

虎眼万年青质量标准及指纹图谱建立

朱正华¹, 张静¹, 孟灵旭¹, 孟相俊¹, 韩金伟², 张啸环^{1*}

(1. 长春中医药大学, 吉林 长春 132000; 2. 长白朝鲜族自治县长白山中药研究所, 吉林 白山 134400)

摘要: 目的 建立虎眼万年青质量标准及指纹图谱。方法 对12批药材进行性状鉴别、显微鉴别和薄层鉴别, 参照2020年版《中国药典》方法测定水分、总灰分、酸不溶灰分、浸出物含量, 采用水杨酸法测定多糖含量, 采用HPLC法建立12批药材的指纹图谱。结果 药材粉末呈黄绿色至棕黄色, 显微特征明显。薄层鉴别斑点清晰, 分离度好。12批药材水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物含量分别为10.37%、9.57%、0.94%、40.96%。D-无水葡萄糖在8.123~48.73 μg/mL范围内线性关系良好 ($R^2=0.9995$), 平均加样回收率为101.17%, RSD为1.2%, 多糖平均含量为14.36%。指纹图谱筛选出15个共有峰, 各批药材相似度均大于0.9。结论 本研究可为虎眼万年青质量控制提供依据。

关键词: 虎眼万年青; 质量标准; 指纹图谱

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)05-1622-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.05.033

虎眼万年青为百合科虎眼万年青 *Ornithogalum caudatum* Jacq 的干燥全草^[1], 上世纪80年代由朝鲜引入我国, 成为我国东北地区广泛的家庭观赏植物, 在长白朝鲜族自治县有悠久的栽培历史, 现已规模化种植、生产并应用, 但历代本草未见记载^[2]。虎眼万年青味甘、性微寒, 归肝、脾经, 具有清热解毒、消坚散结等功效^[3]。研究发现, 虎眼万年青中主要含有多糖类、皂苷类、黄酮类、生物碱类、萜类等化学成分^[4-7]; 现代药理学研究表明, 其总皂苷具有对抗肝硬化、抗癌变、抗氧化等作用^[8-11], 其多糖具有免疫调节作用, 其乙醇提取物具有抗炎镇痛、降低血糖^[12]等作用。

目前, 已开发出虎眼万年青茶、虎眼万年青颗粒及口服液^[13], 以虎眼万年青为君药的抗肿瘤新药“复方万年青胶囊”对多种癌症具有显著疗效^[14], 是具有广阔开发前景的特色药材, 但缺少相应的质量控制标准。因此, 本研究对其鉴别项、常规检测项、多糖含量等进行系统研究, 并建立HPLC指纹图谱, 以期为该药材质量控制和标准的建立提供参考。

1 材料

1.1 仪器 LC-2030型高效液相色谱仪(日本岛津公司); UV-2450型紫外分光光度计(上海谱元仪器有限公司); CX43型生物显微镜(日本Olympus公司); AB2665S型电子分析天平(十万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司); Q-250型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 β-谷甾醇(批号D07N11S130277)、岩白菜素(批号100081-201610)、儿茶素(批号

P02A9F57645)、芦丁(批号D13HB202516)对照品纯度均大于98%, 均购自上海源叶生物科技有限公司; D-无水葡萄糖对照品(批号110833-202109), 纯度>98%, 购自中国食品药品检定研究院。无水乙醇、三氯甲烷、丙酮均购自广东光华科技股份有限公司, 均为分析纯; 正丁醇、甲醇、乙酸乙酯、环己烷、石油醚均购自成都市科隆化学有限公司, 均为分析纯; 磷酸购自天津福晨化学试剂有限公司, 为色谱纯; 乙腈购自美国Fisher公司, 为色谱纯; 水为超纯水。

12批虎眼万年青经长春中医药大学翁丽丽教授鉴定为百合科虎眼万年青属植物虎眼万年青 *Ornithogalum caudatum* Jacq 的新鲜全草, 具体见表1。药材洗净, 沥干水分, 茎叶和须根切10~15 mm的段, 鳞茎切4~6 mm的片, 分别干燥, 混匀。

