

板蓝根中红细胞凝集效应组分的谱效关系研究

孙 琴¹, 马 丽², 李 兰¹, 胡晓燕¹, 姜 黎¹, 肖小河^{3*}

1. 泸州医学院药学院, 四川 泸州 646000

2. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069

3. 解放军 302 医院全军中药研究所, 北京 100039

摘要: 目的 研究板蓝根的红细胞凝集活性成分。方法 对板蓝根药材进行系统化学部位分离, 采用红细胞凝集活性检测方法探讨各化学部位的抗病毒活性; 针对活性最强的部位建立 10 批不同产地样品的 HPLC 指纹图谱并进行生物测定, 运用数理统计方法研究谱效相关性。结果 板蓝根正丁醇萃取部位对家兔红细胞的凝集作用最强; 谱效相关性研究发现 2 号、11 号共有峰 (保留时间分别为 7.23、43.00 min) 的相对峰面积所占比例越大, 样品的凝集作用也越强。结论 2 号、11 号峰可能为板蓝根抗病毒作用的特征峰, 所建立的板蓝根 HPLC 特征图谱与药效作用的关系, 可为建立“指纹图谱与药效关联”的中药质量控制模式提供理论依据和数据支持。

关键词: 板蓝根; 凝集活性; 指纹图谱; 谱效关系; 抗病毒活性

中图分类号: R284.2; 286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)01-0125-06

Spectrum-activity relationship of hemagglutination components in *Isatidis Radix*

SUN Qin¹, MA Li², LI Lan¹, HU Xiao-yan¹, JIANG Li¹, XIAO Xiao-he³

1. Department of Pharmacy, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

3. PLA Institute of Chinese Materia Medica, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China

Abstract: Objective To study the active components in *Isatidis Radix* with agglutination effect on red blood cells. **Methods** The different extracts from *Isatidis Radix* were obtained by the means of systematic solvent extraction and their antiviral activity was studied by hemagglutination test. The HPLC fingerprints of the most active extracts from *Isatidis Radix* were established and also the extracts were bioassayed. The spectrum-activity relationship of the extracts was studied by mathematical statistics method. **Results** The *n*-butanol extracts had the best agglutination effect on red blood cells of the rabbit. The study on the spectrum-activity relationship of the extracts found that the greater the proportional area of common peaks 2 and 11 (retention time were 7.23 and 43.00 min) of the extracts had, the stronger the agglutination effect of the extracts had. **Conclusion** Common peaks 2 and 11 could be characteristic peak for anti-virus activity of *Isatidis Radix*. The spectrum-activity relationship of *Isatidis Radix* established could provide the theoretical basis and the data support for the pattern of quality control of Chinese materia medica.

Key words: *Isatidis Radix*; agglutinate activity; fingerprint; spectrum-activity relationship; antiviral activity

板蓝根为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根, 为临床常用抗病毒中药。近年来药理研究表明, 板蓝根具有红细胞凝集活性, 并且红细胞凝集活性的产生与抑制流感病毒、免疫应答及抗肿瘤等有关。抗病毒活性作为板蓝根的主要药效作用, 其目前的测定方法有鸡胚感染-血凝滴度法、

神经氨酸酶活性测定法等, 但此类方法需要用病毒做载体, 而根据抗病毒血凝滴度法改进的药物红细胞凝集活性微量板检测法与流感病毒神经氨酸酶抑制活性测定结果之间相关性良好, 且方法简便、安全^[1-4]。因此, 本研究采用红细胞凝集试验探讨板蓝根的抗病毒作用, 采用 HPLC 法研究板蓝根中红细

收稿日期: 2011-06-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873381, 30701091)

作者简介: 孙 琴 (1976—), 女, 四川省泸州市人, 副教授、博士、硕士生导师, 主要从事中药品质评价与中药制剂等学科方向的教学、科研工作。Tel: (0830)3162291 E-mail: sdy-0502@126.com

