

· 资源与鉴定 ·

基于植物代谢组学方法区分安县附子与
江油附子质量的化学标志物

林俊芝¹，张定堃^{2,3*}，裴瑾^{2,3}，黄浩洲²，潘媛²，许润春²

- (1. 成都中医药大学 附属医院，成都 610072；
2. 成都中医药大学 药学院 中药材标准化教育部重点实验室，成都 611137；
3. 四川好医生攀西药业有限责任公司，四川 西昌 615000)

〔摘要〕 目的:采用超高效液相色谱联用飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MS)代谢组学方法分析江油附子与安县附子的化学成分差异。方法:利用 UPLC-Q-TOF/MS 技术对江油附子与安县附子化学成分群进行采集,采用 MassHunter B. 05.00 软件与 MetaboAnalyst 3.0 软件进行数据过滤与标准化处理,经 SIMCA-P 13.0 软件进行多元统计分析,发现并鉴定出两者区分的显著性差异化合物。结果:经偏最小二乘法判别分析筛选得到 16 个差异化合物;新乌头碱、乌头碱、展花乌头宁、塔拉乌头胺、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、脱水苯甲酰新乌头原碱及新乌头原碱在安县附子中含量较江油附子更高,而尼奥林、附子灵、次乌头碱、塔拉他定、卡米查林、附子亭、宋果灵在江油附子中含量更高,这种差异的形成与两地的栽培条件差异有关。结论:安县附子的毒性更强、镇痛抗炎活性更强,江油附子的强心活性可能更强。

〔关键词〕 附子;植物代谢组学;多元统计分析;化学标志物;品质评价;毒性;药理活性
〔中图分类号〕 R283.6;R285.5;R284.1;R945 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2017)13-0035-06
〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfjx.2017130035
〔网络出版地址〕 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.0924.004.html>
〔网络出版时间〕 2017-04-20 9:24

Investigation of Quality Markers Between Aconiti Lateralis Radix Praeparata in
Jiangyou and Anxian Based on Plant Metabolomics

LIN Jun-zhi¹, ZHANG Ding-kun^{2,3*}, PEI Jin^{2,3}, HUANG Hao-zhou², PAN Yuan², XU Run-chun²

- (1. Teaching Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610072, China;
2. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Pharmacy College, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China;
3. Sichuan Good Doctor Panxi Pharmaceutical Co. Ltd., Xichang 615000, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To analyze difference of chemical ingredients between Aconiti Lateralis Radix Praeparata in Jiangyou and Anxian by UPLC-Q-TOF/MS. **Method:** UPLC-Q-TOF/MS was carried out to acquire chemical constituents informations from Aconiti Lateralis Radix Praeparata samples in Jiangyou and Anxian. High precise mass data were filtered and standardized processed by MassHunter B. 05.00 software and MetaboAnalyst 3.0 software, then these data were processed by multivariate statistical analysis techniques by SIMCA-P 13.0 software to discover and identify the constituents with significant difference. **Result:** Sixteen chemical markers with significant difference were screened by partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). During which, the

〔收稿日期〕 20170205(010)
〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(81403115);成都中医药大学科技发展基金项目(ZRQN1515)
〔第一作者〕 林俊芝,硕士,研究实习员,从事中药制剂与质量评价研究,Tel:028-87767201,E-mail:582097013@qq.com
〔通讯作者〕 *张定堃,博士,讲师,从事中药制剂新技术与质量评价研究,Tel:028-61800127,E-mail:465790643@qq.com

contents of mesaconitine, aconitine, chasmanine, talatisamine, benzoylmesaconitine, benzoylhypaconitine, dehydrated benzoylmesaconitine and mesaconine were higher in Aconiti Lateralis Radix Praeparata from Anxian, while the contents of neoline, fuziline, hypaconitine, talatidine, carmichaeline, fuzitine and songorine were much higher in Aconiti Lateralis Radix Praeparata from Jiangyou. The formation of this difference is related to the difference in cultivation conditions between these two places. **Conclusion:** Comprehensive analysis for the toxicity and activity of chemical markers in Aconiti Lateralis Radix Praeparata from these two places, the toxicity, analgesic and anti-inflammatory activity of samples in Anxian are much stronger, while the cardiac activity of samples in Jiangyou may be stronger.

