

补骨脂-肉豆蔻药对含药血清指纹图谱研究

高家荣¹, 徐双枝², 韩燕全¹, 魏良兵¹, 宋俊梅²

1. 安徽中医药大学第一附属医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 安徽 合肥 230031

2. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230038

摘要: **目的** 建立补骨脂-肉豆蔻药对含药血清指纹图谱并分析补骨脂-肉豆蔻药对的入血成分。**方法** 对20只SD大鼠分别ig 10个不同批次的补骨脂-肉豆蔻药对提取物, 采用UPLC法比较体外供试品、含药血清和空白血清指纹图谱, 分析其入血成分。**结果** 测定给药后入血成分并建立UPLC指纹图谱, 标出13个共有峰(相似度均在0.90以上), 其中10个峰来源于体外供试品中原型成分, 3个峰为代谢产物。**结论** 首次采用血清药物化学方法, 建立了补骨脂-肉豆蔻药对血清指纹图谱, 反映补骨脂-肉豆蔻药对口服给药吸收收入血情况, 为其体内药效物质研究奠定基础。

关键词: 补骨脂; 肉豆蔻; 药对; 血清指纹图谱; 超高效液相色谱

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)12-2401-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.007

Serum fingerprint of drug-couple *Psoralea corylifolia*-*Myristica fragrans*

GAO Jia-rong¹, XU Shuang-zhi², HAN Yan-quan¹, WEI Liang-bing¹, SONG Jun-mei²

1. The First Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Grade three Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparation, State Administration of TCM, Hefei 230031, China

2. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China

Abstract: **Objective** To establish the chromatographic fingerprint of components of drug-couple *Psoralea corylifolia*-*Myristica fragrans* (PC-MF) absorbed into blood by UPLC. **Methods** Twenty SD rats were administered with 10 different batches of PC-MF respectively. The UPLC profiles of serum samples were collected after treatment of PC-MF, blank serum samples and methanol extract were compared, and the transitional constituents to blood and their metabolites were analyzed. **Results** The fingerprint of PC-MF was established. Thirteen common peaks were identified and the similarities were over 0.90. The 10 peaks from the *in vitro* test were prototype components in the product, and three peaks were metabolites. **Conclusion** The serum fingerprint of PC-MF is established for the first time. It reflects the oral administration absorption into the blood and provides some data on pharmacodynamic basis study *in vivo* for PC-MF.

Key words: *Psoralea corylifolia* L.; *Myristica fragrans* Houtt.; drug-couple; serum fingerprint; UPLC

补骨脂和肉豆蔻两味中药组成的药对,最早出自宋·许叔微的《普济本事方》,具有温肾暖脾、涩肠止泻之功效^[1]。补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的主要活性成分为香豆素类、黄酮类及单萜酚类化合物^[2-4];肉豆蔻 *Myristica fragrans* Houtt. 中除富含挥发油、脂肪油非极性成分外,还包括苯丙素以及木脂素等其他极性成分^[5-7]。目前关于补骨脂、肉豆蔻的研究多为体外化学成分,而体内入血成分的研究较少。本课题组前期主要研究补骨脂-肉豆蔻药对配伍对化学成分的影响以及分析该药对

体外化学成分^[8-11],本实验在前期研究的基础上,采用UPLC法建立补骨脂-肉豆蔻药对体内分析方法,通过建立补骨脂-肉豆蔻药对血清指纹图谱,并与体外供试品图谱比较,研究血清移行成分,借以为探索补骨脂-肉豆蔻药对体内的药效成分提供参考。

1 仪器与材料

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠,体质量(305.5±19.5)g,购自安徽省实验动物中心,动物许可证号SCXK(皖)2011-002。

收稿日期: 2016-08-30

基金项目: 国家中医药重点学科临床中药学建设项目(国中医药人[2012]32号教发);安徽中医药大学科学研究基金项目(2015fy003);2016年度省卫生计生委中医药科研课题(2016zy80)

作者简介: 高家荣,男,硕士生导师,主任药师,研究方向为中药新药研发。Tel: 13075537705 E-mail: zyfygj2006@163.com

1.2 药物与试剂

对照品补骨脂素(批号 110739-201416, 质量分数 $\geq 99.9\%$)、去氢二异丁香酚(批号 111838-201403, 质量分数 $\geq 98.2\%$), 均购于中国食品药品检定研究院; 异补骨脂素(批号 PS13102201, 质量分数 $\geq 99.73\%$)、补骨脂甲素(批号 PS13111503, 质量分数 $\geq 99.89\%$)、补骨脂乙素(批号 PS13112802, 质量分数 $\geq 99.67\%$)、补骨脂宁(批号 PS13111301, 质量分数 $\geq 99.62\%$)、补骨脂酚(批号 PS15122101, 质量分数 $\geq 98.32\%$), 均购于成都普思生物科技股份有限公司; 甲醇(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 乙醚为分析纯; 水为屈臣氏蒸馏水。