*通讯作者 肖小河 Tel: (010)66933322 E-mail: pharmacy302@126.com

胞凝集活性部位的指纹图谱,并运用数理统计方法将药效学信息与 HPLC 指纹图谱化学信息进行相关性研究,以期表征板蓝根的红细胞凝集效应组分,并建立谱效研究寻找板蓝根抗病毒活性成分的研究思路。

1 仪器与材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(包括在线脱气机、自动进样器、DAD 检测器、柱温箱、Agilent ChemStation 色谱工作站)、色谱柱为 Waters Sunfire™ C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国 Waters 公司), 52A 医用离心机(河北省安新县白洋离心机厂), KQ—300GDV 超声清洗器(北京恒奥生物科技有限公司), 电子精密天平 JA1003(南京庚辰科学仪器有限公司)。

板蓝根药材样品共 10 批,于实地采集或购于各地药材公司或市场,药材来源见表 1,均由解放军 302 医院全军中药研究所肖小河研究员鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。靛玉红对照品(批号 110717-200204)由中国药品生物制品检定所提供,表告依春(质量分数大于 98%)由成都瑞芬思生物制品有限公司提供;2,4(1H, 3H)-喹唑啉二酮(质量分数大于 98%)由常州市兰明科技有限公司提供;乙腈、甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为市售分析纯。

磷酸盐缓冲液(PBS):取磷酸氢二钠 57.996 g、磷酸二氢钠 5.928 g,加水溶解并稀释至 1 L (pH 7.4

左右),分装灭菌,放冷,4 °C 保存备用。阿氏液(Alsever's Solution):取枸橼酸 0.55 g、枸橼酸钠 8.0 g、葡萄糖 20.5 g、氯化钠 4.2 g,加水溶解并稀释至 1 L (pH 6.2 左右),分装灭菌,放冷,4 °C 保存备用。红细胞悬液:取家兔血数毫升,与等体积的阿氏液混合,用适量 PBS 洗涤 3 次,前 2 次以 2 000 r/min 离心 5 min,末次以 2 000 r/min 离心 10 min,取压积红细胞适量,用 PBS 制成 1%红细胞混悬液,于 4 °C 保存备用。

普通级健康家兔,雄性,体质量 2.0~2.5 kg,合格证号:SYXK(川)2008-065,由泸州医学院实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 红细胞凝集活性检测方法

参照文献方法^[5]进行血细胞凝集活性检测。

2.2 板蓝根不同极性部位对家兔红细胞的凝集试验

取板蓝根药材样品 1 号粉末(过 4 号筛)约 10 g,精密称定,置锥形瓶中,加 10 倍量水煎煮 3 次,每次 1 h,合并 3 次水煎液,浓缩至 400 mL,依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇按体积总量 1:1 进行萃取(少量多次),将 4 种萃取液和最后的萃余液浓缩,挥干,残渣加 PBS 溶解、定容至 10 mL,无菌滤过,取续滤液检测红细胞凝集活性,结果为正丁醇部位的凝集作用最强,见表 2。

表 2 板蓝根不同极性部位红细胞凝集活性检测结果
Table 2 Detection of erythrocyte agglutination activities on different polarity fractions from *Isatis Radix*

样品	阳性反应最高稀释倍数	凝集滴度 / U
石油醚部位	—	—
二氯甲烷部位	1×2 ⁰	—
醋酸乙酯部位	1×2 ⁻¹	2
正丁醇部位	1×2 ⁻⁴	8
萃余液	1×2 ⁻²	4

2.3 板蓝根正丁醇部位对家兔红细胞的凝集试验

2.3.1 10 批板蓝根正丁醇部位样品溶液的制备 分别取 10 批不同产地板蓝根药材样品粉末(过 4 号筛)约 10 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入正丁醇 100 mL,密塞,称定质量,放置 30 min,超声处理(功率 500 W,频率 25 kHz)60 min,收集正丁醇液,减压浓缩得干膏,加 PBS 溶解,定容至 10 mL,无菌滤过,滤液于 4 °C 保存备用,即得。

