DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250825001
引用格式: 孙彦敏, 倪倩, 田京歌, 等. 变波长高效液相色谱法测定茯苓中 17 种三萜酸化合物含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(1): 254–260.
SUN YM, NI Q, TIAN JG, *et al*. Determination of 17 kinds of triterpenic acid compounds in *Poria cocos* by variable wavelength high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(1): 254–260. (in Chinese with English abstract).

变波长高效液相色谱法测定茯苓中 17 种三萜酸化合物含量

孙彦敏[1], 倪 倩[1], 田京歌[1], 赵 漪[1], 林 慧[2], 张 钰[3], 庞庆林[1], 张妤琳[1*]

(1. 江苏省药品监督检验研究院, 南京 210019; 2. 江苏省产品质量监督检验研究院, 南京 210007;
3. 中国药科大学理学院, 南京 211198)

摘 要: 目的 建立茯苓中 17 种三萜酸化合物的定量分析方法, 并对不同产地茯苓的三萜酸化合物含量进行分析研究。**方法** 采用高效液相色谱法, 使用 C_{18} 色谱柱, 乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相梯度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 20 ℃, 进样体积为 20 μL, 波长切换的模式测定 17 种三萜酸化合物含量, 并对测定结果进行分析。**结果** 17 种三萜酸化合物在各自范围内线性关系均良好(r>0.999), 加标回收率为 80.9%~92.5%, 相对标准偏差均小于 5.0%, 检出限为 0.343~2.839 μg/mL, 定量限为 1.143~9.462 μg/mL。**结论** 建立的高效液相色谱方法样品前处理操作简单, 方法灵敏度高, 稳定性和准确性好, 可用于茯苓中 17 种三萜酸化合物含量测定。为茯苓的功能性成分开发和利用奠定了研究基础。

关键词: 茯苓; 三萜酸化合物; 高效液相色谱法

Determination of 17 kinds of triterpenic acid compounds in *Poria cocos* by variable wavelength high performance liquid chromatography

SUN Yan-Min[1], NI Qian[1], TIAN Jing-Ge[1], ZHAO Yi[1], LIN Hui[2], ZHANG Yu[3],
PANG Qing-Lin[1], ZHANG Yu-Lin[1*]

(1. *Jiangsu Institute for Drug Control*, *Nanjing* 210019, *China*;
2. *Jiangsu Product Quality Testing and Inspection Institute*, *Nanjing* 210007, *China*;
3. *School of Science*, *China Pharmaceutical University*, *Nanjing* 211198, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a quantitative analytical method for 17 kinds of triterpenic acid compounds in *Poria cocos* and investigate their content in samples from different regions. **Methods** A high performance liquid chromatography method was developed using an C_{18} column with gradient elution (acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution as the mobile phase). The flow rate was set at 1.0 mL/min, column temperature at 20 ℃, and injection volume at 20 μL. The 17 kinds of triterpenic acid compounds were quantified by wavelength switching mode, and the

收稿日期: 2025-08-25
基金项目: 江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ2026048)
第一作者: 孙彦敏(1989—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为中药质量控制和安全评价。E-mail: weinisym@163.com
***通信作者:** 张妤琳(1980—), 女, 硕士, 主任药师, 主要研究方向为中药质量控制和安全评价。E-mail: 112318447@qq.com

obtained data were subjected to analysis. **Results**　All 17 kinds of compounds exhibited good linearity (r>0.999) within their respective concentration ranges. The spike recovery rates ranged from 80.9% to 92.5%, with relative standard deviations below 5.0%. The limits of detection and limits of quantitation respectively were 0.343–2.839 μg/mL and 1.143–9.462 μg/mL. **Conclusion**　The established high performance liquid chromatography method features simple sample pretreatment, high sensitivity, excellent stability and accuracy, making it suitable for the determination of 17 kinds of triterpenic acids in *Poria cocos*. This study provides a foundational basis for the development and utilization of functional components in *Poria cocos*.

KEY WORDS: *Poria cocos*; triterpenic acid compound; high performance liquid chromatography

0　引　言

茯苓为多孔菌科真菌茯苓[*Poria cocos* (Schw.) Wolf]的干燥菌核, 使用历史悠久, 临床用量较大, 具有利水渗湿、健脾、宁心之功效, 用于水肿尿少、痰饮眩悸、脾虚食少、便溏泄泻、心神不安、惊悸失眠等症, 是 2002 年首批被纳入药食同源目录的品种, 主要作为普通食品、保健食品和药品的原料。在普通食品领域, 茯苓应用于茶、粉、膏、粥、饮料及汤料等多个类别中, 如常见的茯苓面条、茯苓茶、茯苓糕点等食品, 但因附加值偏低, 产品普遍缺乏严格的质量控制指标[1]。以茯苓为主要原料的保健食品多制成口服液、胶囊、膏剂等剂型使用, 宣传功效以增强免疫力、改善睡眠为主[2]。茯苓作为传统中药材使用自古就有“十方九苓”的说法[3], 如在《伤寒论》中的苓桂术甘汤和五苓散、补气健脾第一方四君子汤、安神名方归脾汤等方剂中, 茯苓既能作为君药独当一面, 又能作为臣药佐助, 与天冬、麦冬等多种药材配伍制成扶正养阴汤[4]起到协同作用, 增强疗效, 调和诸药。