[**Key words**] Aconiti Lateralis Radix Praeparata; plant metabolomics; multivariate statistical analysis; chemical markers; quality evaluation; toxicity; pharmacological activity

附子对于各种急慢性心衰、风湿痹痛、阳虚诸证具有确切疗效,临床需求量巨大。江油附子自古即被誉为道地药材,质量上乘。近 30 年来,江油地区种植面积不断萎缩,产量持续降低,已远不能满足临床用药的需求。四川安县与江油地区毗邻,一直是附子种子乌药的培育基地,也有少量附子种植。2008 年汶川大地震对川西北地区自然生态与社会经济造成了严重损害,亟需开展药材资源的恢复与开发工作^[1]。震后,安县地区大力发展附子种植,年产量上千吨,10 余家附子加工企业生产黑顺片、炮天雄等各种附子饮片。但安县附子品质如何,与江油附子的化学一致性如何,能否很好地替代与补充传统道地附子,尚无明确的定论。

地域性是影响中药质量的关键因素之一,探寻不同产地药材的质量差异对于药材产地溯源与品质鉴别、炮制工艺设计、新药原料投料乃至临床应用的按质论量具有重要意义^[2]。目前,研究不同产地药材品质最主要的化学评价方法是多组分含量测定与指纹图谱定性鉴别,但两者所监测的成分个数始终有限,无法全面评估成分群的差异。近年来,随着植物代谢组学的设计原理与相关方法的建立,以及 UPLC-Q-TOF/MS 技术的推广应用,对样本的化学物质进行广谱监测成为可能,结合主成分分析(PCA)与偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)等多元统计方法更能找到 2 组或多组样本间的差异物质^[3]。课题组前期采用该方法对不同商品规格附子^[4]及制附片煎煮过程中不同时间点的差异成分^[5]进行了筛选研究;也有国内学者利用该方法寻找不同产地药材^[6]、炮制前后^[7]与配伍前后^[8]的化学成分差异,为进一步研究不同样品的生物学效应差异提供了物质基础。

基于上述分析,本实验采用 UPLC-Q-TOF/MS 技术结合 PCA 与 PLS-DA 等多元统计方法,从化学

计量学角度对安县附子与江油附子的化学成分进行比较,发掘差异成分,并从植物生态环境角度解释这种差异的成因,以期制订炮制工艺和确保临床用药的安全有效提供依据。

1 材料

1290 Infinity 型超高效液相色谱仪和 6550 Q-TOF 型四级杆串联飞行时间质谱(美国安捷伦公司)。新乌头碱、乌头碱、次乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱与苯甲酰次乌头原碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110799-201106, 110720-201111, 110798-201106, 111795-200901, 111794-200901 和 111796-201303,纯度均 > 98%),尼奥林、附子灵、宋果灵和塔拉乌头胺对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号分别 131214, 140315, 140420, 131112,纯度均 > 98%),水为屈臣氏纯净水,甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

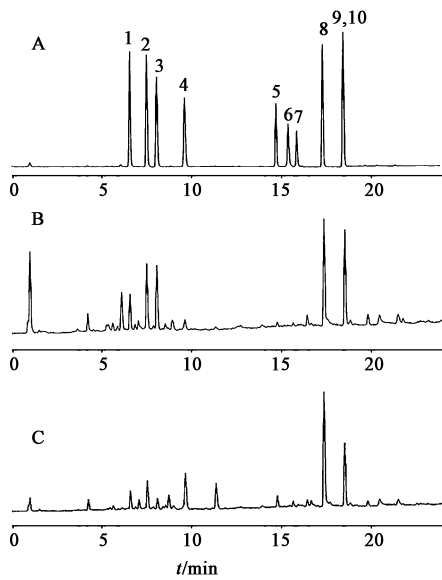
江油附子样品于 2014 年 6 月底收集于四川江油中坝镇、彰明镇、河东乡,安县附子样品于当年 9 月底收集于安县沸水镇、茶坪乡、晓坝镇、雒水镇的种植基地,两大产区各 7 份,均经成都中医药大学药学院裴瑾教授鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 的子根。

2 方法与结果

2.1 供试品处理 取泥附子,洗净,切薄片,冷冻干燥 24 h,粉碎成细粉。称取样品粉末约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声(300 W, 45 kHz)处理 25 min,放冷后称定质量,用甲醇补足减失的质量,过滤,弃去初滤液,精密量取续滤液 0.1 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