表1 药材信息

| 编号 | 批号 | 采集地 |
|-----|------------|-----------------|
| S1 | 20210911-1 | 吉林省长白县八道沟镇九道沟村 |
| S2 | 20211012 | 吉林省长白县十四道沟镇安乐村 |
| S3 | 20210921 | 吉林省长白县八道沟镇大蛤蟆村 |
| S4 | 20211013 | 吉林省长白县八道沟镇九道沟村 |
| S5 | 20210914-3 | 吉林省长白县八道沟镇九道沟村 |
| S6 | 20210914-1 | 吉林省长白县八道沟镇九道沟村 |
| S7 | 20210914-2 | 吉林省长白县八道沟镇大蛤蟆川村 |
| S8 | 20210924-2 | 吉林省长白县十二道沟村 |
| S9 | 20210914-4 | 吉林省长白县十四道沟镇安乐村 |
| S10 | 20211011 | 吉林省长白县十二道沟村 |
| S11 | 20210911-2 | 吉林省长白县八道沟镇九道沟村 |
| S12 | 20210924-1 | 吉林省长白县十二道沟村 |

收稿日期: 2023-12-21

基金项目: 吉林省药品监督管理局中药材标准修订项目(JLYC-2021-029)

作者简介: 朱正华(1999—), 男, 硕士生, 研究方向为中药炮制关键技术及科学内涵。Tel: 17790071597

*通信作者: 张啸环(1969—), 女, 硕士, 教授, 研究方向为中药炮制关键技术及科学内涵研究。E-mail: 619787310@qq.com

2 方法与结果

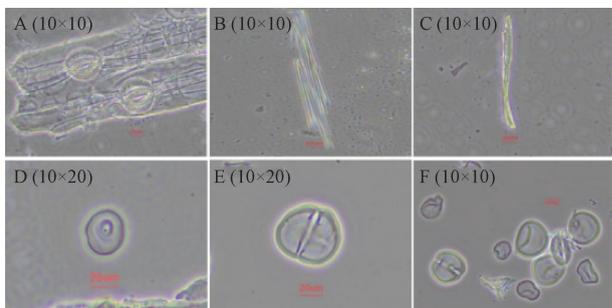
2.1 基原鉴别 虎眼万年青为多年生草本植物。根呈须状，白色。鳞茎卵球形，表面光滑，绿色，具膜质鳞茎皮，直径可达10 cm。叶基生，常绿，5~6枚，带状或长条状披针形，长30~60 cm，宽2~5 cm，端部尾状长尖，常绿，近革质^[15]。

2.2 性状鉴别 本品须根呈极细段状，灰黄色，少见。鳞茎呈片状或丝状，黄白色至黄绿色，厚2~4 mm。叶呈不规则段状，绿色或黄绿色，纵向纹理清晰，长10~15 mm。气微，味甘。见图1。



图1 虎眼万年青性状图

2.3 粉末显微鉴别 本品粉末呈黄绿色至棕黄色。气孔圆形或椭圆形，直径30~50 μm，副卫细胞4个，长梭形，多破碎。草酸钙针晶成束，多碎断，长50~350 μm。淀粉粒多成群，圆球形或长圆形，直径8~30 μm，脐点点状、人字状、裂缝状，层纹明显。纤维长条状^[16]，宽18~30 μm。见图2。



注：A为气孔，B为针晶束，C为纤维，D~F为淀粉粒。

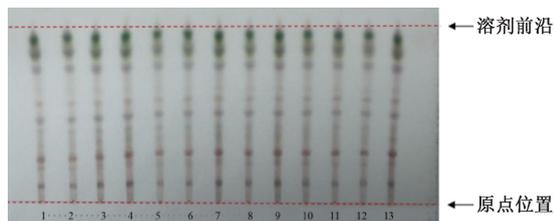
图2 虎眼万年青粉末显微鉴别图

2.4 薄层鉴别

2.4.1 皂苷类成分 参考2020年版《中国药典》一部“人参”^[17]项下皂苷成分鉴别方法，精密称取药材粉末1 g，加20 mL石油醚，静置2 h，过滤，残渣挥干溶剂，加10 mL水饱和正丁醇，超声提取30 min，取上清液于分液漏斗中，加20 mL氨试液洗涤，取正丁醇层，蒸干，残渣加1 mL甲醇溶解，作为供试品溶液。另取虎眼万年青对照药材，按相同方法制成对照药材溶液。

