波市自然科学基金项目 (2018A610245)

[作者简介] 周 静, 主管药师, 研究方向: 医院药学, Email: 610487852@qq.com

破锣中三萜皂苷清除 2,2'-氨基-二(3-乙基-苯并噻唑啉磺酸-6)铵盐($ABTS^+$)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼($DPPH \cdot$)和羟基自由基,以及对 Fe^{2+} 的还原能力进行研究,探讨其体外抗氧化性,为后续深入探讨其药理活性提供依据。

1 材料与仪器

1.1 主要仪器

LC-20AT 高效液相色谱系统(岛津);SEDEX 75 蒸发光散射检测器(法国),XWK-3A 空气泵;色谱柱 COSMOSIL 5C₁₈-MS- II (4.6 ID × 250 mm);FA 2004 电子天平(上海衡平仪器仪表厂);FW80 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);

DK-S24 电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);752 紫外分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司);数显 pH 计(上海天达仪器有限公司)。

1.2 试剂

乙腈、甲醇(GR,美国 TEDIA 天地试剂有限公司);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);Be-siosides I、II、III 均为实验室自制(高效液相测定法,纯度 > 98%,结构见图 1);ABTS、DPPH(Sigma 公司);铁破锣药材采自云南省,由浙江中医药大学陈孔荣副教授进行鉴定;人参皂苷 Rg1 标准品购自上海源叶公司;其余试剂均为分析纯。

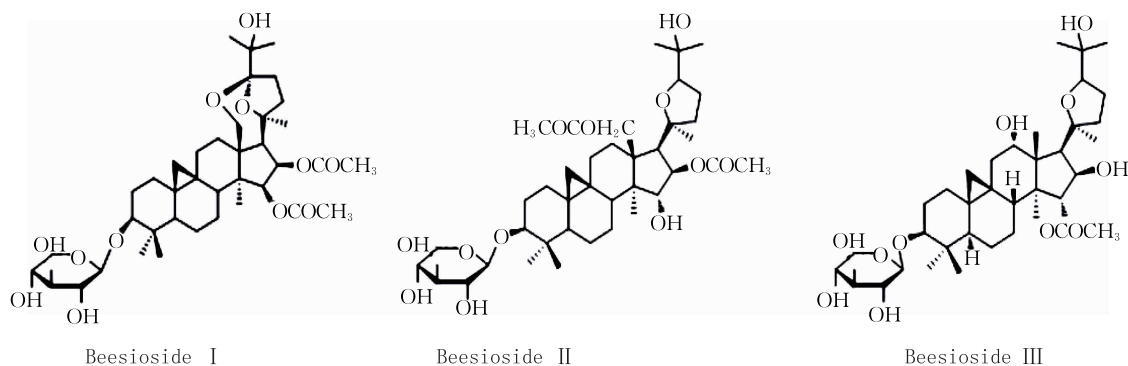


图 1 Beesiosides I、II、III 的结构图

2 方法与结果

2.1 铁破锣中三萜皂苷的含量测定

2.1.1 试剂的配制

5%香草醛-冰醋酸溶液配制:精密称取 0.5000 g 香草醛于 10 ml 容量瓶中,加入冰醋酸定容至刻度线。

标准品的配制:精密称取人参皂苷 Rg1 标准品 0.0043 g,置于 10 ml 的容量瓶中,加 75%甲醇溶解至刻度线摇匀,制成 0.43 mg/ml 的溶液。

2.1.2 铁破锣中三萜皂苷的制备

精密称取 5.000 g 铁破锣粉末(过四号筛),提取溶剂为 75%甲醇,料液比为 1:70,提取温度为 85 °C,加热回流法提取 2 h,提取 2 次,过滤,浓缩,然后通过真空冷冻干燥机得冻干粉备用。