茯苓的化学成分包括萜类化合物[5–8]、多糖类[9–11]、蛋白质、麦角甾醇[12]、麦角甾醇过氧化物[13]、金属元素和挥发油等。其主要活性成分之一为萜类化合物, 从茯苓中提取出的三萜类化合物有 80 多种, 其中占比最高的是四环三萜类化合物[14], 具有利尿[15–18]、保肝[19]、增强免疫力、抗肿瘤[20]、抗氧化、抗炎[21]等作用, 研究表明三萜酸含量可以反映茯苓药材的质量。三萜酸化合物的总量多采用香草醛-冰醋酸-高氯酸显色法[22]间接测定, 三萜酸化合物的含量测定多采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)[23–27]或超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)[28–29], 上述方法针对去氢土莫酸、土莫酸、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢茯苓酸、茯苓酸 7 种三萜酸化合物的研究较多, 其他三萜酸化合物含量测定研究较少。本研究将通过切换波长的方式建立同时测定 17 种三萜酸化合物的 HPLC, 增加了茯苓中三萜酸化合物的测定种类, 并对收集到的样品进行了 17 种三萜酸化合物含量的测定, 分析各化合物与产地的相关性, 为评价茯苓药材的质量优劣提供了方法依据。

1　材料与方法

1.1　试剂与材料

16α-羟基松苓新酸、茯苓新酸 B、去氢土莫酸、土莫酸、茯苓新酸 A、3-表去氢土莫酸、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢茯苓酸、松苓新酸、去氢依布里酸对照品(纯度≥98.0%, 上海安谱璀世标准技术服务有限公司); 茯苓酸对照品(纯度 97.9%, 上海安谱实验科技股份有限公司); 茯苓新酸 G(纯度 98.8%)、茯苓新酸 BM(纯度 95.6%)、猪苓酸 C(纯度 99.9%)、茯苓新酸 AM(纯度 99.4%)、栓菌酸(纯度 98.9%)、依布里酸(纯度 98.3%)对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司); 乙腈、甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 磷酸(色谱纯, 美国 Sigma 公司)。

茯苓样品共 30 批次, 其中 9 批次来自中药材市场, 21 批次来自全国 20 个企业。

1.2　仪器与设备

Agilent 1260 HPLC 高效液相色谱仪-二极管阵列检测器、5TC C_{18} (2)色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)(美国 Agilent 公司); WIGGENS UA22 超声波清洗仪(北京维根技术有限公司); Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司); MSE224S-1CE-DU 万分之一分析天平、MCA6.6S-2CCN-M 百万分之一超微量电子天平(德国 Sartorius 公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　高效液相色谱条件

5TC C_{18} (2)色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm), 柱温为 20 ℃, 进样体积为 20 μL; 流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为 0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱程序为 0~18 min, 50%~60% A; 18~30 min, 60% A; 30~40 min, 60%~70% A; 40~50 min, 70% A; 50~70 min, 70%~92% A; 70~75 min, 92% A; 75~85 min, 50% A, 流速为 1.0 mL/min; 检测波长切换程序为 0~19.0 min, 210 nm; 19.0~27.0 min, 245 nm; 27.0~34.0 min, 210 nm; 34.0~50.0 min, 245 nm; 50.0~70.0 min, 210 nm; 70.0~72.5 min, 245 nm; 72.5 min 后回到初始状态 210 nm。

1.3.2　对照品溶液的配制

分别精密称取 16α-羟基松苓新酸、茯苓新酸 B、去氢

土莫酸、土莫酸、茯苓新酸 A、茯苓新酸 G、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、茯苓新酸 BM、茯苓新酸 AM、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢茯苓酸、茯苓酸、松苓新酸、栓菌酸、去氢依布里酸、依布里酸各对照品 5 mg 置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，制成单一对照品储备溶液。分别取一定量的各对照品母液置于同一容量瓶中，用甲醇稀释定容至刻度，制成 16α-羟基松苓新酸、茯苓新酸 B、去氢土莫酸、土莫酸、茯苓新酸 A、茯苓新酸 G、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、茯苓新酸 BM、茯苓新酸 AM、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢茯苓酸、茯苓酸、松苓新酸、栓菌酸、去氢依布里酸、依布里酸质量浓度分别为 5、20、70、50、10、10、25、35、5、5、50、40、40、15、10、3、3 μg/mL 的混合对照品溶液。

1.3.3 样品溶液的配制

精密称取茯苓细粉(过 80 目筛)5 g，置于 100 mL 锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，称定重量，超声处理 30 min，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

1.4 数据处理

用 Agilent 1260 Infinity II HPLC 自带的 OpenLab 色谱工作站系统自动采集数据并根据保留时间定性，制作的标准曲线测定含量结合面积归一法定量分析。数据结果分析使用 WPS Office 2024 软件进行计算、SIMCA 14.1 进行绘图。实验数据均为 2 次重复后的平均值，采用 Origin 2018 统计软件进行聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和主成分分析(principal component analysis, PCA)。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 流动相的优化

