

本文引用:张韞玉,张思敏,刘平安,黄姗姗,张楚洁,胡金芳,刘慧萍,肖小芹.补肾活血方中马钱苷、莫诺苷、芍药苷含量测定及其对免疫性卵巢早衰小鼠的影响[J].湖南中医药大学学报,2020,40(5):540-545.

## 补肾活血方中马钱苷、莫诺苷、芍药苷含量测定及其对免疫性卵巢早衰小鼠的影响

张韞玉<sup>1</sup>,张思敏<sup>2</sup>,刘平安<sup>2</sup>,黄姗姗<sup>1</sup>,张楚洁<sup>1</sup>,胡金芳<sup>1</sup>,刘慧萍<sup>1\*</sup>,肖小芹<sup>1\*</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南长沙410208;2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007)

**〔摘要〕**目的 研究补肾活血方中马钱苷、莫诺苷、芍药苷含量测定方法及其对免疫性卵巢早衰小鼠激素血清卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone,FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone,LH)、雌二醇(estradiol,E<sub>2</sub>)水平的影响。方法 (1)采用HPLC,色谱柱Hypersil ODS C<sub>18</sub>柱(200 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)梯度洗脱,柱温30℃,流速为1.0 mL/min,进样量10 μL,测定补肾活血方中马钱苷、莫诺苷、芍药苷含量;(2)以小鼠透明带3为抗原,皮下多点注射BALB/c雌性小鼠,建立免疫性卵巢早衰模型,分别用补肾活血方、马钱苷、莫诺苷、芍药苷进行干预,并设空白组、模型组为对照,酶联免疫吸附法测定各组FSH、LH、E<sub>2</sub>含量。结果 (1)马钱苷、莫诺苷、芍药苷的线性范围分别在58~1 160 μg(r=1.000 0)、203~4 070 μg(r=0.999 8)及117~2 340 μg(r=0.999 4)内,线性关系良好;这3种成分的平均加样回收率分别为98.6%、98.0%、98.8%,RSD分别为2.18%、1.28%、1.77%;在补肾活血方中按生药量计算,莫诺苷、马钱苷、芍药苷的平均含量分别为(4.612±0.057) mg/g、(1.286±0.014) mg/g、(3.065±0.022) mg/g。(2)与空白组比较,模型组E<sub>2</sub>水平显著降低(P<0.01),FSH和LH的水平均明显升高(P<0.01);与模型组比较,补肾活血方组、马钱苷组、莫诺苷组E<sub>2</sub>水平均显著升高(P<0.01),FSH和LH的水平均显著降低(P<0.01),芍药苷组E<sub>2</sub>水平显著升高(P<0.01),LH的水平显著降低(P<0.01),FSH水平降低(P<0.05)。结论 所建立的HPLC简便、灵敏、准确,可用于补肾活血方中莫诺苷、马钱苷、芍药苷的含量测定;马钱苷、莫诺苷、芍药苷为补肾活血方中可能的药效物质。

**〔关键词〕** 补肾活血方;马钱苷;莫诺苷;芍药苷;高效液相色谱法;含量测定;卵巢早衰;激素水平

**〔中图分类号〕** R284.1;R285.5

**〔文献标志码〕** A

**〔文章编号〕** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.05.006

### Contents Determination of Logenin, Morroniside and Paeoniflorin in Bushen Huoxue Formula and Its Effect on Mice with Immune Premature Ovarian Failure

ZHANG Yunyu<sup>1</sup>, ZHANG Simin<sup>2</sup>, LIU Ping'an<sup>2</sup>, HUANG Shanshan<sup>1</sup>, ZHANG Chujie<sup>1</sup>,

HU Jinfang<sup>1</sup>, LIU Huiping<sup>1\*</sup>, XIAO Xiaoqin<sup>1\*</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

**〔Abstract〕 Objective** To study a quantitative determination method of logenin, morroniside and paeoniflorin, and its effect on the level of follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E<sub>2</sub>) in mice with immune premature ovarian