2.1.3 标准曲线的绘制

将得到标准品溶液取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 ml 置于 10 ml 试管中,用甲醇定容至刻度,摇匀,配制成不同浓度的溶液,挥干,精密加入 0.2 ml 5%香草醛-冰醋酸和 0.8 ml 的高氯酸,60 °C 水浴 15 min,冰水浴 3 min,再加入 5 ml 无水乙酸,摇匀,在检测

波长 550 nm 处测定吸光度,绘制标准曲线。

2.1.4 含量测定

精密称取铁破锣总皂苷冻干粉 5 mg,用 75%甲醇定容至 10 ml,混匀即得供试品溶液。取供试品 0.5 ml 置于 10 ml 的带刻度具塞试管中,挥干,按上述标准曲线步骤操作。

实验结果表明:通过紫外显色法对铁破锣中三萜皂苷进行含量测定,标准曲线为 $Y = 0.0011X - 0.0022$, $r = 0.9995$,铁破锣中三萜皂苷含量为 17.87%。

2.1.5 方法学考察

(1)重复性试验:平行称取上述铁破锣总皂苷冻干粉 6 份,按照“2.1.3”项方法进行重复测定,结果 RSD 为 1.07%,表明该方法重复性较好。

(2)稳定性试验:分别在 0、2、4、6、8、10 h 对供试品进行吸光度测定,结果 RSD 为 0.85%,表明该方法稳定性良好。

(3)回收率试验:取 6 份已知含量的铁破锣总皂苷冻干粉通过添加 100%含量的人参皂苷 Rg1 标准品进行回收率试验,结果 RSD 为 1.93%,表明该方法回收率良好。

2.2 铁破锣中 Beesiosides I、II、III 3种三萜皂苷成分的含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(67:33), 流速 1 ml/min, 柱温 25 °C, 进样量为 20 μl。ESLD 检测器条件, 漂移管温度 64 °C, 载气(空气), 气体压力 3.1 MPa。

2.2.2 对照品溶液的制备

分别取 Beesioside I、II、III 对照品适量, 精密称定(12.84、10.24、16.02 mg)置于 4 ml 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 配成浓度分别为 3.21、2.56、4.01 mg/ml 的对照品储备液; 分别精密移取上述对照品溶液 0.5、0.9、1.5 ml 于容量瓶中摇匀, 即得混合对照品储备液, 于 4 °C 保存备用。混合对照品溶液中 Beesiosides I、II、III 的浓度分别为 0.55、0.79、2.07 mg/ml。

2.2.3 供试品溶液的制备

精密称取 0.4000 g 铁破锣粉末(过四号筛), 75% 甲醇为提取溶剂, 料液比为 1:70, 提取温度为 85 °C, 加热回流提取 2 h, 提取 2 次, 过滤, 合并滤液, 蒸干, 用甲醇溶解并定容至 2 ml 量瓶中, 摇匀, 经微孔滤膜(0.45 μm)过滤后备用。

2.2.4 标准曲线的绘制

分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品储备液 1000、500、250、125、62.5 μl 置于 1 ml 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 6 个不同浓度的混合对照品溶液。分别精密吸取 6 个不同浓度的混合对照品溶液各 20 μl, 依“2.2.1”项下色谱条件测定, 以峰面积数值为纵坐标, 浓度数值为横坐标, 绘制标准曲线, 并测定定量限(LOQ = 10 × SD/S)和检测限(LOD = 3.3 × SD/S), 其中 SD 表示标准方差, S 表

示回归方程斜率。

2.2.5 含量测定

采用上述所建立的分析方法对铁破锣中 Beesiosides I、II、III 3种三萜皂苷成分进行测定, 计算其含量。结果如图 2 所示, 通过 HPLC-ELSD 首次同时测定铁破锣中三种三萜皂苷成分, 分别为 Beesiosides I、II、III, 三种化合物结构如图 1 所示, 并对其含量进行测定。

Beesiosides I、II、III 3种对照品的标准曲线如表 1 所示, *r* 均大于 0.999, 结果表明各组分在进样量范围之内线性关系良好。通过此方法测得 Beesioside I 含量为 0.18%, Beesioside II 含量为 0.20%, Beesioside III 含量为 0.45%。