2.2 色谱条件^[5] ZORBAX RRHD 300SB-C₁₈ 色谱

柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~1 min,98% A;1~2 min,98%~95% A;2~5 min,95%~89% A;5~10 min,89%~85% A;10~15 min,85%~70% A;15~20 min,70%~60% A;20~24 min,60%~50% A),流速 0.3 mL·min⁻¹,进样量 1 μL。见图 1。



A. 混合对照品;B. 江油附子;C. 安县附子;1. 尼奥林;2. 附子灵;3. 宋国灵;4. 塔拉乌头胺;5. 苯甲酰新乌头原碱;6. 苯甲酰乌头原碱;7. 苯甲酰次乌头原碱;8. 新乌头碱;9. 乌头碱;10. 次乌头碱

图 1 不同附子样品的总离子流
Fig. 1 Total ion chromatograms of different Aconiti Lateralis Radix Praeparata samples

2.3 质谱条件 离子源为电喷雾电离源(ESI),正离子模式检测范围 m/z 100~900,采集频率设定 1.00 Spec·s⁻¹,锥孔电压与毛细管电压分别为 1.0,3.5 kV,离子源温度与鞘气温度分别为 200,350 ℃,鞘气流速 14 L·min⁻¹。见图 2。

2.4 数据分析与处理 采用 MassHunter B.05.00 软件对原始数据进行处理。数据过滤条件为时间 0~24 min,相对分子质量 100~1 000,时间窗口 0.3 min,误差匹配 100 mDa。数据导入 MetaboAnalyst 3.0 软件进行标准化处理。将标准化处理后的提取离子流相对峰面积数据导入 SIMCA-P 13.0 软件中进行主成分分析(PCA),使用偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)找出 2 组样品间的差异成分,并对差异成分进行单因素方差分析^[4]。统计分析采用 SPSS 22.0 软件, $P<0.05$ 表示有显著性统计学差异。

2.5 多元统计分析 为了增加数据的可靠性,质谱原始数据经 Profinder 软件处理后,参照参考文献

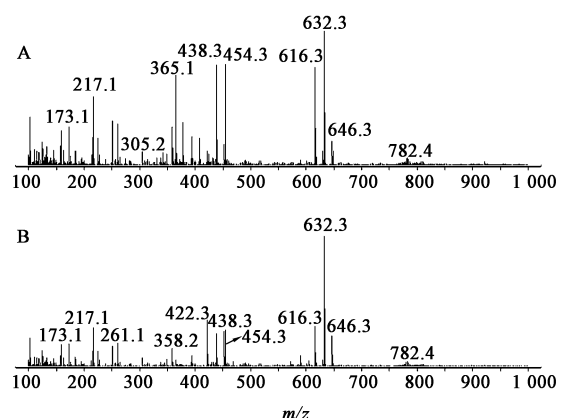


图 2 江油附子(A)与安县附子(B)的 MS
Fig. 2 MS of Aconiti Lateralis Radix Praeparata in Jiangyou (A) and Anxian (B)

[3,7]中方法剔除缺失值过多的变量,最后得到 521 个有效变量数据。分别将江油附子与安县附子设置为第 1,2 组,建立这 2 个产地附子的 PCA 模型。为评价模型质量与可靠性,引入 R^2X , R^2Y 和 Q^2 ,分别表示所建立模型计算所获得的隐变量反映自变量 X 的变异率,因变量 Y 的变异率及交叉验证后模型所获隐变量能够预测 X 和 Y 变异的累积率。一般而言,三者数值越高,表明越能反映原始变量的信息,预测能力越强^[9]。结果前 3 个主成分的模型 $R^2X=0.848$, $Q^2=0.663$,模型可靠,江油附子与安县附子明显归为 2 个不同的集合。为寻找 2 个样本集之间的成分差异,进行 PLS-DA 分析。结果 $R^2X=0.720$, $R^2Y=0.997$, $Q^2=0.986$,模型稳定可靠;由于 $Q^2>0.9$,表明模型的内部验证预测能力强大。由图 3 可知,江油附子与安县附子能明显分开。进一步采用排列试验验证外部模型,设定随机排列次数为 100,对随机产生的 R^2 和 Q^2 与原始累积值进行回归分析。结果发现 R^2 , Q^2 与 Y 轴的截距分别为 0.356 和 -0.210,说明外部模型预测能力好,可进行差异化化合物的筛选。