2.3.2 家兔红细胞凝集活性检测 分别取 10 批板

表 1 板蓝根来源

Table 1 *Isatis Radix* origins

样品	来源	产地	采收或购买时间
1	安徽阜阳白云山 GAP 基地	安徽阜阳	2006 年
2	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	河北祁新	2006 年
3	黑龙江三颗针药材市场	黑龙江大庆	2007 年
4	内蒙古赤峰市牛营子中药材市场	内蒙古赤峰	2007 年
5	山东临沂中药材市场	山东临沂	2007 年
6	安徽亳州中药材市场	安徽宿县	2007 年
7	山西新绛县中药材批发市场	山西绛县	2007 年
8	甘肃陇西中药材市场	甘肃庆阳	2007 年
9	甘肃陇西中药材市场	甘肃陇西	2006 年
10	河北安国中药材市场	河北高邑	2007 年

蓝根正丁醇部位样品溶液进行红细胞凝集活性检测, 结果见表 3。

表 3 10 批板蓝根正丁醇部位红细胞凝集活性检测结果
Table 3 Detection of erythrocyte agglutination activities on ten batches of *n*-butanol extracts from *Isatidis Radix*

样品	阳性反应最高稀释倍数	凝集滴度 / U	样品	阳性反应最高稀释倍数	凝集滴度 / U
1	1×2 ⁻⁹	18	6	1×2 ⁻⁷	14
2	1×2 ⁻⁹	18	7	1×2 ⁻¹	2
3	1×2 ⁻⁸	16	8	1×2 ⁻⁴	8
4	1×2 ⁻¹⁰	20	9	1×2 ⁻³	6
5	1×2 ⁻⁹	18	10	1×2 ⁻⁶	12

2.4 板蓝根正丁醇部位 HPLC 指纹图谱^[6]

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Waters Sunfire™ C₁₈ 柱 (250 mm×4.5 mm, 5 μm); 流动相为乙腈 (A) - 0.02% 磷酸水溶液 (B), 线性梯度洗脱, 洗脱程序: 0~5 min, 5% A; 5~90 min, 5%~80% A; 90~95 min, 80%~5% A; 检测波长 224 nm, 体积流量 0.6 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒定质量的表告依春、2, 4(1H, 3H)-喹唑啉二酮、靛玉红对照品适量, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用色谱醇甲醇溶解并稀释至刻度, 置超声波清洗器中混匀备用。取各对照品溶液适量, 置超声清洗器中混合均匀, 并经 0.45 μm 滤膜滤过, 即为混合对照品溶液 (其中表告依春为 0.22 mg/mL, 2, 4(1H, 3H)-喹唑啉二酮为 0.12 mg/mL, 靛玉红为 0.09 mg/mL)。

2.4.3 精密度试验 取同一供试品溶液 (样品 1 号), 连续进样 6 次, 测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 表明精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取同一供试品溶液 (样品 1 号), 每隔 4 h 进样 1 次, 测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 重现性试验 取同一批药材 (样品 1 号), 按“2.3.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在上述色谱条件下分别进样分析, 测得各色谱峰相对保留时间的 RSD 为 0.3%~0.9%, 相对峰面积的 RSD 为 1.12%~1.92%, 表明方法重现性良好。

2.4.6 样品测定 取不同产地板蓝根药材样品粉末 (过 4 号筛) 约 10 g, 精密称定, 按“2.3.1”项下方法制备 10 批供试品溶液。分别精密吸取表告依春、2, 4(1H, 3H)-喹唑啉二酮、靛玉红的混合对照品溶液及各供试品溶液 20 μL, 在“2.4.1”项色谱条件下进行测定。以表告依春为参比峰, 以各色谱峰与参比峰的相对保留时间为定性参数, 计算各共有峰与参比峰的相对峰面积, 结果见表 4; 10 批板蓝根正丁醇部位样品的色谱图 (图 1) 共确定了 13 个共有峰, 其保留时间依次为 5.83、7.23、7.97、12.49、13.67、22.45、24.36、25.33、31.54、38.86、43.00、51.57、70.32 min; 经与对照品对照, 指认了其中 3 个色谱峰, 分别为表告依春 (6 号)、2, 4(1H, 3H)-喹唑啉二酮 (8 号)、靛玉红 (13 号), 表告依春的峰位记为 S, 以 2 号样品的 HPLC 指纹图谱作为示范图谱, 见图 2。