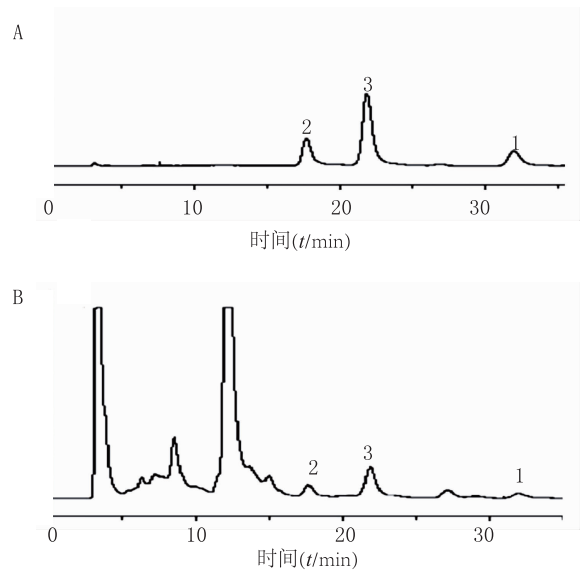


图 2 标准品(A)和铁破锣中 3 种三萜皂苷(B)高效液相色谱图

1. Beesiosides I; 2. Beesiosides II; 3. Beesiosides III

表 1 标准曲线、线性范围、检测限和定量限

化合物	回归方程	<i>r</i>	线性范围(mg/ml)	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Beesioside I	$Y=59607X-1147.3$	0.9997	0.0350~0.5534	0.0092	0.0312
Beesioside II	$Y=109199X-4681$	0.9995	0.0497~0.7945	0.0087	0.0357
Beesioside III	$Y=165698X-18969$	0.9996	0.1295~2.0716	0.0125	0.0463

2.2.6 方法学考察

(1) 精密度试验: 精密量取混合对照品储备液 500 μl 于 1 ml 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 依“2.2.1”项下色谱条件测定, 连续进样 6 次, 记录各对照品峰面积, 并求 RSD 值。结果表明: 通过计算各对照品峰面积, RSD 值分别为 1.77%、1.57%、1.09%, 均小于 3%, 表明仪器精密度良好。

(2) 稳定性试验: 精密量取同一供试品溶液, 分

别在制备后的 0、4、8、12、16、20、24 h, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 记录各组峰面积, 计算 RSD 值。结果表明: 通过计算各组峰面积, RSD 值分别为 1.00%、1.23%、1.72%, 表明该方法的稳定性良好。

(3) 重复性试验: 取同一批铁破锣粗粉 6 份, 精密称定, 按“2.2.3”项制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 记录各组峰面积, 将峰面积代入标准曲线之后, 计算含量和 RSD 值, 结果表明: 各组的

RSD值分别为1.67%、1.85%、1.25%，表明该方法的重复性良好。

(4)加样回收率试验:取已知含量的同一批次铁破锣粉末共6份,精密称定,分别根据药材中各成分含量加入100%浓度含量的对照品粉末,按照

“2.2.3”项方法制备供试品溶液,记录各组峰面积,并计算加样回收率及RSD值。结果如表2所示,1~6组RSD值分别为0.79%、0.95%、1.41%、0.72%、0.59%、0.76%,结果表明该方法加样回收率良好。

表2 铁破锣中3种三萜皂苷成分加样回收率试验结果($n=9$)