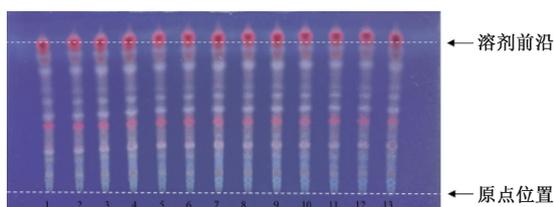
吸取上述溶液各4 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(6:16:7:4)10℃

以下放置的下层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷10%硫酸乙醇溶液，在105℃下加热至斑点显色清晰，分别在日光及紫外光灯(365 nm)下检视。结果，供试品与对照药材在相同位置上出现相同颜色的荧光斑点，见图3~4。



注：7为虎眼万年青对照药材，1~6、8~13为12批药材。

图3 皂苷类成分薄层鉴别色谱图(日光)

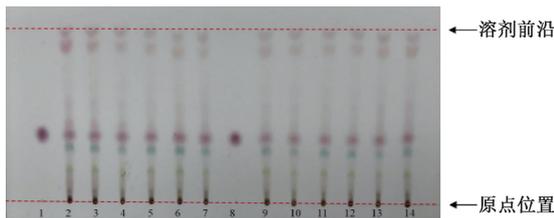


注：7为虎眼万年青对照药材，1~6、8~13为12批药材。

图4 皂苷类成分薄层色谱鉴别色谱图(紫外灯)

2.4.2 β-谷甾醇 精密称取药材粉末1 g至锥形瓶中，加20 mL乙醇超声提取30 min，取上清液蒸干，残渣加1 mL三氯甲烷溶解，作为供试品溶液。另取β-谷甾醇对照品，加三氯甲烷制成每1 mL含2 mg该成分的对照品溶液。

吸取上述溶液各4 μL，分别点于同一硅胶G薄层板上，以环己烷-丙酮(6:1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷10%硫酸乙醇溶液，在105℃下加热至斑点显色清晰，置日光下检视。结果，供试品与对照药品在相同位置上出现相同颜色的斑点，见图5。



注：1、8为β-谷甾醇对照品，2~7、8~13为12批药材。

图5 β-谷甾醇薄层鉴别色谱图

2.5 水分、总灰分、酸不溶性灰分测定 参照2020年版《中国药典》四部通则“0832”项下烘干法测定水分，“2302”项下方法测定总灰分以及酸不溶性灰分，结果见表2。由此可知，12批药材水分为8.20%~12.79%，平均值为10.37%，上调20%为12.44%，故规定不得超过13.0%；总灰分为8.24%~13.21%，平均值为9.57%，上调20%为11.48%，故规定不得过12.0%；酸不溶性灰分为0.27%~1.89%，平均值为0.94%，上调20%为1.13%，故规定不得超过2.0%。

表2 水分、总灰分、酸不溶性灰分测定结果

| 编号 | 批号 | 水分/% | 总灰分/% | 酸不溶性灰分/% |
|-----|------------|-------|-------|----------|
| S1 | 20210911-1 | 9.60 | 8.24 | 1.46 |
| S2 | 20211012 | 8.53 | 8.73 | 1.95 |
| S3 | 20210921 | 12.12 | 11.28 | 0.32 |
| S4 | 20211013 | 7.64 | 8.80 | 0.87 |
| S5 | 20210914-3 | 9.61 | 8.96 | 0.29 |
| S6 | 20210914-1 | 12.79 | 13.21 | 1.22 |
| S7 | 20210914-2 | 10.06 | 9.44 | 0.36 |
| S8 | 20210924-2 | 12.10 | 8.57 | 1.89 |
| S9 | 20210914-4 | 10.15 | 9.47 | 0.72 |
| S10 | 20211011 | 8.20 | 8.32 | 0.89 |
| S11 | 20210911-2 | 11.96 | 9.66 | 0.88 |
| S12 | 20210924-1 | 11.69 | 10.17 | 0.27 |
| 平均值 | | 10.37 | 9.57 | 0.94 |

2.6 浸出物测定 精密称取药材粉末2 g,加60%乙醇100 mL,按照2020年版《中国药典》四部通则“2201 浸出物测定法”项下热浸法进行测定,结果见表3。由此可知,12批药材醇溶性浸出物为37.82%~44.19%,平均值为40.96%,下调20%为32.77%,考虑收集的药材样品有限,故规定不得少于30%。