表 4 10 批板蓝根正丁醇部位样品共有峰相对峰面积 (n=3)

Table 4 Relative peak areas for common peaks of ten batches of *n*-butanol extracts from *Isatidis Radix* (n = 3)

样品	共有峰相对峰面积												
	1	2	3	4	5	6 (S)	7	8	9	10	11	12	13
1	79.75	5.12	9.18	0.27	0.50	1.00	1.55	2.26	4.52	0.92	4.97	0.72	0.71
2	64.32	4.91	2.78	0.20	1.00	1.00	1.18	1.05	2.88	2.10	1.30	0.26	0.35
3	40.12	1.15	4.71	0.20	0.23	1.00	0.70	0.54	1.39	0.41	0.90	0.07	0.21
4	53.99	3.20	6.22	0.40	0.85	1.00	0.69	0.84	1.54	0.77	1.30	0.13	0.30
5	19.22	1.80	3.98	0.19	0.33	1.00	0.74	1.25	1.69	0.75	2.20	0.14	0.20
6	4.06	2.30	2.41	0.11	0.40	1.00	1.85	1.14	0.44	0.13	1.38	0.34	0.03
7	23.29	0.30	10.71	0.59	1.67	1.00	0.81	2.32	0.78	0.36	0.15	1.44	0.18
8	6.82	0.09	1.14	0.27	0.85	1.00	0.76	3.32	0.15	0.02	0.07	0.02	0.05
9	71.44	0.01	24.96	0.21	0.56	1.00	0.55	2.81	1.28	1.53	0.05	0.36	0.55
10	4.85	1.65	0.50	0.38	1.22	1.00	0.78	1.39	0.58	0.19	0.08	0.12	0.12

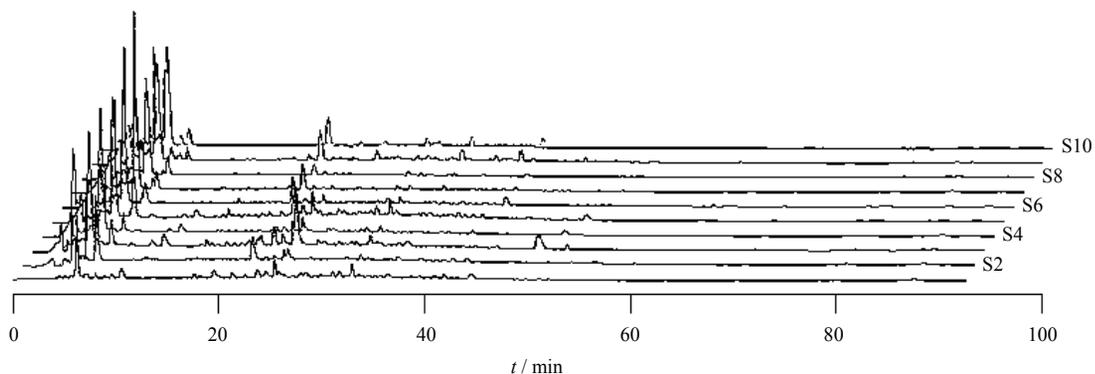
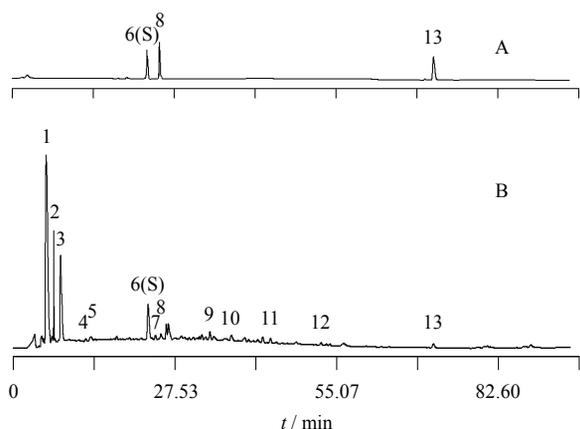