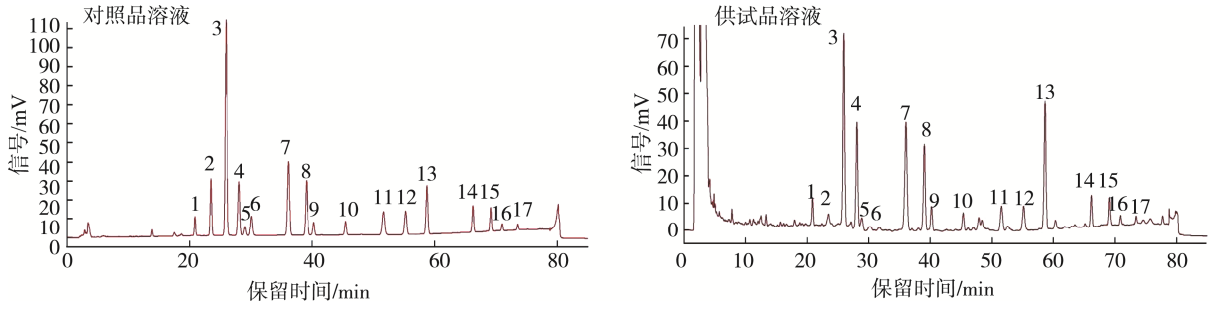
茯苓中三萜酸化合物分子结构中含有羧基，极性较大，为防止拖尾，流动相中可添加适当浓度的酸性成分，同时还可起到改善峰型和稳定化合物性质的作用。目前分离三萜酸类化合物的流动相多采用以甲醇或乙腈与不同浓度的磷酸溶液或乙酸溶液。本方法中检测化合物较多，茯苓酸、茯苓新酸 A、茯苓新酸 B 等化合物在 200 nm 处有最大吸收，选用甲醇做流动相比选乙腈做流动相 200 nm 处基线噪音大，且茯苓新酸 A 与土莫酸未能基线分离。乙腈-0.1%磷酸溶液做流动相与乙腈-0.1%乙酸溶液做流动相比较时，乙酸溶液做流动相 200 nm 处基线噪音较大，因此选择乙腈-磷酸溶液做流动相。对比乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.2%磷酸溶液与乙腈-0.3%磷酸溶液，乙腈-0.1%磷酸溶液系统与乙腈-0.3%磷酸溶液系统色谱图基本重合，均比乙腈-0.2%磷酸溶液做流动相时基线噪音小，因此最终选择乙腈-0.1%磷酸溶液做流动相。17 种化合物对照品溶液色谱图和供试品溶液色谱图见图 1。

2.1.2 检测波长的优化

本研究利用二极管阵列检测器对 17 种化合物对照品进行最大吸收光谱扫描，得到最大吸收光谱图。16α-羟基松苓新酸、茯苓新酸 B、去氢土莫酸、茯苓新酸 A、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、茯苓新酸 BM、茯苓新酸 AM、去氢茯苓酸、松苓新酸、去氢依布里酸在 245 nm 左右有最大吸收峰；土莫酸、茯苓新酸 G、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、茯苓酸、栓菌酸、依布里酸在 202 nm 左右有最大吸收峰。对比 17 种化合物混合对照品溶液 195、210、220 和 245 nm 4 个波长下采集的色谱图，发现 220 nm 波长下茯苓新酸 A 和土莫酸分离效果较差，茯苓新酸 A 与土莫酸和茯苓新酸 G 保留时间较为接近不便于确定切换波长的时间点，且茯苓新酸 A、去氢茯苓酸和松苓新酸在 210 nm 下也有响应，因此选择 210 nm 和 245 nm 变波长法测定 17 种化合物。

2.1.3 色谱柱和柱温的优化

本研究测试了常用的 3 种色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、Waters XBridge C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm)和 Agilent 5TC C_{18} (2) (4.6 mm×250 mm, 5 μm)。



注：1. 16α-羟基松苓新酸；2. 茯苓新酸 B；3. 去氢土莫酸；4. 土莫酸；5. 茯苓新酸 A；6. 茯苓新酸 G；7. 猪苓酸 C；8. 3-表去氢土莫酸；9. 茯苓新酸 BM；10. 茯苓新酸 AM；11. 3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸；12. 去氢茯苓酸；13. 茯苓酸；14. 松苓新酸；15. 栓菌酸；16. 去氢依布里酸；17. 依布里酸，图 2 同。

图 1 17 种三萜酸化合物对照品溶液和供试品溶液色谱图

Fig.1 Chromatograms of reference standard solution and solution for testing product for 17 kinds of triterpenic acid compounds

在其他分离条件相同时, Agilent 5TC C_{18} (2)柱土莫酸、茯苓新酸 A 和茯苓新酸 G 分离效果比 Agilent ZORBAX SB-C_{18} 柱和 Waters XBridge C_{18} 柱好。测试了柱温 20、30 和 40 ℃时的分离效果, 结果显示 20 ℃时土莫酸、茯苓新酸 A 和茯苓新酸 G 能实现基线分离, 同时其他化合物分离效果较好。因此选择 Agilent 5TC C_{18} (2) (4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱, 柱温为 20 ℃。