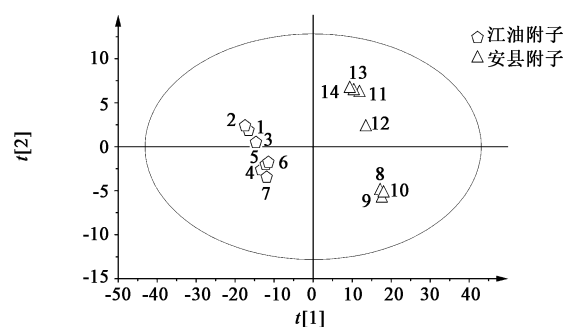


图 3 江油附子与安县附子的 PLS-DA 得分
Fig. 3 PLS-DA scores of Aconiti Lateralis Radix Praeparata in Jiangyou and Anxian

2.6 化学标志物研究 对观察数据进行 CTR 变换,以 p 为横坐标, $p(\text{corr})$ 为纵坐标,绘制 S 曲线,见图 4。位于 S 曲线两端的观察数据可作为分组的化学标志物。16 个观察数据位于 S 曲线两端, m/z 分别为 631.301, 645.311, 451.299, 421.287, 589.293, 603.307, 571.286, 485.268, 437.285, 364.095, 453.278, 615.299, 407.270, 377.263, 341.168 与 357.236,通过碎片分析与文献^[3] 对比,16 个成分依次鉴定为新乌头碱、乌头碱、展花乌头宁、塔拉乌头胺、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、脱水苯甲酰新乌头原碱、新乌头原碱、尼奥林、未知成分、附子灵、次乌头碱、塔拉他定、卡米查林、附子亭与宋果灵。具体信息见表 1。

表 1 16 个差异显著化学标志物的鉴定

Table 1 Identification of 16 differential chemical markers

No.	t_R/min	相对分子质量	化合物	分子式	No.	t_R/min	相对分子质量	化合物	分子式
1	17.35	631.301	新乌头碱	$\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{NO}_{11}$	9	8.08	437.285	尼奥林	$\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_6$
2	18.51	645.311	乌头碱	$\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}$	10	1.00	364.095	未知成分	—
3	7.06	451.299	展花乌头宁	$\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{NO}_6$	11	7.53	453.278	附子灵	$\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_7$
4	9.62	421.287	塔拉乌头胺	$\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_5$	12	18.52	615.299	次乌头碱	$\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{NO}_{10}$
5	14.77	589.293	苯甲酰新乌头原碱	$\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{NO}_{10}$	13	6.14	407.270	塔拉他定	$\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{NO}_5$
6	15.45	603.307	苯甲酰次乌头原碱	$\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{NO}_{10}$	14	6.09	377.263	卡米查林	$\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_4$
7	15.66	571.286	脱水苯甲酰新乌头原碱	$\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{NO}_9$	15	8.94	341.168	附子亭	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$
8	5.63	485.268	新乌头原碱	$\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_9$	16	6.59	357.236	宋果灵	$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_3$

图对比,显示两产地附子化学标志物的丰度差异,见图 5。结果表明新乌头碱、乌头碱、展花乌头宁、塔拉乌头胺、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、脱水苯甲酰新乌头原碱及新乌头原碱在安县附子中的相对丰度显著高于江油附子($P < 0.01$),而其余成分在江油附子中的含量明显更高($P < 0.01$)。

结合上述成分的毒性可知,15 个已知差异化合物中,新乌头碱、乌头碱与次乌头碱为剧毒成分,小鼠灌胃的半数致死量(LD_{50})分别为 0.213, 0.27, 1.01 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;苯甲酰新乌头原碱、尼奥林、卡米查林、宋果灵为微毒成分,小鼠灌胃的 LD_{50} 分别为 240,150,298,485 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;塔拉乌头胺、乌头原碱也是微毒成分,小鼠静脉注射的 LD_{50} 分别为 116, 117 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;其余成分的毒性或测不出或无相关基础数据报道^[5]。总体而言,尽管泥附子的毒性是多种成分的综合作用结果,但主要仍是由丰度高、毒性剧烈的双酯型生物碱决定的,由于安县附子中新乌头碱与乌头碱含量明显高于江油附子,而次乌头碱