**〔收稿日期〕** 2019-11-25

**〔基金项目〕** 国家自然科学基金项目(81303123);湖南省自然科学基金项目(2018JJ2299);湖南省中医药科研计划项目重点项目(201801,201815);湖南省教育厅创新平台开放基金项目(18K069);国家级大学生创新项目(201810541001);湖南省大学生研究性学习与创新性实验项目(S201910541013);湖南中医药大学中西医结合一流学科开放基金(2018ZXYJH24);湖南中医药大学校级研究生创新课题(2018CX30);中医药研究转化医学湖南省重点实验室资助。

**〔作者简介〕** 张韞玉,女,在读硕士研究生,研究方向:女性内分泌疾病中医药防治研究。

**〔通讯作者〕** \*刘慧萍,女,博士,教授,硕士研究生导师,E-mail:1074983953@qq.com;肖小芹,男,博士,教授,硕士研究生导师,E-mail:770362184@qq.com。

failure. **Methods** HPLC procedure was performed on the chromatographic column of Hypersil ODS C<sub>18</sub> (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) at 30 °C. The mobile phase was acetonitrile (A)-0.1% phosphoric acid solution (B) in gradient elution at flow rate of 1.0 mL/min and sample size was 10 μL to determine the content of loganin, morroniside and paeoniflorin in Bushen Huoxue Formula; Mice ZP3 as antigen was injected subcutaneously into Balb/c female mice to establish a model of immune premature ovarian failure. Bushen Huoxue Formula, loganin, morroniside and paeoniflorin were used for the intervention, and the blank group and the model group were set as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine the contents of FSH, LH, E<sub>2</sub>. **Results** The linear ranges of loganin, morroniside and paeoniflorin were 58~1 160 μg ( $r=1.000\ 0$ ), 203~4 070 μg ( $r=0.999\ 8$ ) and 117~2 340 μg ( $r=0.999\ 4$ ), respectively, and the linear relationship was good. The average recoveries of the 3 components were 98.6% (RSD=2.18%), 98.0% (RSD=1.28%), 98.8% (RSD=1.77%); the average contents of morroniside, loganin and paeoniflorin were (4.612±0.057), (1.286±0.014) and (3.065±0.022) mg/g, respectively based on the crude drug quantity in Bushen Huoxue Formula; Compared with the blank group, the E<sub>2</sub> level in the model group was significantly decreased ( $P<0.01$ ), while the FSH and LH levels were significantly increased ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, the E<sub>2</sub> level of the Bushen Huoxue Formula group was significantly increased ( $P<0.01$ ), and the levels of FSH and LH were significantly decreased ( $P<0.01$ ). The E<sub>2</sub> level of the paeoniflorin group was significantly increased ( $P<0.01$ ). The level of LH was significantly decreased ( $P<0.01$ ), and the level of FSH was significantly decreased ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The method is simple, sensitive and accurate, which can be used for the quantitative determination of morroniside, loganin and paeoniflorin in Bushen Huoxue Formula. Loganin, morroniside and paeoniflorin are possible pharmacodynamic substance in Bushen Huoxue Formula.

[**Keywords**] Bushen Huoxue Formula; loganin; morroniside; paeoniflorin; HPLC; content determination; premature ovarian failure; hormone level

卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)是指月经初潮年龄正常或延迟且第二性征发育正常的女性,在40岁之前出现围绝经期综合征等症状,持续6个月以上闭经,生殖器官萎缩,性功能降低甚至不孕,卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和黄体生成素(luteinizing hormone, LH)水平升高、雌二醇(estradiol, E<sub>2</sub>)水平降低的一种妇科内分泌疾病<sup>[1]</sup>。卵巢早衰归属于中医学“闭经”“不孕”“血枯”等范畴,是以肾虚为主,兼瘀血阻络的妇科临床疑难病症。