图 1 10 批不同产地板蓝根正丁醇部位的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms for ten batches of *n*-butanol extracts of *Isatidis Radix* from different habitats



6-表告依春 8-2, 4(1H, 3H)-喹唑啉二酮 13-靛玉红
6-epigoitrin 8-2, 4(1H, 3H)-quinazoline dione 13-indirubin

图 2 混合对照品 (A) 与板蓝根正丁醇部位 2 号样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms for mixed reference substances (A) and *n*-butanol extracts from *Isatidis Radix* sample 2 (B)

2.5 谱效相关研究^[7-9]

2.5.1 指纹图谱系统聚类分析 采用 Windows SPSS 13.0 统计分析软件对上述指纹图谱数据进行系统聚类分析 (相关系数法), 以共有峰峰面积值为变量, 横坐标为样品间的距离系数, 纵坐标为样品编号, 结果见图 3。凝集效价高的 (凝集滴度 ≥ 16 U) 聚为一类, 凝集效价低的 (凝集滴度 ≤ 6 U) 聚为一类, 凝集效价居中的 ($8 \text{ U} \leq \text{凝集滴度} \leq 14 \text{ U}$) 未能聚为一类。

2.5.2 主成分分析 以 10 批板蓝根正丁醇部位样品的 HPLC 指纹图谱为研究对象, 各共有峰峰面积参数依次用 1~13 表示, 以 Windows SPSS 13.0 统计软件进行主成分分析, 结果见表 5、6。

主成分分析结果表明第 1、2、3、4 个主成分的

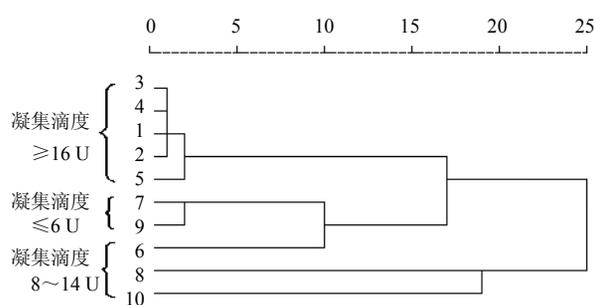


图 3 样品聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis diagram of samples

贡献率分别为 44.75%、18.86%、14.90%、7.40%，累计贡献率为 85.92%，即前 4 个主成分包含了原有变量 85% 以上的信息。系数的绝对值越大, 说明该主成分受该指标的影响也较大。因此, 决定第 1、第 2、第 3、第 4 主成分 (Z1~Z4) 大小的主要共有峰为 7、12、1、11 号峰, 其可较大程度地表征正丁醇提取部位的整体信息。

结合表 3、4 的检测数据做进一步分析, 发现对第 4 主成分贡献较大的 11 号以及 2 号峰与板蓝根的凝集作用关系较密切, 凝集效价随峰面积的增大呈现增强趋势, 而对第 1、第 2 主成分贡献最大的 7 号、12 号峰随峰面积的增大却呈现样品凝集效价降低的趋势, 因此, 以 2 号、11 号峰的相对峰面积之和与 7 号、12 号峰的相对峰面积之和的比值对样品凝集滴度作雷达图, 见图 4。

比较多个数据系列的雷达图可以看出: 2 号、11 号峰的相对峰面积之和与 7 号、12 号峰的相对峰面积之和的比值在 2.66~5.49, 样品凝血活性好 (即 1~5 号样品, 凝集滴度 ≥ 16 U); 比值在 1.68~1.92, 样品凝血活性次之 (即 6、10 号样品, 凝集滴度分别为 12、14 U); 比值在 0.07~0.21, 样品凝血活性差 (即 7、8、9 号样品, 凝集滴度 ≤ 8 U)。上述信