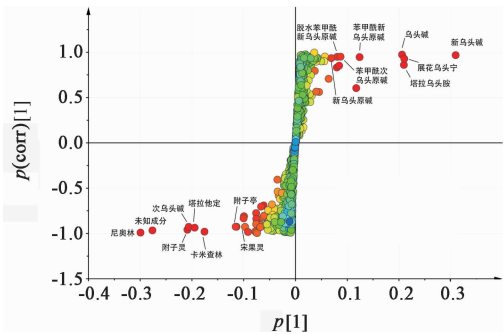
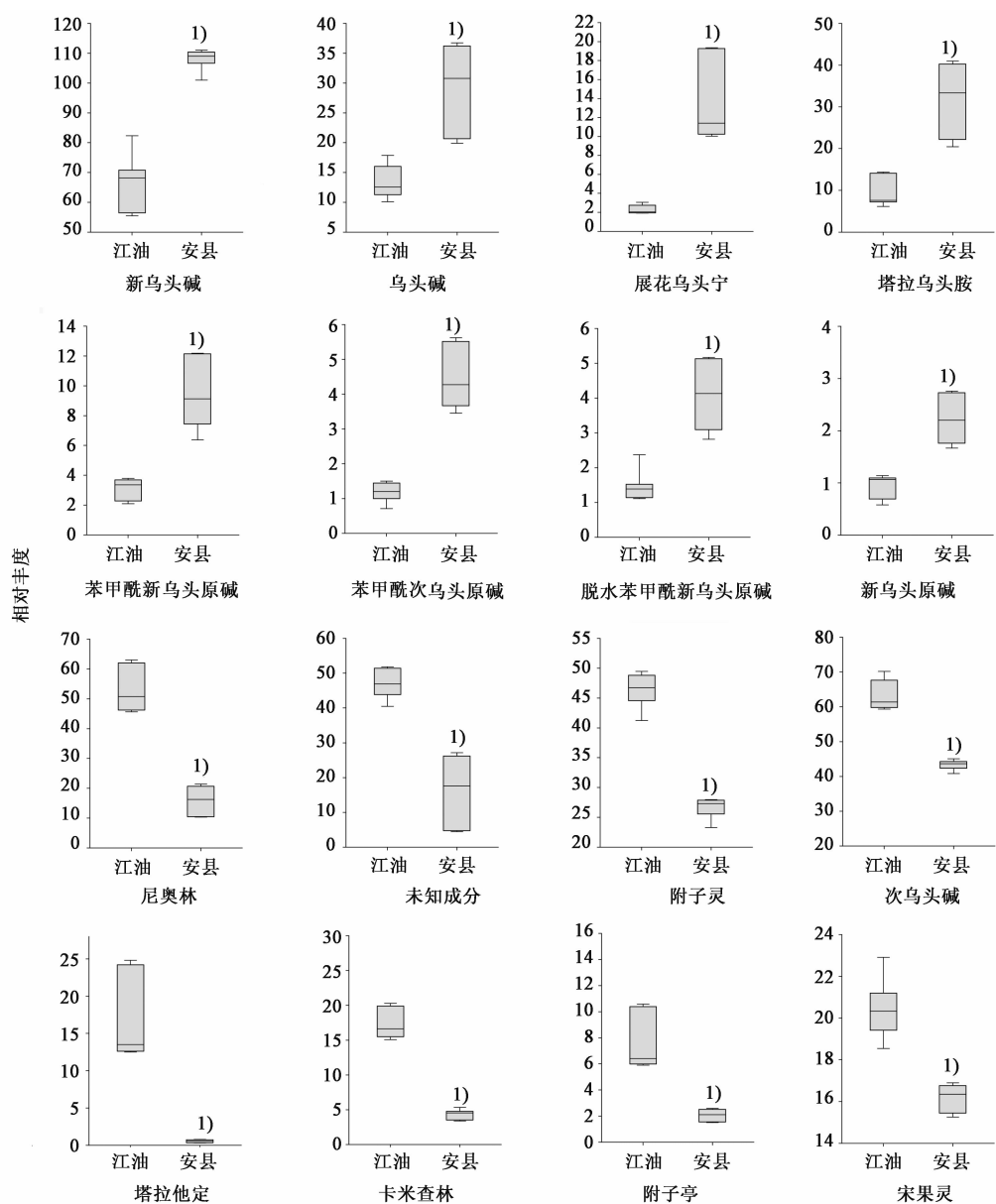