补肾活血方由国家第四批名老中医药专家尤昭玲教授经长期临床实践,根据补肾活血法将左归丸化裁而来。该方由山茱萸、熟地黄、黄精、白芍、当归、川芎、丹参、桃仁、枸杞九味药组成,主治肾虚血瘀型卵巢早衰。本课题组近年来对补肾活血方进行的动物、细胞实验发现:该方通过上调卵巢颗粒细胞同源二聚体调控基因 Bcl-2/Bax 蛋白的表达,有效抑制抗透明带抗体,从而减少卵泡闭锁,降低卵泡耗竭速度,改善免疫性 POF 模型小鼠免疫状态<sup>[2]</sup>;通过下调自杀相关因子及其配体基因的表达,改善激素分泌水平,促进成熟卵泡发育、卵泡颗粒细胞的生殖分化<sup>[3]</sup>;该方能促使成熟卵泡增加、原始卵泡和大量初级卵泡的形成,其改善卵巢功能的机制可能与

上调颗粒细胞 PI3K、Akt、Bcl-2 的蛋白表达有关<sup>[4]</sup>;能明显促进免疫性 POF 小鼠 TGF-β1/Smads 信号通路的传导,进而促进窦前卵泡生长、颗粒细胞的增殖和分化<sup>[5]</sup>。

通过对补肾活血方相关成分进行分析,发现方中君药山茱萸能滋阴益血、补肾填精,其中有机酸及其酯类和环烯醚萜苷类是主要活性成分。环烯醚萜苷类主要有马鞭草苷、马钱苷、獐牙菜苷、莫诺苷、山茱萸新苷等<sup>[3-9]</sup>。有研究表明<sup>[10-12]</sup>,莫诺苷和马钱苷通过抑制细胞内 Caspase-9 和 Caspase-3 因子表达,增加 Bcl-2/Bax 蛋白比值,进而抑制细胞凋亡,延长细胞存活,同时促进细胞再生,抑制细胞氧化损伤。这与前期本课题组对该方的作用机制研究结果相符,而本方由左归丸化裁而来,山茱萸中的莫诺苷、马钱苷也常作为左归丸的质量检测主要成分<sup>[13-15]</sup>,已被 2015 年版《中华人民共和国药典》列为山茱萸的指标性成分,并对其含量作出明确规定<sup>[16]</sup>。白芍具有养血调经,柔肝止痛,敛阴止汗,平抑肝阳之功效,在此方中用量重,突出其在本方中的养血活血之效。现代研究报道<sup>[17]</sup>芍药苷是白芍的主要有效成分。芍药苷能影响雌激素合成素的分泌水平,使 E<sub>2</sub> 的分泌量明显增加,对排卵现象、不孕症、女性生殖系统疾病

有显著的治疗作用<sup>[18-19]</sup>。

补肾活血方因药味较多且成分复杂,具有多种药理作用,因此,本课题组通过前期机制研究与文献查阅,拟以补肾活血方中马钱苷、莫诺苷、芍药苷为研究对象,测定含量,再用马钱苷、莫诺苷、芍药苷干预卵巢早衰模型小鼠,研究其对卵巢早衰的疗效,并以临床作为卵巢早衰诊断标准的FSH、LH、E<sub>2</sub>为评价指标,观察激素水平变化,为研究补肾活血方药效物质基础提供新的思路。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪,美国Agilent公司;RE52AA 系列旋转蒸发器,上海雅荣生化仪器设备有限公司;CP114 型电子精密天平,奥豪斯仪器有限公司;Axioplan 2 imaging E 生物显微镜,ZEISS 公司;Spark20M 多功能微孔板酶标仪,TECAN 公司。

### 1.2 试药

对照品莫诺苷(批号:111998-201703,质量分数974%)、马钱苷(批号:110640-201707,质量分数99.0%)、芍药苷(批号:110736-201842,质量分数97.4%),均为中国食品药品检定研究院提供;乙腈、甲醇为色谱纯,湖南汇虹试剂有限公司提供;补肾活血方饮片(批号:20180830、20181218、20190215、20190910)由湖南中医药大学第一附属医院提供;小鼠透明带多肽溶液:小鼠透明带3(ZP3)第330~342个氨基酸序列(NSSSSQFQIHGPR),分析纯度>90%,杭州中肽生化有限公司;弗氏完全佐剂与弗氏不完全佐剂,美国Sigma公司;FSH、LH、E<sub>2</sub>酶联免疫试剂盒,上海晶天生物科技有限公司,批号:20190824。