2.2　样品前处理方法优化

分别取茯苓样品细粉 5 g, 置具塞锥形瓶中, 考察不同提取溶液(50%甲醇、甲醇、无水乙醇、95%乙醇)对含量结果的影响, 结果发现甲醇的提取含量最高, 其余 3 种提取溶剂提取含量略低, 因此选择甲醇为提取溶剂, 结果详见图 2。考察不同提取方式(超声提取、回流提取)结果表明提取时间相同(30 min)时超声提取的含量比回流提取的略高, 且超声提取操作较回流提取简便, 因此选择超声提取的方式。通过对不同提取时间(15、30、60 min)进行考察, 结果表明超声 30 min 以上提取效率并无显著提高, 因此选择提取时间为 30 min。通过对不同溶剂用量(15、25、50 mL)进行考察, 发现溶剂用量 15 mL 时对样品浸泡效果较溶剂用量 25 mL 略差, 溶剂用量 50 mL 时含量较低的化合物如去氢依布里酸和依布里酸会出现低于检出限的情况, 因此选择溶剂用量 25 mL。最终选择 25 mL 甲醇超声处理 30 min 作为前处理方法, 提取效率最高。

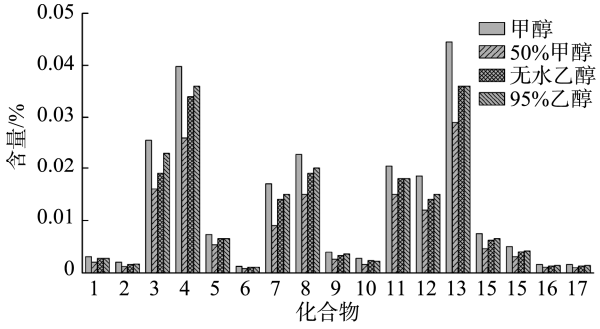


图 2　不同提取溶剂对 17 种化合物提取结果的影响

Fig.2　Effects of extraction solvents on the extraction results of 17 kinds of compounds

2.3　方法学验证结果

2.3.1　线性关系考察及检出限、定量限测定

分别精密吸取混合对照品溶液 1、5、10、20、30、40 μL[24,30], 注入高效液相色谱仪, 按照 1.3.1 项色谱条件, 测定对照品的色谱峰面积。以各对照品进样量(X, ng)对相应峰面积(Y)进行回归处理, 得 17 种化合物的回归方程和线性范围。以 3 倍信噪比(S/N)计算检出限, 以 10 倍信噪比(S/N)计算定量限。结果见表 1, 表明 17 种化合物在各自范围内线性关系良好(r>0.999)。检出限为 0.343~2.839 μg/mL, 定量限为 1.143~9.462 μg/mL, 满足检测要求。

2.3.2　精密度、重复性及稳定性

精密吸取混合对照品溶液 20 μL, 按照 1.3.1 项色谱条件连续进样 6 次, 记录各色谱峰面积, 并计算 RSDs。取编号为 S25 的茯苓样品, 按照 1.3.3 项方法平行制备 6 份样品溶液, 按照 1.3.1 项色谱条件, 分别进样测定, 每次进样 20 μL, 计算各化合物的含量及各色谱峰面积的 RSDs。取编号为 S25 的茯苓样品, 按照 1.3.3 项方法制备样品溶液, 室温放置, 于 0、2、4、8、12、24 h, 按照 1.3.1 项色谱条件, 分别进样测定, 每次进样 20 μL, 计算各色谱峰面积的 RSDs。结果见表 1, 精密度、重复性和稳定性 RSDs 均小于 5.0%, 表明仪器精密度良好, 方法重复性良好, 样品溶液室温放置 24 h 之内稳定性良好。

2.3.3　加标回收率

精密称取 2.5 g 已知 17 种化合物含量的茯苓样品 S25 置锥形瓶中, 分别精密加入 1.3.2 项下质量浓度为 0.5 mg/mL 的 17 种对照品单一储备溶液各 0.5 mL, 精密加入甲醇 16.5 mL, 称定重量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 得到添加水平为 100 mg/kg 的加标回收样品, 按照上述方法平行制备 6 份加标回收样品溶液, 按照 1.3.1 项色谱条件, 分别进样测定, 每次进样 20 μL, 根据各色谱峰面积计算各化合物的平均加标回收率和回收率 RSDs。结果见表 1, 17 种化合物的加标回收率为 80.9%~92.5%, 均大于 80.0%, RSDs 均小于 5.0%, 表明方法回收率良好。

2.4　茯苓样品的测定

按照 1.3.3 项前处理方法和 1.3.1 项色谱条件对收集到的不同产地共 30 批次茯苓样品进行 17 种化合物含量的测定。将各化合物含量进行分析, 17 种化合物的含量范围差异见图 3, 其中茯苓酸含量最高, 其次为 3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢土莫酸、土莫酸、去氢茯苓酸, 依布里酸、茯苓新酸 BM 和茯苓新酸 AM 含量最低。茯苓酸、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢土莫酸、去氢茯苓酸含量差异较大, 是茯苓三萜酸中的差异性化合物。