图 4 江油附子与安县附子的 S 曲线与差异化学标志物
Fig. 4 S-plot and differential chemical markers of Aconiti Lateralis Radix Praeparata in Jiangyou and Anxian

将 16 个观察数据在江油附子与安县附子样品中的提取离子流色谱图(EIC)中相对峰面积进行相

含量低于江油附子,加之新乌头碱与乌头碱的总含量及毒性均高于次乌头碱,安县附子的整体毒性强于江油附子,课题组前期的毒性测试证明了该论断^[10]。

从强心活性上看,上述差异化合物均不是主要的强心活性物质。目前公认的附子强心活性物质为去甲乌药碱(m/z 272.3)与去甲猪毛菜碱(m/z 180.2)^[11],从 512 个有效数据中提取上述 2 个质荷比,计算去甲乌药碱在江油附子与安县附子中的平均丰度分别为 0.102 ± 0.027 与 0.079 ± 0.013 ;去甲猪毛菜碱在二者中的平均丰度分别为 0.282 ± 0.059 与 0.203 ± 0.021 。独立样本 t 检验发现,江油附子中去甲乌药碱及去甲猪毛菜碱 2 个强心活性成分的含量明显高于安县附子的($P < 0.05$)。只是由于这 2 种物质在附子中的整体丰度很低,通过常规的代谢组学方法很难将其归为典型的差异化合物。从镇痛、抗炎等活性来看,安县附子在新乌头碱、乌头碱、次乌头碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰



与江油附子比较¹⁾ $P < 0.01$

图 5 江油附子与安县附子中差异化合物的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Comparison of differential chemical markers from Aconiti Lateralis Radix Praeparata in Jiangyou and Anxian ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

新乌头原碱、脱水苯甲酰新乌头原碱及宋果灵等相关成分的总量上更高,提示其镇痛抗炎效果优于江油附子。

3 讨论

3.1 化学成分差异原因分析 附子一直采用“山区育种,平原栽培”的种植模式,江油附子的种源乌药的种植与抚育主要在临近的山区(安县、平武等地)完成。安县虽与江油临近,但地理生态环境存在一定差异,课题组根据中药材产地适宜性分析地理信息系统(TCMGIS)的空间分析功能^[12],获得2个产区的生态指标值,结果见表2。两地的温度、湿度与降水指标差别并不是大,但江油地区的每年≥

10℃积温明显高于安县地区,而安县地区的光照与海拔显著高于江油地区。安县地处山区,海拔高,昼夜温差大,附子块根生长缓慢,生长周期往往比江油地区长2~3个月左右,导致安县附子的乌头碱、新乌头碱等毒性物质累积量明显增加,毒性更强。而江油附子在水溶性生物碱尼奥林、附子灵,乃至具有强心作用的水溶性生物碱去甲乌药碱、去甲猪毛菜碱含量上更高。这说明种源相同,但光照、温度、海拔的不同,酯型生物碱与水溶性生物碱的生物合成偏向有一定差异。

3.2 化学标志物研究的意义 通过对江油附子与安县附子差异化学标志物的研究,揭示了江油附子

表 2 江油与安县的地理生态信息

Table 2 Geographic and ecological informations of Jiangyou and Anxian

环境条件	江油		安县	
	最小值	最大值	最小值	最大值
1 月平均温度/℃	4. 9	5. 1	2. 4	2. 6
1 月最低温度/℃	1. 9	—	—1. 4	—
7 月平均温度/℃	25. 3	25. 7	22. 1	22. 4
7 月最高温度/℃	—	30. 1	—	27. 3
年均温度/℃	20. 2	20. 5	18. 2	18. 4
≥10 ℃ 积温/℃	4 170	5 106. 6	3 605	4 450
相对湿度/%	76. 9	77. 4	75. 5	75. 9
年降雨量/mm	804	807	823	827
年光照时间/h	1 168	1 193	1 312	1 335
海拔/m	500	800	1 000	2 500