### 1.3 动物

选取8周龄,体质量18~22 g的SPF级雌性BALB/c小鼠36只,由湖南中医药大学实验动物中心提供,动物许可证:SCXK(湘)2016-0002,均经阴道脱落细胞涂片筛查动情周期正常。屏障环境饲养,室温20~25℃,相对湿度50%~70%,自由进食饲料饮水。

## 2 方法与结果

### 2.1 HPLC 测定补肾活血方中马钱苷、莫诺苷、芍药苷含量

2.1.1 色谱条件 色谱柱 Hypersil ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(200 mm×4.6 mm,5 μm);流速:1.0 mL/min;检测波

长:237 nm;流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)梯度洗脱 0~5 min 95%~92% A;5~25 min 92%~85% A;25~35 min 85%~80% A;进样量:10 μL;柱温:30℃。

2.1.2 对照品溶液制备 分别精密称取莫诺苷4.07 mg、马钱苷1.16 mg、芍药苷2.34 mg,加甲醇-水(1:1)溶解定容至10 mL,0.45 μm 滤膜滤过,制成混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液制备 称取补肾活血方(熟地黄15 g,黄精12 g,枸杞子12 g,山茱萸12 g,当归15 g,川芎9 g,白芍12 g,丹参12 g,桃仁9 g)饮片于圆底烧瓶内,加水回流提取2次,浓缩至0.0864 g/mL备用。

2.1.4 阴性对照试验 分别精密吸取混合对照品、补肾活血方(全方)对照品、补肾活血方(缺山茱萸)阴性对照品溶液和补肾活血方(缺白芍)阴性对照品溶液各10 μL,按“2.1.3”法制备。结果显示缺山茱萸阴性对照和缺白芍阴性对照在色谱上无干扰,见图1-4。

2.1.5 线性关系考察 以峰面积积分值为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X)绘制标准曲线。得到莫诺苷线性回归方程: $Y=17\ 026X-8.694$ , $r=0.999\ 8$ ,线性范围为203~4\ 070 μg;马钱苷线性回归方程: $Y=22\ 200X-3.268\ 5$ , $r=1.000\ 0$ ,线性范围为58~1\ 160 μg;芍药苷线性回归方程: $Y=12\ 561X-62032$ , $r=0.999\ 4$ ,线性范围为117~2\ 340 μg。

2.1.6 方法学考察结果 精密度试验测得莫诺苷、马钱苷和芍药苷峰面积的RSD值分别0.42%、0.17%、0.78%;稳定性试验测得莫诺苷、马钱苷和芍药苷峰面积RSD值分别为1.53%、0.41%、2.23%,各主要色谱峰的保留时间和峰面积的RSD均小于3%;重复性试验测得补肾活血方供试品溶液(20180830)样品中莫诺苷、马钱苷和芍药苷的峰面积RSD值分别为1.80%、2.26%、2.18%,各主要色谱峰峰面积的RSD均小于3%;加样回收率试验测得莫诺苷平均回收率为98.6%,RSD为2.18%( $n=6$ ),马钱苷平均回收率为98.0%,RSD为1.28%( $n=6$ ),芍药苷平均回收率为98.8%,RSD为1.77%( $n=6$ )。

2.1.7 样品含量测定 取3批补肾活血方饮片(201808、201812、201902),按照“2.1.3”项下供试品溶液方法制备,按照“2.1.1”色谱条件,测定莫诺苷、