表3 浸出物测定结果

| 编号 | 批号 | 浸出物/% | 平均值/% |
|-----|------------|-------|-------|
| S1 | 20210911-1 | 41.24 | 40.96 |
| S2 | 20211012 | 42.00 | |
| S3 | 20210921 | 41.21 | |
| S4 | 20211013 | 41.45 | |
| S5 | 20210914-3 | 38.23 | |
| S6 | 20210914-1 | 41.07 | |
| S7 | 20210914-2 | 40.58 | |
| S8 | 20210924-2 | 37.82 | |
| S9 | 20210914-4 | 40.13 | |
| S10 | 20211011 | 43.11 | |
| S11 | 20210911-2 | 40.54 | |
| S12 | 20210924-1 | 44.19 | |

2.7 多糖含量测定

2.7.1 对照品溶液制备 精密称取D-无水葡萄糖对照品适量,加水制成质量浓度为1.015 4 mg/mL的溶液,即得。

2.7.2 供试品溶液制备 精密称取药材粉末1 g,加50 mL蒸馏水,称定质量,浸泡1 h,加热回流3 h,取出并冷却至室温,加水补足减失的质量,过滤,取续滤液,即得。

2.7.3 还原糖、总糖供试品溶液制备 精密量取“2.7.2”项下供试品溶液2 mL,置于25 mL量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,即得还原糖供试品溶液;精密量取“2.7.2”项下供试品溶液2 mL,置于25 mL量瓶中,加10 mL 3 mol/L盐酸,在沸水浴中加热30 min,取出,冷却,加1滴酚酞指示液,用饱和氢氧化钠溶液调至近红色,再滴加氢氧化钠溶液(1→20)呈红色,加水定容至刻度,摇匀,即得总糖供试品溶液。

2.7.4 测定方法 精密量取“2.7.3”项下还原糖、总糖

供试品溶液各2 mL,置于25 mL量瓶中,分别精密加入1.5 mL 3,5-二硝基水杨酸溶液混匀,在沸水浴中加热5 min,立即冷却至室温,用水稀释至刻度,摇匀,测定吸光度,计算含量,两者之差即为多糖含量。

2.7.5 检测波长的确定 参考文献[18]方法,精密量取对照品溶液、蒸馏水各1.0 mL,置于25 mL具塞试管中,分别加入2 mL DNS试剂,摇匀,沸水浴5 min,立即冷却,加蒸馏水至25 mL,将葡萄糖显色液+蒸馏水(空白)、DNS试剂+蒸馏水(空白)、葡萄糖显色液+DNS试剂(空白)分别在360~600 nm波长范围内进行扫描。

结果,当波长为490 nm时葡萄糖显色液+DNS试剂的吸光度最大,但DNS试剂同样有很高的吸收,且显色过程中部分DNS试剂会与待测液中还原糖发生反应,消耗一部分DNS试剂,使作为空白参照的溶液中DNS试剂含量大于葡萄糖显色液中DNS试剂含量,从而造成测定吸光度时实际检测结果低于真实值,所以不应选择最大吸收波长作为最佳工作波长。根据紫外分光光度法测定波长选择原则,DNS显色剂+蒸馏水的吸光度随波长增长,逐渐下降在波长为520 nm时吸光度逐渐趋近于0,故最终确定测定波长为520 nm。

2.7.6 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,置于25 mL量瓶中,加水补足至2.0 mL,精密加入2 mL 3,5-二硝基水杨酸溶液,混匀,在沸水浴中加热5 min,立即冷却至室温,加水稀释至刻度,摇匀;另精密量取水2.0 mL,置于25 mL量瓶中,同法操作,作为对照品空白溶液。按照2020年版《中国药典》四部通则“0401”项下紫外-可见分光光度法,在520 nm波长处测定吸光度,以质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(A)进行回归,得方程 $A = 0.0188X + 0.0099$ ($R^2 = 0.9995$),线性范围为8.123~48.73 μg/mL。

2.7.7 精密度试验 精密称取药材粉末(批号20211013)1 g,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,在520 nm波长处测定吸光度6次,测得其RSD为0.21%,表明仪器精密度良好。

2.7.8 稳定性试验 精密称取药材粉末(批号20211013)1 g,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,于0、20、40、60、80、100 min在520 nm波长处测定吸光度,测得其RSD为0.70%,表明溶液在2 h内稳定性良好。

2.7.9 重复性试验 精密称取药材粉末(批号20211013)6份,每份1 g,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,在520 nm波长处测定吸光度,测得多糖含量RSD为2.65%,表明该方法重复性良好。