将 30 批茯苓药材中 15 种化学成分(因茯苓新酸 AM 和茯苓新酸 BM 两个化合物只有 2 批次样品有检出, 因此未参与此分析)的含量数据导入 Origin 2018 和 SIMCA 14.1 软件中, 进行层次 HCA 和 PCA。HCA 结果如图 4 所示, 当欧氏距离为 10 时, 茯苓样品可聚为 3 类, S1、S3、S5、S7~S30 为第 1 类, S2、S4 为第 2 类, S6 为第 3 类。对 30 批样品进行 PCA, 显示以主成分特征值大于 1 为提取标准, 共得到 3 个主成分, 方差贡献率分别为 53.2%、21.1%、13.8%, 累积方差贡献率为 88.1%, 表明这 3 个主成分可大致反映整体化学成分信息。从表 2 可得出, 主成分 1 包括 16α-羟基松苓新酸、茯苓新酸 B、茯苓新酸 A、茯苓新酸 G、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、茯苓酸、松苓新酸、栓菌酸、去氢依布里酸、依布里酸, 茯苓新酸 A 和猪苓酸 C 是对其贡献最大的两个成分; 主成分 2 包括土莫酸和去氢土莫酸, 其中土莫酸贡献最大; 主成分 3 为去氢茯苓酸。对 17 种化合物分别进行产地方差分析, 17 种化合物均未表现明显的产地差异。

表 1 茯苓中 17 种三萜酸化合物方法学验证结果

Table 1 Methodology validation results of 17 kinds of triterpenicacid compounds in *Poria cocos*

化合物编号	化合物名称	线性方程	相关系数(r)	线性范围/ng	检出限/(μg/mL)	定量限/(μg/mL)	精密度 RSDs/%	重复性 RSDs/%	稳定性 RSDs/%	平均回收率/%	回收率 RSDs/%
1	16α-羟基松苓新酸	Y=8.0388X–2.1327	0.9997	5.3~210.0	0.343	1.143	0.17	4.83	0.51	86.7	3.21
2	茯苓新酸 B	Y=26.809X+1.4518	1.0000	20.5~820.0	0.449	1.498	0.15	4.18	0.63	90.6	2.56
3	去氢土莫酸	Y=116.04X+3.4865	1.0000	72.4~2895.0	0.424	1.412	0.27	2.29	0.40	82.8	0.90
4	土莫酸	Y=32.885X–4.6363	0.9999	52.4~2096.0	1.235	4.115	0.26	3.10	0.29	87.4	1.47
5	茯苓新酸 A	Y=5.0226X–2.7602	0.9963	10.5~418.0	1.507	5.022	0.96	1.93	0.42	86.4	3.42
6	茯苓新酸 G	Y=12.426X+1.3634	1.0000	10.2~408.0	0.673	2.245	0.05	3.41	0.86	87.9	2.67
7	猪苓酸 C	Y=47.761X+2.4621	1.0000	25.4~1017.0	0.435	1.451	0.12	2.07	0.94	92.5	1.08
8	3-表去氢土莫酸	Y=31.754X–0.7386	0.9999	36.1~1443.0	0.856	2.855	0.07	2.04	0.68	88.3	1.08
9	茯苓新酸 BM	Y=7.0594X–2.0316	0.9992	5.2~206.4	0.518	1.725	0.13	3.81	0.72	87.3	1.82
10	茯苓新酸 AM	Y=7.5616X–2.1042	0.9997	5.1~202.9	0.477	1.591	0.13	3.91	0.74	92.3	2.31
11	3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸	Y=17.792X+1.3570	1.0000	51.3~2051.0	2.839	9.462	2.90	4.30	0.08	80.9	1.08
12	去氢茯苓酸	Y=16.141X+0.4136	1.0000	40.8~1630.0	2.254	7.514	0.31	1.89	0.41	88.5	1.23
13	茯苓酸	Y=28.219X+1.4914	1.0000	42.2~1688.0	1.143	3.809	0.08	2.05	0.35	83.9	1.52
14	松苓新酸	Y=13.261X+1.2508	1.0000	15.2~609.0	0.770	2.568	0.30	4.98	0.26	86.1	4.21
15	栓菌酸	Y=10.998X–0.0588	1.0000	10.4~416.0	0.601	2.005	0.21	4.60	0.63	83.6	2.49
16	去氢依布里酸	Y=3.1105X–0.0280	1.0000	3.0~121.0	0.585	1.950	0.35	3.83	0.41	87.0	3.14
17	依布里酸	Y=2.3155X+1.1709	0.9999	3.0~122.0	0.568	1.892	1.07	3.64	0.52	91.3	2.64

注：相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

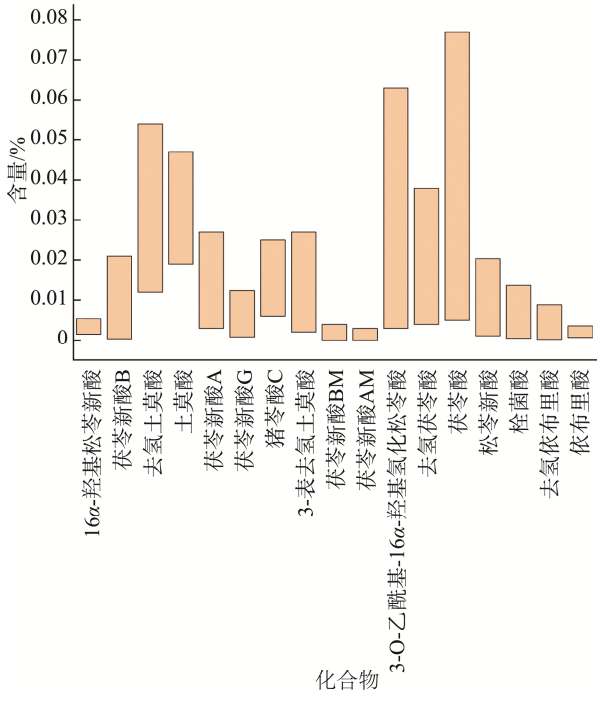


图 3 17 种三萜酸化合物含量范围差异图

Fig.3 Content range discrepancy diagram of 17 kinds of triterpenic acid compounds