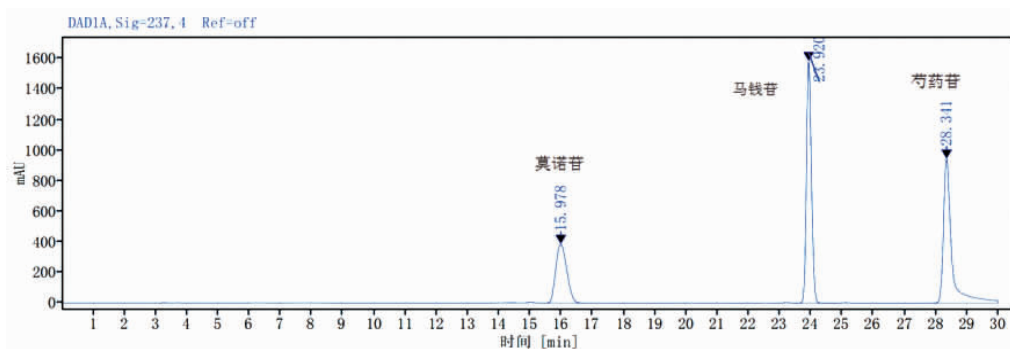


图 1 混合标准品中莫诺苷、马钱苷、芍药苷 HPLC 图

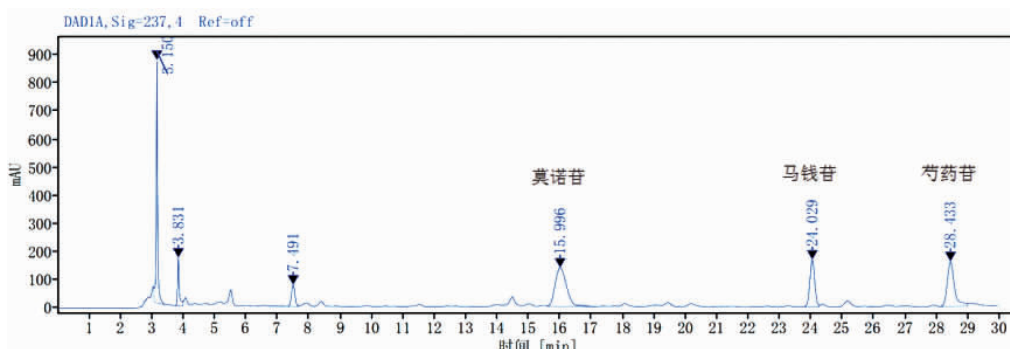


图 2 样品中莫诺苷、马钱苷、芍药苷 HPLC 图

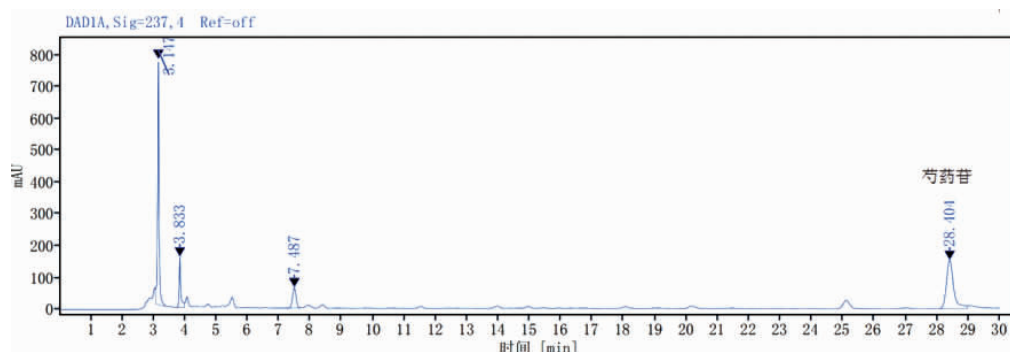


图 3 缺山茱萸阴性样品 HPLC 图

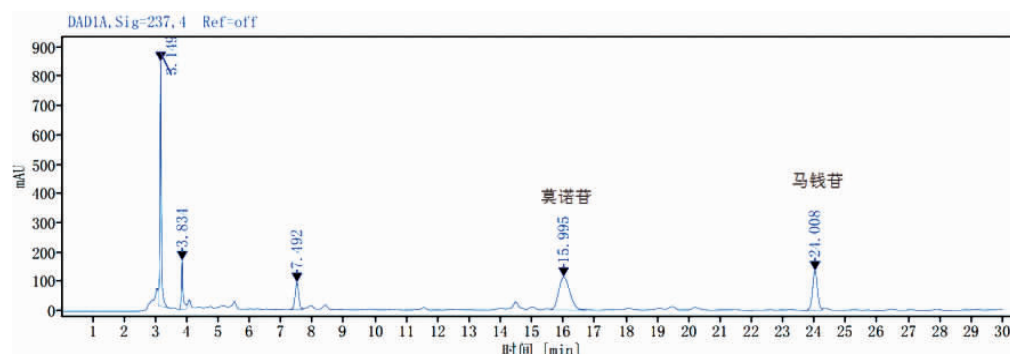


图 4 缺白芍阴性样品 HPLC 图

马钱苷和芍药苷在补肾活血方中的含量,详见表 1。

## 2.2 马钱苷、莫诺苷、芍药苷对免疫性卵巢早衰小鼠的影响

### 2.2.1 分组与造模

36 只雌性 BALB/c 小鼠,按随机数字表法分出 6 只为空白组,剩下 30 只小鼠

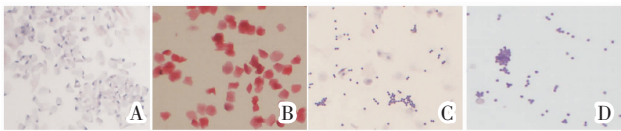
造模。将订购的 6 mg ZP3 透明多肽粉,加入 6 mL 的双蒸水配成溶液,与弗氏完全佐剂按照 1:1 配制成免疫试剂,与弗氏不完全佐剂按照 1:1 配制成免疫强化试剂。参照文献[20]给予每只小鼠 0.15 mL 免疫试剂注射双后脚掌处及腹腔皮下,14 d 后给予

表1 补肾活血方中莫诺昔、马钱昔、芍药昔含量

批号	测定结果( $\bar{x}\pm s, n=3, \text{mg/g}$ )		