表 5 主成分分析
Table 5 Principal component analysis

成分	初始特征根值			抽取主成分特征根值		
	特征根值	贡献率 / %	累计贡献率 / %	特征根值	贡献率 / %	累计贡献率 / %
1	5.818	44.751	44.751	5.818	44.751	44.751
2	2.451	18.856	63.607	2.451	18.856	63.607
3	1.937	14.903	78.511	1.937	14.903	78.511
4	0.963	7.404	85.915	0.963	7.404	85.915
5	0.856	6.587	92.501			
6	0.615	4.727	97.229			
7	0.218	1.679	98.908			
8	0.119	0.919	99.827			
9	0.022	0.173	100.000			
10	3.105×10^{-16}	2.388×10^{-15}	100.000			
11	6.665×10^{-17}	5.127×10^{-16}	100.000			
12	-7.917×10^{-17}	-6.090×10^{-16}	100.000			
13	-3.475×10^{-16}	-2.673×10^{-15}	100.000			

提取方法: 主成分分析

Extraction method: principal component analysis

表 6 相关矩阵
Table 6 Correlation matrix

变量	成分			
	1	2	3	4
1	-0.119	0.087	-0.872	0.136
2	-0.596	-0.468	0.492	-0.338
3	0.473	0.632	-0.503	-0.096
4	0.915	-0.311	0.106	-0.104
5	0.935	-0.238	0.172	-0.145
6	0.894	0.195	0.283	0.144
7	0.939	0.014	0.171	0.143
8	0.894	-0.259	-0.008	0.243
9	0.042	0.702	0.623	0.262
10	-0.382	0.642	0.084	-0.280
11	-0.619	0.035	0.141	0.704
12	0.533	0.729	0.027	-0.201
13	0.467	-0.360	-0.340	0.072

提取方法: 主成分分析

Extraction method: principal component analysis

息反映出 2 号峰与 11 号峰的相对峰面积在 4 个主成分峰中所占比例越大, 样品的凝集作用也越强, 提示 2 号、11 号峰 (保留时间分别为 7.23、43.00 min) 与板蓝根红细胞凝集作用相关性强, 可能为板蓝根抗病毒作用的特征指纹峰。

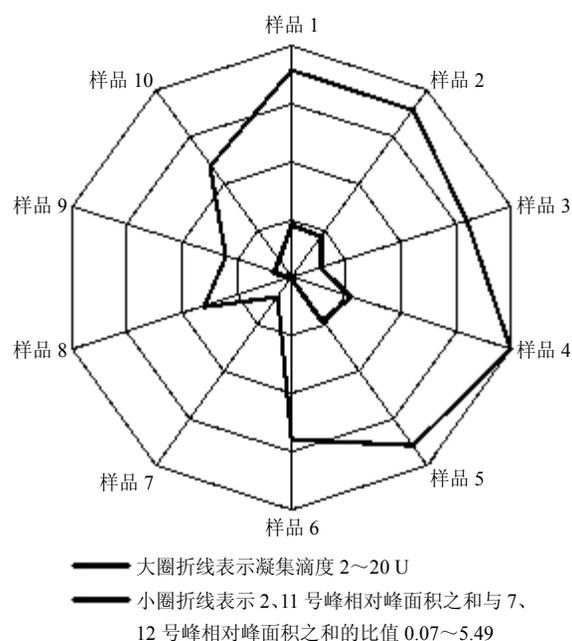


图 4 样品凝集滴度与主成分峰 (2、7、11、12 号峰) 相对峰面积比例关系的雷达图

Fig. 4 Radar chart of ratio between agglutination titer of samples and relative peak area of main components (2, 7, 11, and 12 peaks)

3 讨论

聚类分析结果表明, 凝集效价高的样品 (即 1~5 号样品, 凝集滴度 ≥ 16 U) 和凝集效价低的样品 (即 7 号、9 号样品, 凝集滴度 ≤ 6 U) 都分别较早