2.7.10 加样回收率试验 精密称取药材粉末(批号20211013)6份,每份0.5 g,分别精密加入无水葡萄糖对照品87.62、88.02、87.81、87.69、87.57、87.43 mg,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,在520 nm波长处测定吸光度,结果见表4。由此可知,平均加样回收率为100.17%。

表4 多糖加样回收率试验结果 (n=6)

| 取样量/ g | 原有量/ mg | 加入量/ mg | 测得量/ mg | 回收率/ % | RSD/ % |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
| 0.503 0 | 87.54 | 87.62 | 174.83 | 99.81 | 1.2 |
| 0.505 3 | 88.43 | 88.02 | 177.07 | 100.35 | |
| 0.504 1 | 87.91 | 87.81 | 179.90 | 102.37 | |
| 0.503 4 | 87.83 | 87.69 | 173.66 | 98.94 | |
| 0.502 7 | 87.62 | 87.57 | 174.08 | 99.36 | |
| 0.501 9 | 87.52 | 87.43 | 175.32 | 100.21 | |

2.7.11 样品含量测定 精密量取药材粉末1 g,按“2.7.2”项下方法制备供试品溶液,在520 nm波长处测定吸光度并计算多糖含量,结果见表5。由此可知,12批药材多糖含量平均值的80%为11.49%,考虑到收集的药材有限,故规定不得少于10%。

表5 多糖含量测定结果

| 编号 | 批号 | 吸光度 | 多糖含量/% | 平均值/% |
|-----|------------|-------|--------|-------|
| S1 | 20210911-1 | 0.274 | 11.70 | 14.36 |
| S2 | 20211012 | 0.428 | 18.00 | |
| S3 | 20210921 | 0.324 | 13.83 | |
| S4 | 20211013 | 0.387 | 16.30 | |
| S5 | 20210914-3 | 0.329 | 13.99 | |
| S6 | 20210914-1 | 0.349 | 14.81 | |
| S7 | 20210914-2 | 0.361 | 15.31 | |
| S8 | 20210924-2 | 0.265 | 11.33 | |
| S9 | 20210914-4 | 0.317 | 12.85 | |
| S10 | 20211011 | 0.421 | 17.83 | |
| S11 | 20210911-2 | 0.342 | 14.54 | |
| S12 | 20210924-1 | 0.276 | 11.84 | |

2.8 指纹图谱建立

2.8.1 对照品溶液制备 精密称取岩白菜素、儿茶素、芦丁对照品适量,置于同一10 mL量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,使其质量浓度分别为40、163、77 ug/mL,即得。

2.8.2 供试品溶液制备 参考文献[19]方法,精密称取药材粉末1 g,置于具塞锥形瓶中,加25 mL 70%甲醇,称定质量,超声提取20 min,放冷,70%甲醇补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,过0.45 μm微孔滤膜,即得。

2.8.3 色谱条件 Waters XBridge C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相乙腈(A)-0.2%磷酸,梯度洗脱(0~35 min, 4%~6% A; 35~65 min, 6%~7% A; 65~115 min, 7%~21% A);体积流量0.7 mL/min;柱温30 ℃;检测波长276 nm;进样量10 μL。

2.8.4 方法学考察

(1) 精密度试验:精密称取药材粉末(编号S3)1 g,按“2.8.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.8.3”项色谱条件下进样测定6次。以岩白菜素为参照峰,测得各峰相对保留时间、相对峰面积RSD均小于3%,表明仪器精密密度良好。

(2) 重复性试验:精密称取药材粉末(编号S3)6份,每份1 g,按“2.8.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.8.3”项色谱条件下进样测定。以岩白菜素为参照峰,

测得各峰相对保留时间、相对峰面积RSD均小于3%,表明该方法重复性良好。

(3) 稳定性试验:精密称取药材粉末(编号S3)1 g,按“2.8.2”项下方法制备供试品溶液,于0、2、4、8、12、24 h在“2.8.3”项色谱条件下进样测定。以岩白菜素为参照峰,测得各峰相对保留时间、相对峰面积RSD均小于3%,表明溶液在24 h内稳定性良好。