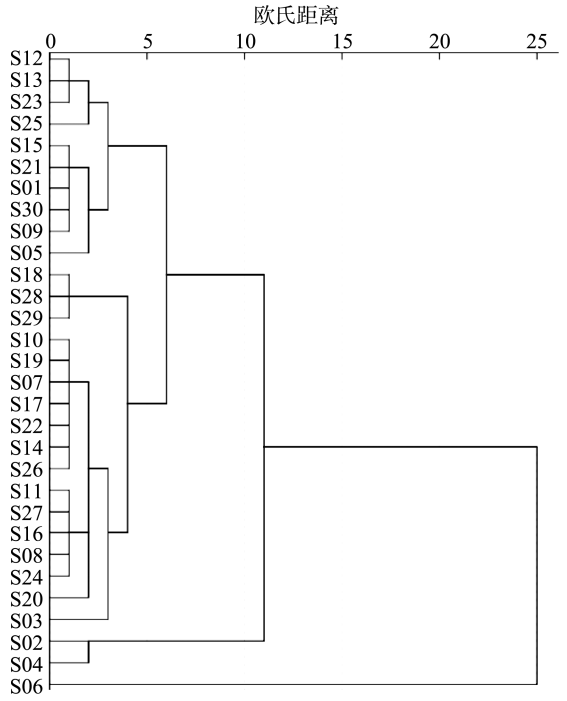


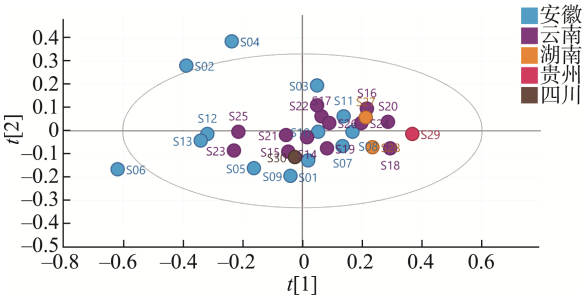
图 4 30 批次茯苓样品 HCA 图

Fig.4 HCA diagram of 30 batches of *Poria cocos* samples

表 2　17 种三萜酸化合物因子载荷矩阵表
Table 2　Factor loading matrix table of 17 kinds of triterpenic acid compounds

成分	载荷		
	1	2	3
16α-羟基松苓新酸	0.812	0.462	0.160
茯苓新酸 B	0.877	–0.399	–0.071
去氢土莫酸	–0.390	0.653	0.561
土莫酸	–0.073	0.798	0.342
茯苓新酸 A	0.902	–0.001	–0.252
茯苓新酸 G	0.591	–0.006	–0.553
猪苓酸 C	0.898	–0.292	0.184
3-表去氢土莫酸	0.763	–0.476	0.266
3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸	0.878	–0.355	0.009
去氢茯苓酸	0.440	–0.100	0.860
茯苓酸	0.748	–0.383	0.509
松苓新酸	0.742	0.520	–0.346
栓菌酸	0.864	0.379	–0.049
去氢依布里酸	0.733	0.511	–0.115
依布里酸	0.692	0.683	–0.033

PCA 结果与 HCA 结果基本一致，均显示 30 批次茯苓样品的 15 种三萜酸化合物总量与产地相关性不明显，结果见图 5。



注：数据以平均值呈现(n=2)。
图 5　30 批次茯苓样品 PCA 得分图
Fig.5　PCA score diagram of 30 batches of *Poria cocos* samples

3　结　论

本研究采用换波长的 HPLC 建立了同时并快速检测茯苓中 16α-羟基松苓新酸、茯苓新酸 B、去氢土莫酸、土莫酸、茯苓新酸 A、茯苓新酸 G、猪苓酸 C、3-表去氢土莫酸、茯苓新酸 BM、茯苓新酸 AM、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢茯苓酸、茯苓酸、松苓新酸、栓菌酸、去氢依布里酸、依布里酸共 17 种三萜酸化合物的含量测定方法，经方法学验证，该方法精密度、准确性及加标回收率结果均符合要求，可用于检测茯苓中 17 种三萜酸化合物的含量测定。同时对检测的 30 批次样品进行了结果分析，结果显示茯苓酸、3-O-乙酰基-16α-羟基氢化松苓酸、去氢土莫酸、去氢茯苓酸为茯苓三萜酸中的差异性化合物；聚类分析得到 3 个主成分，主成分 1 中茯苓新酸 A 和猪苓酸 C 是对其贡献最大的两个成分，主成分 2 中土莫酸贡献最大；主成分 3 为去氢茯苓酸。为后期以三萜酸化合物为茯苓质量优劣的含量测定指标提供了方法研究基础。

参考文献

[1] 金剑，钟灿，谢景，等. 我国茯苓炮制加工和产品研发现状与展望[J]. 中国现代中药, 2020, 22(9): 1441–1446.
JIN J, ZHONG C, XIE J, *et al*. Processing technology and products of *Poria cocos* in China [J]. Modern Chinese Medicine, 2020, 22(9): 1441–1446.