组别	供试品质量(mg)	成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	RSD(%)
1	400.00	Beesioside I	0.72	0.70	1.41	99.29	0.79
		Beesioside II	0.80	0.81	1.59	98.75	
		Beesioside III	1.80	1.79	3.60	100.27	
2	420.00	Beesioside I	0.76	0.73	1.50	100.67	0.95
		Beesioside II	0.84	0.80	1.62	98.78	
		Beesioside III	1.89	1.90	3.78	99.73	
3	408.00	Beesioside I	0.73	0.71	1.40	97.22	1.41
		Beesioside II	0.82	0.80	1.60	98.76	
		Beesioside III	1.84	1.84	3.68	100.00	
4	402.00	Beesioside I	0.72	0.71	1.41	98.60	0.72
		Beesioside II	0.80	0.80	1.60	100.00	
		Beesioside III	1.81	1.80	3.58	99.17	
5	414.00	Beesioside I	0.75	0.72	1.45	98.64	0.59
		Beesioside II	0.83	0.85	1.66	98.81	
		Beesioside III	1.86	1.85	3.70	99.73	
6	405.00	Beesioside I	0.73	0.69	1.40	98.59	0.76
		Beesioside II	0.81	0.81	1.62	100.00	
		Beesioside III	1.82	1.81	3.62	99.72	

2.3 铁破锣中三萜皂苷体外抗氧化性研究

2.3.1 清除 ABTS⁺ 自由基的能力测定^[13]

配制不同浓度梯度样品溶液,分别加入0.4 ml于试管中,ABTS⁺ 自由基储备液用70%乙醇稀释40倍,再加入3.6 ml上述溶液于试管中,混匀后,避光放置10 min,在检测波长734 nm处,测定吸光度,记吸光值为 A_i ,对照管为70%乙醇,测得的吸光值记为 A_j ,阳性对照品为维生素C(Vc),计算试样清除ABTS⁺的 IC_{50} 。公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_i/A_j)] \times 100 \quad (1)$$

结果表明(见图3):铁破锣中三萜皂苷有效抑制ABTS⁺的产生,其 IC_{50} 分别为58.83 $\mu\text{g/ml}$,阳性对照Vc的 $IC_{50} = 56.25 \mu\text{g/ml}$ 。由于 IC_{50} 值越小,抗氧化能力越强,说明铁破锣中三萜皂苷具有较强清除ABTS⁺的能力。

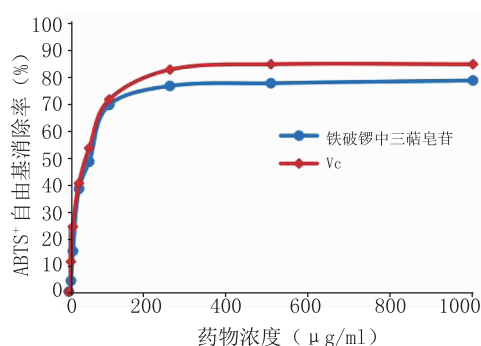


图3 铁破锣中三萜皂苷对ABTS⁺自由基的清除能力

2.3.2 清除 DPPH· 能力的测定^[13]

用无水乙醇配制成 $2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的DPPH溶液。取等体积待测液及上述溶液加入同一具塞试管中,摇匀。室温避光放置30 min,在检测波长517 nm处测定吸光度,用无水乙醇做参比溶液,吸光度记为 A_i ,分别测定 $2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ DPPH溶液、

待测液与等体积无水乙醇混合液的吸光度,记为 A_c 和 A_j , 阳性对照品为 V_c 。公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{[1 - (A_i/A_j)]}{A_c} \times 100 \quad (2)$$

结果表明:由图4可知,铁破锣中三萜皂苷有效抑制 DPPH· 的产生,其 IC_{50} 分别为 54.43 $\mu\text{g/ml}$, 阳性对照 V_c 的 IC_{50} = 55.28 $\mu\text{g/ml}$ 。说明铁破锣中三萜皂苷具有较强清除 DPPH· 的能力。