	莫诺昔	马钱昔	芍药昔
20180830	4.612±0.013	1.291±0.003	3.084±0.009
20181218	4.552±0.012	1.276±0.009	3.058±0.005
20190215	4.633±0.004	1.292±0.003	3.053±0.006

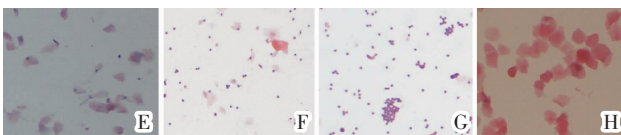
免疫强化剂 0.15 mL 再次注射双后脚掌处及腹腔皮下加强免疫,建立免疫性卵巢早衰模型。空白组小鼠则给予 0.15 mL 生理盐水注射相同部位。从注射免疫试剂的第 8 天开始,每天上午 10:00 对所有小鼠进行阴道脱落细胞涂片的 HE 染色,在光学显微镜下连续观察 7 d,查看小鼠的动情周期,出现动情周期紊乱表示模型制备成功<sup>[21]</sup>。

阴道脱落细胞涂片的 HE 染色结果显示:空白组小鼠动情周期按动情前期-动情期-动情后期-动情间期变化;模型组小鼠与空白组小鼠相比,造模组小鼠动情周期按动情前期-动情后期-动情间期-动情期变化,出现了动情周期紊乱的情况,提示造模成功,见图 5-6。



注:A-D 分别为空白组小鼠的动情前期、动情期、动情后期、动情间期

图5 空白组小鼠阴道脱落细胞(HE,×100)



注:E-H 分别为模型组小鼠的动情前期、动情后期、动情间期、动情期

图6 模型组小鼠阴道脱落细胞(HE,×100)