[2] 黎智，廖雯訢，马彦红，等. 茯苓药材现代应用及分析[J]. 中国现代中药, 2023, 25(4): 900–906.
LI Z, LIAO WX, MA YH, *et al*. Modern application and analysis of *Poria* [J]. Modern Chinese Medicine, 2023, 25(4): 900–906.

[3] 董晓旭，刘艺，蔡梦茹，等. 经典名方中茯苓的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 176–181.
DONG XX, LIU Y, CAI MR, *et al*. Herbal textual research of *Poria* in famous classical formulas [J]. Chinese Journal of Experiment Traditional Medical Formulae, 2021, 27(12): 176–181.

[4] 叶青，刘东升，王兰霞，等. 茯苓化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 中医药信息, 2023, 40(2): 75–79.
YE Q, LIU DS, WANG LX, *et al*. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and quality control of *Poria cocos* [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2023, 40(2): 75–79.

[5] TETSURO S, TAKAAKI T, AKIRA A. A lanostane triterpenoid from *Poria cocos* [J]. Phytochemistry, 1992, 31(7): 2548–2549.

[6] 张年，李兆星，李娟，等. 茯苓的化学成分与生物活性研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(2): 220–233.
ZHANG N, LI ZX, LI J, *et al*. Advances in the research of constituents and pharmacological effects of *Poria cocos* (Schw.) Wolf [J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2019, 21(2): 220–233.

[7] MOTOHIKO U, TOSHIHIRO A, HARUKUNI T, *et al*. Inhibition of tumor-promoting effects by poricoic acids G and H and other lanostane-type triterpenes and cytotoxic activity of poricoic acids A and G from *Poria cocos* [J]. Journal of Natural Products, 2002, 65(4): 462–465.

[8] TOSHIHIRO A, EMIKO U, TAKASHI K, *et al*. Anti-tumor-promoting effects of 25-methoxyporicoic acid A and other triterpene acids from *Poria cocos* [J]. Journal of Natural Products, 2009, 72(10): 1786–1792.

[9] 程玥，丁泽贤，张越，等. 茯苓多糖及其衍生物的化学结构与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(18): 4332–4340.
CHENG Y, DING ZX, ZHANG Y, *et al*. Research progress on chemical structures and pharmacological activities of *Poria cocos* polysaccharide and its derivatives [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(18): 4332–4340.

[10] WANG DD, HUANG CG, ZHAO Y, *et al*. Comparative studies on polysaccharides, triterpenoids, and essential oil from fermented mycelia and cultivated sclerotium of a medicinal and edible mushroom, *Poria cocos* [J]. Molecules, 2020, 25: 1269.

[11] 王斐, 朱镇华. GEO 基因芯片结合网络药理学和分子对接技术探讨人参-茯苓-白术配伍治疗鼻咽癌作用机制及验证[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(1): 24–31.
WANG F, ZHU ZH. Discussion on mechanism and verification of *Ginseng Radix* et Rhizoma-*Poria-Atractylodis macrocephalae* Rhizoma in the treatment of nasopharyngeal carcinoma by GEO gene microarray combined with network pharmacology and molecular docking technology [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2023, 30(1): 24–31.

[12] YOKOYAMA A, NATORI S, AOSHIMA K. Distribution of tetracyclic triterpenoids of lanostane group and sterols in the higher fungi especially of the polyporaceae and related families [J]. Phytochemistry, 1975, 14(2): 487–497.

[13] 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2703–2717.
DENG TM, PENG DY, YU NJ, *et al*. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Poria cocos* and predictive analysis on quality markers [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(10): 2703–2717.

[14] 马艳春, 范楚晨, 冯天甜, 等. 茯苓的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2021, 49(12): 108–111.
MA YC, FAN CC, FENG TT, *et al*. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of *Poria cocos* [J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2021, 49(12): 108–111.

[15] LIU W, DENG SP, ZHOU DX, *et al*. 3,4-Seco-dammarane triterpenoid saponins with anti-inflammatory activity isolated from the leaves of *Cyclocarya paliurus* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(7): 2041–2053.

[16] YUE S, FENG X, CAI YS, *et al*. Regulation of tumor apoptosis of poriae cutis derived lanostane triterpenes by AKT/PI3K and MAPK signaling pathways *in vitro* [J]. Nutrients, 2023, 15: 4360.

[17] 闫菲, 史云, 赵琦, 等. 基于网络药理学探讨桂枝茯苓丸治疗子宫内膜异位症的作用机制[J]. 世界中医药, 2022, 17(1): 55–61.
YAN F, SHI Y, ZHAO Q, *et al*. network pharmacology analysis on mechanism of Guizhi Fuling pills in treatment of endometriosis [J]. World Chinese Medicine, 2022, 17(1): 55–61.