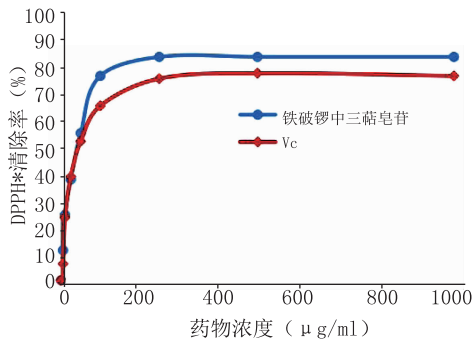


图4 铁破锣中三萜皂苷对 DPPH· 的清除能力

2.3.3 清除羟基自由基能力的测定^[14]

取 1.2 ml 结晶紫溶液和 0.2 ml 硫酸亚铁溶液于比色皿中,在检测波长 510 nm 处测定吸光度值 A_0 ;加入 0.16 ml 0.05% H_2O_2 溶液,测定 510 nm 处吸光度 A_1 ;向上述溶液体系中分别加入不同浓度样品以及 V_c 溶液,空白组为同体积蒸馏水,用 pH = 4 的 Tris-HCl 缓冲液稀释至 20 ml,室温避光 5 min,测得吸光度 A_2 ,计算试样清除羟基自由基的 IC_{50} ,公式如下:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{(A_2 - A_1)}{(A_0 - A_1)} \times 100 \quad (3)$$

结果表明(见图5):铁破锣中三萜皂苷有效抑制羟基自由基的产生,其 IC_{50} 分别为 85.43 $\mu\text{g/ml}$, 阳性对照 V_c 的 IC_{50} = 62.86 $\mu\text{g/ml}$ 。说明铁破锣中三萜皂苷具有较强清除羟基自由基的能力。

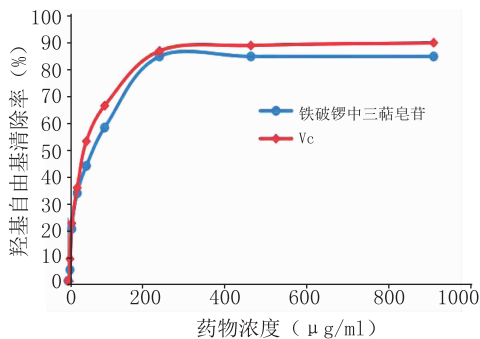


图5 铁破锣中三萜皂苷对羟基自由基的清除能力

2.3.4 总抗氧化能力(FRAP)的测定^[14]

吸取 100 μl 不同浓度的 $FeSO_4$ 溶液(0、100、

200、400、600、800、1000 $\mu\text{mol/L}$),加入 3 ml FRAP 试剂溶液,然后加入 300 μl 蒸馏水,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 4 min,在 593 nm 测定吸光度,以 $FeSO_4$ 溶液浓度为横坐标,吸光值为纵坐标绘制标准曲线。按照标准曲线方法测定样品的吸光度值,并求出待测样品相应的 $FeSO_4$ 浓度,定义为当量浓度(FRAP 值)。

结果得到 $FeSO_4$ 标准曲线的线性回归方程为: $Y = 0.0007X - 0.0198$, $r = 0.9989$,表明 $FeSO_4$ 在 100~1 000 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内与吸光度有较好的线性关系;由图6可知,随着浓度的升高铁离子还原能力增强,且存在明显的剂量依赖性,说明铁破锣中三萜皂苷总的抗氧化能力较强。