注:江油、安县的土壤类型分别为潜留水稻土与紫壤、黄棕壤。

与安县附子的成分差异,从物质基础角度为安县附子的鉴别、加工、应用提供了科学数据,具有重要意义。在附子药材的实际流通过程中,江油附子具有精细的种植加工、道地的药材品质及高昂的人力成本,售价明显高于其他产区的附子,这导致其他产区附子被运往江油“贴标签”后再销往全国,即所谓的“江油附子不道地”^[13]。通过化学标志物的研究,可利用新乌头碱与次乌头碱的含量高低快速鉴别江油与安县附子,为附子药材的产地溯源提供了科学依据。

通过化学成分的对比解析,结合差异化合物的毒性与活性分析可知,安县附子的毒性强于江油附子,提示不同产地附子的炮制解毒工艺应有所差异,即所谓的“个性化炮制”^[14]。对于安县附子而言,应通过延长蒸煮时间或提高炮制温度等方式去除多余的毒性,确保用药的安全。安县附子的强心作用可能弱于江油附子,而镇痛抗炎等作用可能强于江油附子,提示两者在活性上也可能存在一定差异。在药品一致性评价成为热点的当下,面对中药或天然药物较大的质量变异,通过化学含量测定结合药理等效性实验确定剂量换算关系来实现中药饮片质量的稳定性与一致性,是提高临床疗效的稳定性与可靠性的重要途径^[15]。

[致谢]感谢中国医学科学院药用植物研究所谢彩香副研究员在地理生态系统测定方面提供的支持与帮助。

[参考文献]

[1] 彭成. 地震灾区药材资源恢复重建与综合开发利用的思路与实践[J]. 中药与临床,2015,6(1):1-3.

[2] 刘昌孝. 从中药资源-质量-质量标志物认识中药产业的健康发展[J]. 中草药,2016,47(18):3149-3154.

[3] 漆小泉,王玉兰,陈晓亚. 植物代谢组学:方法与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2011:13-18.

[4] ZHANG D K,HAN X,LI R Y,et al. Investigation of the chemical markers for experiential quality evaluation of crude aconite by UHPLC-Q-TOF-MS [J]. J Sep Sci, 2016,39(22):4281-4289.

[5] 李瑞煜,张定堃,韩雪,等. 基于代谢组学方法的制附片煎煮过程成分变化规律及煎煮时限探讨[J]. 中草药,2016,47(1):38-45.

[6] 邓皓月,武媛媛,袁磊,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 分析不同产地抱茎苦蕒菜化学成分的差异[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(17):37-42.

[7] ZHU T,LIU X,WANG X,et al. Profiling and analysis of multiple compounds in rhubarb decoction after processing by wine steaming using UHPLC-Q-TOF-MS coupled with multiple statistical strategies [J]. J Sep Sci,2016,39(15):3081-3090.

[8] 王晓丽,李丽静,李玉梅,等. 附子与人参不同配伍对心肌细胞的减毒作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(11):153-158.

[9] 冒海蕾,徐旻,王斌,等. 正交信号校正正常成人血清¹H-NMR 谱的代谢组分析中的滤噪作用评价[J]. 化学学报,2007,65(2):152-158.

[10] 张定堃,王伽伯,杨明,等. 中药品质整合评控实践:附子品质综合指数[J]. 中国中药杂志,2015,40(13):2582-2588.

[11] 唐小龙,黄志芳,陈燕,等. HPLC-DAD 法同时测定附子中 5 种水溶性成分[J]. 中成药,2013,35(2):327-330.

[12] 谢彩香,索风梅,贾光林,等. 人参皂苷与生态因子的相关性[J]. 生态学报,2011,31(24):7551-7563.

[13] 黄勤挽,周子渝,王瑾,等. 附子道地性形成模式的梳理与考证研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(18):2599-2601.

[14] 张定堃,杨明,韩雪,等. 中药炮制工艺研究新策略:个性化炮制与过程控制论[J]. 中国中药杂志,2015,40(16):3323-3326.

[15] 张海珠,肖小河,王伽伯,等. 中药质量评控的第一要义:效应当量一致性[J]. 中草药,2015,46(11):1571-1575.

[责任编辑 刘德文]