[18] 柯昌虎, 黎鑫, 戢太阳, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨黄芪-白术-茯苓配伍治疗乳腺癌的作用机制[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2022, 31(6): 669–679, 694.
KE CH, LI X, JI TY, *et al*. Research on the mechanism of astragalus membranaceus-atractylodes macrocephalae-*Poria cocos* in treatment of breast cancer based on network pharmacology and molecular docking [J]. Journal of Yunnan Minzu University (Natural Sciences Edition), 2022, 31(6): 669–679, 694.

[19] 张先淑, 饶志刚, 胡先明, 等. 茯苓总三萜对小鼠肝损伤的预防作用[J]. 食品科学, 2012, 33(15): 270–273.
ZHANG XS, RAO ZG, HU XM, *et al*. Preventive effect of triterpenes from *Poria cocos* on liver injury in mice [J]. Food Science, 2012, 33(15): 270–273.

[20] MA J, LIU J, LU CW, *et al*. Pachymic acid induces apoptosis via activating ROS-dependent JNK an ER stress pathways in lung cancer cells [J]. Cancer Cell International, 2015, 15(1): 78–79.

[21] BAO TG, LONG GQ, WANG Y, *et al*. New lanostane-type triterpenes with anti-inflammatory activity from the epidermis of *Wolfiporia cocos* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(14): 4418–4433.

[22] 崔仙红, 张鹏, 朱笛, 等. 不同产地茯苓及茯苓皮中总三萜含量比较[J]. 河南中医, 2020, 40(12): 1926–1929.
CUI XH, ZHANG P, ZHU D, *et al*. Comparison of total triterpenoids content in Fuling and Fulingpi from different habitats [J]. Henan Triaditional Chinese Medicine, 2020, 40(12): 1926–1929.

[23] 占慧慧, 黄丹, 邓丹, 等. 基于一测多评策略的茯苓不同部位三萜酸分析研究[J]. 药物分析杂志, 2023, 46(3): 1061–1074.
ZHAN HH, HUANG D, DENG D, *et al*. Triterpenes analysis in different parts of *Poria cocos* by QAMS [J]. Chinese Journal of Pharmaceutial Analysis, 2023, 46(3): 1061–1074.

[24] 徐雨生, 袁定阳, 刘玲, 等. 茯苓 HPLC 指纹图谱的建立及三萜酸含量测定[J]. 湖北农业科学, 2022, 61(15): 199–203.
XU YS, YUAN DY, LIU L, *et al*. Establishment of HPLC fingerprint of *Poria cocos* and determination of triterpene acid content [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2022, 61(15): 199–203.

[25] 万鸣, 黄超, 陈树和, 等. 替代对照品法同时测定茯苓中多种三萜酸类成分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(3): 265–271.
WAN M, HUANG C, CHEN SH, *et al*. Simultaneous determination of triterpenoid acids in *Poria cocos* by substituting reference substance method [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2023, 43(3): 265–271.

[26] 余正勇, 徐雨生, 赵宁东, 等. 不同干燥方式对茯苓药材中三萜类及茯苓酸含量的影响[J]. 湖北农业科学, 2024, 63(1): 148–152.
YU ZY, XU YS, ZHAO ND, *et al*. Effects of different drying methods on the contents of triterpenes and pachymic acid of *Poria cocos* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2024, 63(1): 148–152.

[27] 潘馨, 董芳妮, 陈艺涵, 等. 茯苓中 6 个活性成分含量的 TOPSIS 综合分析法考察[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 559–561.
PAN X, DONG FN, CHEN YH, *et al*. Analysis of six active components in *Poria cocos* by TOPSIS method [J]. Journal of Li-shizhen Traditional Chinese Medicine, 2021, 32(3): 559–561.

[28] 孙明月. UPLC-Q-TOF 定性定量检测云南省茯苓主要三萜酸类化合物方法建立及云南茯三萜酸类化合物含量分析[D]. 大理: 大理大学, 2024.
SUN MY. Establishment of UPLC-Q-TOF method for qualitative and quantitative determination of main triterpene acids in *Wolfiporia cocos* in Yunnan Province and content analysis of triterpene acids in *Wolfiporia cocos* in Yunnan [D]. Dali: Dali University, 2024.

[29] 吕倩, 焦明娜, 武琴园, 等. UPLC-MS/MS 法测定茯苓、茯苓皮和茯神中茯苓新酸 B、去氢土莫酸、猪苓酸 C、去氢茯苓酸和茯苓酸[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(3): 566–570.
LV Q, JIAO MN, WU QY, *et al*. Determination of poricoic acid B, dehydrotumulosic acid, polyporenic acid C, dehydropachymic acid, and pachymic acid in *Poria*, *Poria* peel, and *Poria* with hostwood by UPLC-MS/MS [J]. Drug and Clinic, 2023, 38(3): 566–570.

[30] 万鸣, 黄超, 杨玉莹, 等. 不同产地茯苓中 7 种三萜类成含量的测定及聚类分析[J]. 中国药房, 2020, 31(17): 2101–2106.
WAN M, HUANG C, YANG YY, *et al*. Content determination and cluster analysis of 7 kinds of triterpenes in *Poria cocos* from different habitats [J]. China Pharmacy, 2020, 31(17): 2101–2106.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)