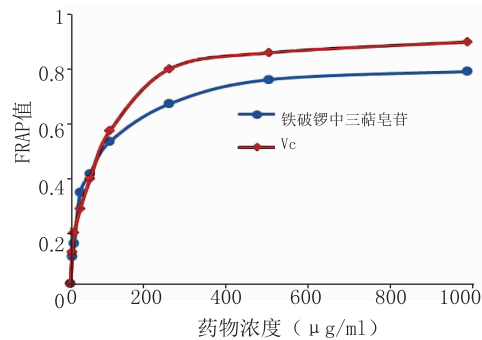


图6 铁破锣中三萜皂苷总的抗氧化能力

3 讨论

铁破锣主要分布于我国云南西北部、四川、贵州、广西北部、湖南西部、湖北西部、陕西南部及甘肃南部,资源丰富,但对该植物的开发研究还处于初级阶段,尚待进一步努力,应结合现代药理研究结果与传统中草药经验,开发出新型的药品服务于社会。民间将铁破锣根茎或全草药用,具有清热解毒,凉血,活血,消肿,镇痛,散风寒的功效,用来治疗风寒感冒,风湿关节痛,红白痢疾,咽喉肿疼,头痛,牙痛等病,外敷治疗疮疖和毒蛇咬伤等^[15]。从铁破锣中分离出大致三种类型的化学成分,即三萜及甾醇类、有机酸类和三萜皂苷类,无论全草或根茎,其三萜皂苷类化学成分都占绝对优势,是铁破锣的主要成分。

本研究首次建立 HPLC-ELSD 法同时测定铁破锣药材中的三萜皂苷的含量,该方法线性关系良好、精密度好、重复性好、稳定性好、回收率高,且简便、快速、准确、重现性好。通过体外抗氧化性研究,证明铁破锣中三萜皂苷能够有效清除 $ABTS^+$ 、 $DPH\cdot$ 和羟基自由基,并且具有很好的抗氧化能力,对于进一步开发抗氧化保健新药提供较强的应用前景。

(下转第 347 页)

皮逐渐出现变黄、变黑并形成薄层干痂,随着干痂脱落,移植的 HS 组织恢复了原有的大体形态特征,提示移植的 HS 表层细胞经历了一次坏死和更新的过程,推测与瘢痕基底胶原致密、早期血供相对不足有关。亦不排除瘢痕浅层细胞成分多、抗原性较强,出现类似于人全厚皮肤移植给裸鼠时的排斥反应^[10]。

本研究结果显示单纯乳膏组整个过程均未能观察到对 HS 的作用效应,提示 TAC 受到角质层阻挡,HS 组织中未能达到效应浓度,与我们的前期研究结果^[2-4]呼应。而微针+乳膏组可见移植的 HS 缩小、变平、变软,色泽变淡,用药 30 d 其 CD34 和 α -SMA 表达减少,细胞凋亡数增加,用药 45、60 d 各项指标均达到注射液组水平,提示微针使组织中 TAC 达到的浓度对瘢痕增生产生了显著的抑制作用,有效地强化了涂布给药的效果。尽管微创、无痛地使用滚轮微针导入 TAC 的方法,起效时间稍迟,但疗效与注射液组相当,为临床合理应用滚轮微针治疗 HS 提供了依据。

【参考文献】

- [1] GAUGLITZ GG. Management of keloids and hypertrophic scars: current and emerging options[J]. Clin Cosmet Investig Dermatol, 2013, 6: 103-114.
- [2] 李雅,张娟娟,张立超,等. 改装滚轮微针促进人增生性瘢痕皮

肤对醋酸曲安奈德的吸收[J]. 第二军医大学学报, 2015, 36(1): 58-64.

- [3] 张娟娟,张立超,朱全刚,等. 改装滚轮微针用于醋酸曲安奈德经皮给药的特性试验[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(4): 292-296.
- [4] 张娟娟,朱全刚,张立超,等. 不同密度滚轮微针对曲安奈德的透皮促渗作用[J]. 药实践杂志, 2013, 31(6): 415-417.
- [5] DAROUGHEH A, ASILIAN A, SHARIATI F. Intralesional triamcinolone alone or in combination with 5-fluorouracil for the treatment of keloid and hypertrophic scars[J]. Clin Exp Dermatol, 2009, 34(2): 219-223.
- [6] REISH R G, ERIKSSON E. Scar treatments: preclinical and clinical studies[J]. J Am Coll Surg, 2008, 206(4): 719-730.
- [7] MARTANTO W, DAVIS S P, HOLIDAY N R, et al. Transdermal delivery of insulin using microneedles in vivo[J]. Pharm Res, 2004, 21(6): 947-952.
- [8] BAL S M, KRUIHOF A C, ZWIER R, et al. Influence of microneedle shape on the transport of a fluorescent dye into human skin in vivo[J]. J Control Release, 2010, 147(2): 218-224.
- [9] 马常明,蔡景龙,牛扶幼,等. 皮肤滚针导入曲安奈德治疗增生性瘢痕效果观察[J]. 中华整形外科杂志, 2012, 28(3): 185-189.
- [10] MOMTAZI M, KWAN P, DING J, et al. A nude mouse model of hypertrophic scar shows morphologic and histologic characteristics of human hypertrophic scar[J]. Wound Repair Regen, 2013, 21(1): 77-87.