2.2.2 分组干预与血清 FSH、LH、E<sub>2</sub> 激素水平检测 将 30 只造模小鼠随机分成 5 组,每组 6 只,分别为模型组、补肾活血方组、马钱昔组、莫诺昔组、芍药昔组。采用灌胃方式给药,模型组、空白组予以生理盐水;补肾活血方组给药剂量均按照“人和动物体表面积折算的等效计量表”折算成临床成人用药剂量的 2 倍,均煎成浓缩液,每毫升含有生药 1.08 g,前期实验结果证明在此剂量干预下,卵巢结构较清晰,卵泡发育基本恢复正常<sup>[4]</sup>;根据高效液相法测定的补肾活血方中马钱昔、莫诺昔、芍药昔测定结果,用

标准品分别配成与补肾活血方中马钱昔、莫诺昔、芍药昔含量一致的溶液,也折算成临床成人用药剂量的 2 倍给药(分别含 1.286、4.599、3.065 g/kg 生药),连续给药 7 d,末次给药后 1 h,各组小鼠分别摘取眼球取血,收集血液后,静置 30 min 后离心,血清留存,按 ELISA 试剂盒说明书检测小鼠血清 FSH、LH、E<sub>2</sub> 水平。

各组间小鼠血清 E<sub>2</sub>、FSH、LH 比较:与空白组比较,模型组 E<sub>2</sub> 水平明显降低( $P<0.01$ ),FSH 和 LH 的水平均升高明显( $P<0.01$ ),提示造模成功;与模型组比较,补肾活血方组、马钱昔组、莫诺昔组 E<sub>2</sub> 水平均显著升高( $P<0.01$ ),FSH 和 LH 的水平显著降低( $P<0.01$ ),芍药昔组 E<sub>2</sub> 水平均显著升高( $P<0.01$ ),LH 的水平显著降低( $P<0.01$ ),FSH 水平降低( $P<0.05$ ),详见表 2。

表2 各组小鼠血清 E<sub>2</sub>、FSH、LH 的水平比较( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	E <sub>2</sub> (ng·L <sup>-1</sup> )	FSH(IU·L <sup>-1</sup> )	LH(IU·L <sup>-1</sup> )
空白组	34.94±2.04	13.77±0.66	7.23±0.39
模型组	11.36±0.49 <sup>△△</sup>	23.14±2.32 <sup>△△</sup>	13.29±0.81 <sup>△△</sup>
补肾活血方组	25.55±3.41 <sup>##</sup>	14.90±1.04 <sup>##</sup>	8.36±0.85 <sup>##</sup>
马钱昔组	16.62±1.48 <sup>##</sup>	17.53±1.89 <sup>##</sup>	11.09±1.01 <sup>##</sup>
莫诺昔组	15.61±1.67 <sup>##</sup>	17.76±1.47 <sup>##</sup>	11.45±0.61 <sup>##</sup>
芍药昔组	24.32±3.81 <sup>##</sup>	19.98±1.53 <sup>#</sup>	11.92±0.91 <sup>##</sup>

注:与空白组比较,△△ $P<0.01$ ;与模型组比较,## $P<0.05$ ,### $P<0.01$ 

### 3 讨论

本实验采用 HPLC 对补肾活血方中马钱昔、莫诺昔、芍药昔进行含量测定,再予以补肾活血方、马钱昔、莫诺昔、芍药昔对卵巢早衰模型小鼠进行灌胃,并用空白组、模型组作为对照,将临床作为卵巢早衰诊断标准的 FSH、LH、E<sub>2</sub> 为评价标准,结果表明这三种昔均对激素 E<sub>2</sub>、FSH、LH 有改善作用。本实验所选用的补肾活血方浓度相当于补肾活血方中剂量浓度,也是前期实验结果证明下的最佳有效浓度,且选用的马钱昔、莫诺昔、芍药昔单味成分含量与 HPLC 测定的补肾活血方中马钱昔、莫诺昔、芍药昔含量相同,以确保能对马钱昔、莫诺昔、芍药昔单味成分进行更好疗效验证。综上,通过对化合物马钱昔、莫诺昔、芍药昔的含量测定以及对卵巢早衰模型小鼠干预,本课题组认为马钱昔、莫诺昔、芍药昔为补肾活血方中可能的药效物质。