2.8.5 图谱生成 取12批药材粉末,按“2.8.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.8.3”项色谱条件下进样测定,将色谱图导入2012年版“中药色谱指纹图谱相似度评价”系统中,将S1样品设置为参照图谱,选择中位数法,时间窗宽度为0.1 min,经多点校正后,以MARK峰进行色谱峰匹配,并生成对照图谱(R),共标定15个共有峰^[20],见图6,其中7号峰为岩白菜素,9号峰为儿茶素,14号峰为芦丁(图7)。以对照图谱为参照进行相似度评价,结果见表6,可知均大于0.920,说明不同批次药材共有峰相似度较高,质量均一。

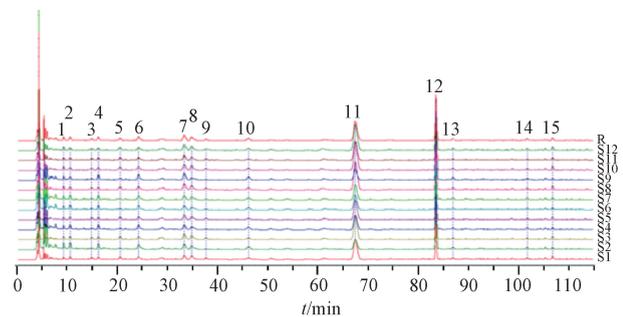
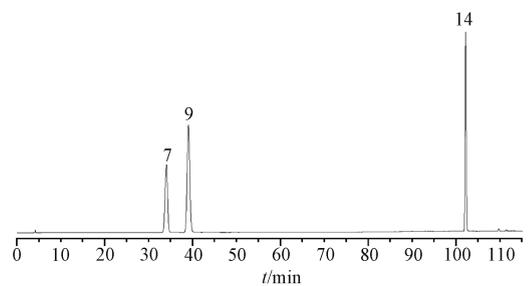


图6 12批虎眼万年青HPLC指纹图谱



7. 岩白菜素 9. 儿茶素 14. 芦丁

图7 对照品HPLC色谱图

表6 相似度测定结果

| 编号 | 相似度 | 编号 | 相似度 |
|----|-------|-----|-------|
| S1 | 0.925 | S7 | 0.994 |
| S2 | 0.995 | S8 | 0.994 |
| S3 | 0.920 | S9 | 0.990 |
| S4 | 0.991 | S10 | 0.996 |
| S5 | 0.996 | S11 | 0.996 |
| S6 | 0.993 | S12 | 0.994 |

2.8.6 聚类分析 将15个共有峰峰面积导入SPSS 26.0软件进行聚类分析,数据标准化后采用组间连接法,以Euclidean作为距离计算公式^[21],结果见图8。由此可知,

当欧式距离为15时分为3类,即S1、S3-7、S11(八道沟镇九道沟村和八道沟镇大蛤蟆村)聚为一类,说明九道沟村与大蛤蟆村药材质量接近;S2、S9(安乐村)聚为一类;S8、S10、S12(十二道沟村)聚为一类。

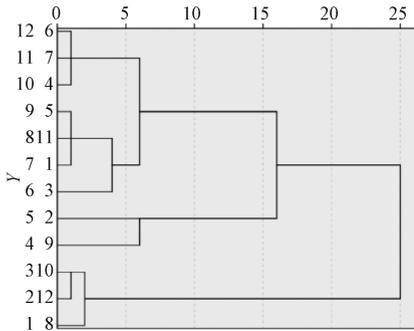


图8 聚类分析图

3 讨论

3.1 薄层鉴别 根据文献报道可知,虎眼万年青中含有多皂苷类成分,且具有很好的抗肿瘤效果,故对其皂苷类成分进行鉴别。目前,虎眼万年青皂苷合成较为困难,所以采用对照药材进行对照。由于药材的叶绿素含量较高,进行色谱鉴别时存在干扰,故先用石油醚进行脱色处理,并考察了展开剂比例,结果当展开剂为三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(6:16:7:4)时 R_f 值适中,分离度良好。 β -谷甾醇的鉴别比较了不同比例的展开系统,发现当环己烷-丙酮(6:1)时, R_f 值适中,分离度良好。