地聚为一类,这说明所建立的化学指纹图谱能在一定程度上表征板蓝根中红细胞凝集活性效应组分的特征信息;凝集效价居中的样品(即 6、8、10 号样品, $8\text{ U} \leq \text{凝集滴度} \leq 14\text{ U}$)未能聚在一起,但该结果也是正常、真实情况的反映,究其原因,可能与中药化学成分的复杂性、生物效价检测结果均有一定的可信限率等原因有关。

主成分分析是将多个变量通过线性变换以选出较少个数重要变量的一种多元统计分析方法。本研究在系统分层筛选的基础上,根据有效萃提物指纹图谱和药理药效试验指标,通过主成分分析从诸共有峰参数寻找特征参数,并进一步结合主成分峰的相对峰面积构成比以发掘能表达板蓝根红细胞凝集效应的内在的规律性的信息。本研究借助红细胞凝集与板蓝根抗病毒有较强的相关性而建立,但其准确性仍需反映临床疗效的药理实验进行验证。

中药药效物质辨识与中药质量控制一直是中药现代化研究的难点和热点问题^[10]。为了探寻中药药效物质与质量控制标准研究的突破,本课题组借鉴生物工程中“基因敲除”和“转基因”的研究策略,首次提出并开展“基于目标成分删/增的中药谱效关系”研究,并探索其在药效物质筛选中的应用,其基本思路是以中药谱效关系为切入点,通过系统研究指纹图谱信息与药效的相关性,重点选取指纹意义显著的特征峰和峰面积相对较大、较稳定的共有峰所对应的成分作为“目标成分”,并通过删除/增量目标成分(包括物质数、物质质量和组成比例等)以观察所产生的“结果”——药理作用或疗效的变化,寻找和确定中药主要药效物质,建立能真正表达“药效特征”的中药质量控制体系^[11]。本研究结果最终确立板蓝根 HPLC 特征图谱中 2 号、11 号峰(保留时间分别为 7.23、43.00 min)与板蓝根红细

胞凝集作用相关性强,可能为板蓝根抗病毒作用的特征指纹峰,可优先作为目标成分并用色谱、光谱或波谱联用技术对之进行解析;所建立的板蓝根 HPLC 特征图谱与药效作用的关系,可为建立“指纹图谱与药效关联”的中药质量控制模式提供理论依据和数据支持。

参考文献

- [1] 任永申, 鄢丹, 张萍, 等. 基于微量量热法检测板蓝根的红细胞凝集活性的评价研究 [J]. 药学报, 2010, 45(8): 1028-1034.
- [2] 李寒冰, 鄢丹, 王伽伯, 等. 基于神经氨酸酶活性检测的板蓝根品质的生物评价 [J]. 药学报, 2009, 44(2): 162-166.
- [3] 陈修平, 寻克丽, 王一涛. 中药复方药效物质基础的系统药理学评价 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 1-5.
- [4] 孙秀霞, 张丽莉, 孙翠兰. 板蓝根抗病毒有效部位研究 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(6): 835-836.
- [5] 唐慧英, 鄢丹, 张少锋, 等. 基于凝集活性检测的板蓝根颗粒质量生物测定方法研究 [J]. 药学报, 2010, 45(4): 479-483.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [7] 赵艳玲, 曹琳, 王伽伯, 等. 板蓝根正丁醇部位指纹图谱的聚类分析及抑菌活性相关分析 [J]. 中药材, 2005, 28(12): 1079-1082.
- [8] 容蓉, 吕青海, 巢剑非, 等. 山东不同产地丹参的 HPLC 指纹图谱-化学模式识别研究 [J]. 化学分析计量, 2008, 17(1): 24-28.
- [9] 刘荣华, 余伯阳, 陈兰英, 等. 山楂叶抗大鼠 PMN 呼吸爆发谱效关系研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(15): 1884-1889.
- [10] 肖小河, 金城, 鄢丹, 等. 中药大质量观及实践 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 505-508.
- [11] 肖小河, 鄢丹, 袁海龙, 等. 基于成分敲除/敲入的中药药效组分辨识与质量控制模式的商建 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1345-1348.