## 参考文献

- [1] LACHAM-KAPLAN O, CHY H, TROUNSON A. Testicular cell conditioned medium supports differentiation of embryonic stem cells into ovarian structures containing oocytes[J]. *Journal of Stem Cells*, 2006,24(2):266-273.
- [2] 刘慧萍,尤昭玲,雷磊,等.补肾活血方对免疫性卵巢早衰小鼠卵泡凋亡调控基因(Bcl-2/Bax)蛋白的影响[J].*中华中医药学刊*, 2010,28(5):1036-1038.
- [3] 刘慧萍,肖艺,李玲,等.补肾活血方对卵巢早衰小鼠颗粒细胞凋亡的影响[J].*中国中医药信息杂志*,2015,22(4):47-50.
- [4] 胡立娟,刘慧萍,曾柳庭,等.补肾活血方对免疫性卵巢早衰小鼠PI3、Akt、Bcl2蛋白的影响[J].*中华中医药学刊*,2017,35(9):2282-2284.
- [5] 刘慧萍,曾柳庭,胡立娟,等.补肾活血方对卵巢早衰小鼠颗粒细胞TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ RII、Smad2/3表达的影响[J].*中成药*,2017,39(9):1782-1788.
- [6] 张程荣,曹岗,张云,等.山茱萸的化学、药理与炮制研究进展[J].*中华中医药学刊*,2011,29(9):2002-2005.
- [7] MA W, WANG K J, CHENG C S, et al. Bioactive compounds from *Cornus officinalis* fruits and their effects on diabetic nephropathy[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014,153(3):840-845.
- [8] 王丹丹.酒萸肉配方颗粒 HPLC 指纹图谱研究[J].*云南中医中药杂志*,2018,39(4):76-80.
- [9] 梁晋如.山茱萸的化学成分及其生物活性研究[D].西安:西北大学,2014:3-4.
- [10] 赵文望,皮文霞,蔡宝昌,等.马钱苷、莫诺苷对高糖致心肌细胞损伤的保护机制研究[J].*中成药*,2016,38(1):160-163.
- [11] YANG C, KUAI X, GAO W, et al. Morroniside-induced PP2A activation antagonizes tau hyperphosphorylation in a cellular model of neurodegeneration[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2016, 51(1): 33-44.
- [12] 雷小小,苏艳莹,李美云,等.山茱萸环烯醚萜苷中马钱苷和莫诺苷的研究进展[J].*上海中医药杂志*,2018(1):104-108.
- [13] 王晓燕,霍甜甜,李振国.一测多评法测定左归丸中3种环烯醚萜苷类成分的含量[J].*中国药事*,2017,31(2):157-164.
- [14] 陈祝霞.高效液相色谱法测定左归丸中马钱苷和莫诺苷的含量[J].*山西医药杂志*,2015,44(24):2946-2947.
- [15] 焦强,王晓伟,石岩,等.左归丸质量标准的研究和探讨[J].*药物分析杂志*,2018,38(4):710-715.
- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2015:27.
- [17] 黄丽苹,时桂芹,陈利平,等.芍药苷提取方法及药理作用研究进展[J].*农产品加工*,2018(2):71-75.
- [18] 张利.白芍的药理作用及现代研究进展[J].*中医临床研究*,2014,6(29):25-26.
- [19] SHEN M, TANG Z, TEIXEIRADA SILVA J A, et al. Induction and proliferation of axillary shoots from in vitro culture of *Paeonia lactiflora* Pall mature zygotic embryos[J]. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 2015,43(1):42-52.
- [20] 丁玉龙,孙莉,李丽亚.小鼠阴道涂片三种染色方法比较[J].*实验动物科学*,2010,27(1):67-69.
- [21] 刘慧萍,尤昭玲,张国民,等.补肾活血方对免疫性卵巢早衰小鼠卵泡凋亡相关蛋白的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2012,32(5):28-31,42.

(本文编辑 杨 瑛)