3.2 浸出物 由于药材粉末蓬松,加入50 mL溶剂后过滤缓慢,操作困难。所以规定,浸出物测定方法为取药材粉末2 g,加100 mL 60%乙醇。

3.3 含量测定 制备供试品溶液时,考察了料液比、浸泡时间、回流时间。结果,当料液比1:50、浸泡时间1 h、回流2 h时易于操作,且多糖提取完全。

3.4 指纹图谱建立 分别考察了甲醇-0.4%磷酸、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.2%磷酸、乙腈-0.1%磷酸4种流动相系统,发现当采用乙腈-0.2%磷酸洗脱时色谱峰峰形、分离度较好,此外还分别对不同检测波长进行考察,结果在276 nm处得到的谱图效果最佳。在考察提取条件时,分别对提取溶剂、提取时间进行考察,结果采用70%甲醇提取20 min时结果最佳。由于虎眼万年青喜凉爽、半阴、湿润环境,而产地长白县属于山区沟壑地带,存在向阳面和背阴面差异,导致药材生长的环境不同,故不同地区的药材具有一定的差异性。

4 结论

本研究按照2020年版《中国药典》相关要求,对虎眼万年青质量控制方法进行研究,建立了定性鉴别方法和总多糖含量测定方法,并对各检查项的限度进行了规定,上述方法操作简便,准确可靠,同时建立了指纹图谱,可为其质量标准的制定提供参考依据。

参考文献:

[1] 吉林省药品监督管理局. 吉林省中药材标准(第一册,

2019年版)[S]. 长春:吉林科学技术出版社, 2019: 176.

[2] 邹翔,曲中原,朱世儒,等.虎眼万年青生药学研究[J].哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2019,35(5): 515-518.

[3] 李心冬,高陆.虎眼万年青化学成分与药理作用研究进展[J].亚太传统医药,2016,12(22): 52-54.

[4] 牛莉,刘莹,关悦.虎眼万年青化学成分研究[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(96): 172.

[5] Chen Q W, Gong T, Zhang P C, et al. Seven new 1-oxygenated cholestane glycosides from *Ornithogalum saundersiae* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2020, 22(3): 201-216.

[6] Chen Q W, Zhang X, Gong T, et al. Structure and bioactivity of cholestane glycosides from the bulbs of *Ornithogalum saundersiae* Baker [J]. *Phytochemistry*, 2019, 164: 206-214.

[7] Kubo S, Mimaki Y, Terao M, et al. New polyhydroxylated cholestane glycosides from the bulbs of *Ornithogalum saundersiae* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(11): 3969-3973.

[8] 邹翔,周林,张月,等.虎眼万年青总皂苷诱导人乳腺癌MCF-7细胞凋亡机制研究[J].天然产物研究与开发,2020,32(1): 32-39.

[9] 刘哲.虎眼万年青总皂苷对结肠癌细胞自噬及凋亡的影响及相关机制研究[D].大连:大连医科大学,2018.

[10] 曲中原,石鑫,邹翔,等.虎眼万年青总皂苷诱导肝癌HepG-2细胞凋亡的机制研究[J].中药材,2016,39(4): 867-871.

[11] Kentaro O, Hibiki N, Hirota O, et al. Elucidation of OSW-1-induced stress responses in neuro2a cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5787.

[12] 秦月,闫静,林嘉娣,等.虎眼万年青多糖降血糖作用的研究[J].现代生物医学进展,2018,18(8): 1453-1456; 1462.

[13] 李明.虎眼万年青皂苷提取工艺研究及其口服液的研制[J].食品工业科技,2010,31(5): 226-228; 330.

[14] 佟志军,杨磊,王安波,等.用薄层方法系统鉴别复方虎眼万年青胶囊中丹参药材[J].内蒙古中医药,2015,34(2): 109-110.

[15] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1993.

[16] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴(第5册)[M].北京:科学出版社,1987: 464.

[17] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020: 8.

[18] 王鹏亭,赵宗杰,周荣灵,等.3,5-二硝基水杨酸法测定樟芝中多糖的含量[J].食品研究与开发,2016,37(9): 163-167.

[19] 张洪涛,张静,孟灵旭,等.金樱子盐炙工艺及其盐炙前后HPLC指纹图谱与色度值研究[J].中国药房,2022,33(7): 861-866.

[20] 杜倩倩,张铁军,谢冬梅,等.基于指纹图谱结合化学模式识别法对不同种质白芍质量评价[J].中草药,2023,54(10): 3292-3301.

[21] 黎廷楷,邹娟,赵旭萍,等.大蝎子草质量标准及指纹图谱研究[J].中成药,2023,45(9): 2959-2965.