【收稿日期】 2019-02-24 【修回日期】 2019-06-25

【本文编辑】 陈盛新

(上接第 341 页)

【参考文献】

- [1] 鞠建华. 中国特有药用植物铁破锣化学成分及生物活性的研究[D]. 北京:中国协和医科大学, 2000.
- [2] SAKURAI N, NAGAI M, GOTO T, et al. Studies on the constituents of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata*. IV; Beesioside I, a cyclolanostanol xyloside from the rhizome of *Beesia calthae folia* [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 41(2): 272-275.
- [3] SAKURAI N, NAGAI M, NAGASE H, et al. Studies on the constituents of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata*. II; Beesioside II, a cyclolanostanol xyloside from rhizome of *Beesia calthae folia* [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(2): 582-589.
- [4] INOUE T, SAKURAI T, NAGAI M, et al. Beesioside III, a cyclolanostanol xyloside from rhizome of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata* [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 24(6): 1329-1331.
- [5] INOUE T, SAKURAI N, GOTO T, et al. Studies on the constituents of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata*. II; Beesioside IV, a cyclolanostanol xyloside from rhizome of *Beesia calthae folia* and *Souliea vaginata* [J]. Heterocycles, 1990, 30(2): 897-904.
- [6] JU J H, LIU D, LIN G, et al. Beesiosides A-F, six new cycloartane triterpene glycosides from *Beesia calthae folia* [J]. J Nat Prod, 2002, 65(1): 42-47.

- [7] JU J H, LIU D, LIN G, et al. Beesiosides G, H and J-N, seven new cycloartane triterpene glycosides from *Beesia calthae folia* [J]. J Nat Prod, 2002, 65(2): 147-152.
- [8] 鞠建华,林耕,杨峻山,等. 铁破锣皂苷 O 和 P 的结构及其药理活性[J]. 药学报, 2002, 37(10): 788-792.
- [9] 鞠建华,杨峻山,刘铁东. 铁破锣化学成分的研究 II [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(3): 157-160.
- [10] 周静,苗彩云,姚韵茜. HPLC 法快速测定早产儿血清中茶碱的含量[J]. 中国临床药学杂志, 2016, 25(6): 360-362.
- [11] 梁晓东,张茜,边月娟,等. HPLC 测定还脑益聪方及配伍前后何首乌肝毒性成分含量变化[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(7): 1557-1561.
- [12] 张博闻,姚奇志,文晓娟,等. HPLC 测定加味升降散中 5 种大黄蒽醌类成分含量[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(6): 1399-1402.
- [13] XIA D Z, YU X F, ZHU Z Y, et al. Antioxidant and antibacterial activity of six edible wild plants (*Sonchus* spp.) in China [J]. Nat Prod Res, 2011, 25(20): 1893-1901.
- [14] 田崇梅,夏道宗,邢梦雨. 土茯苓总黄酮与亚硝酸钠联用对铅离子螯合能力及体外抗氧化性的研究[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(6): 1392-1395.
- [15] 郑丹俊. 铁破锣化学成分的研究[D]. 杭州:浙江大学, 2015.

【收稿日期】 2018-12-20 【修回日期】 2019-05-31

【本文编辑】 陈盛新