补骨脂、肉豆蔻药材由安徽中医药大学第一附属医院中草药房提供, 均为道地药材(四川产盐补骨脂, 海南产麸煨肉豆蔻), 经安徽中医药大学第一附属医院李立华主任药师鉴定, 符合《中国药典》2015年版规定。将收集到3个不同批号的盐补骨脂与4个不同批号的麸煨肉豆蔻采用 SPSS 软件的随机数字法配伍形成10个不同批次的补骨脂-肉豆蔻药对(表1)。

表1 补骨脂、肉豆蔻药材样品信息

Table 1 Samples information of *Psoralea corylifolia* and *Myristica fragrans*

样品编号	补骨脂批号	肉豆蔻批号
S1	141248	1506120222
S2	1403160852	1509240502
S3	131105054	1401161652
S4	141248	131261652
S5	1403160852	1506120222
S6	1403160852	1401161652
S7	1403160852	131261652
S8	141248	1506120222
S9	131105054	1506120222
S10	131105054	131261652

1.3 主要仪器

Waters Acquity UPLC System; 配备有 Acquity UPLC QSM、Acquity UPLC SampLe Manager FTN、Acquity UPLC PDA Detector 以及 Empower 2 工作站等(Waters 公司); 微孔滤膜($0.22\ \mu\text{m}$)购于上海安谱科学仪器有限公司; P211D 电子分析天平, 购于德国赛多利斯公司; RE-852 旋转蒸发器, 购于巩义市峪予华仪器厂; KMD 型调温电热套, 购于金坛市荣华仪器制造有限公司; 101A-S1 型数显电热鼓风干燥箱, 购于上海浦东荣丰科学仪器有限公司;

KQ3200B 型超声波清洗器, 购于昆山市超声仪器厂; MTN-2800D 型氮吹浓缩装置, 购于天津奥特赛恩仪器有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters UPLC BEH C_{18} 色谱柱($100\ \text{mm} \times 2.1\ \text{mm}$, $1.7\ \mu\text{m}$); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: $0 \sim 3\ \text{min}$, $3\% \sim 30\%$ 乙腈; $3 \sim 15\ \text{min}$, $3\% \sim 30\%$ 乙腈; $15 \sim 35\ \text{min}$, $30\% \sim 85\%$ 乙腈; $35 \sim 37\ \text{min}$, $85\% \sim 3\%$ 乙腈; $37 \sim 40\ \text{min}$, 3% 乙腈。体积流量 $0.25\ \text{mL/min}$; 进样量 $2\ \mu\text{L}$; 柱温 $30\ ^\circ\text{C}$; 检测波长为 $254\ \text{nm}$ 。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取补骨脂素、异补骨脂素、去氢二异丁香酚、补骨脂宁、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂酚对照品适量, 分别制成对照品母液冷藏备用; 再分别吸取一定量对照品母液, 加甲醇定容至 $10\ \text{mL}$, 制成质量浓度分别为补骨脂素 $4.4\ \mu\text{g/mL}$ 、异补骨脂素 $5.4\ \mu\text{g/mL}$ 、去氢二异丁香酚 $1.6\ \mu\text{g/mL}$ 、补骨脂宁 $0.7\ \mu\text{g/mL}$ 、补骨脂甲素 $1.2\ \mu\text{g/mL}$ 、补骨脂乙素 $3.3\ \mu\text{g/mL}$ 、补骨脂酚 $8.2\ \mu\text{g/mL}$ 的混合溶液, 即为混合对照品溶液。

2.3 给药溶液的制备

按表1称取各对应批次盐炙补骨脂 $160\ \text{g}$ 、麸煨肉豆蔻 $80\ \text{g}$, 加8倍量 60% 乙醇水溶液, 提取2次, 每次 $1\ \text{h}$, 所得提取液浓缩定容至 $100\ \text{mL}$, 得到10批含生药 $2.4\ \text{g/mL}$ 的补骨脂-肉豆蔻药对醇提液 S1~S10, 供 ig 给药用。

2.4 补骨脂-肉豆蔻药对体外供试品溶液的制备

吸取 S4 批次制备的给药溶液 $1\ \text{mL}$ 置于蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣加甲醇超声溶解, 置于 $10\ \text{mL}$ 量瓶中加入甲醇至刻度, 摇匀, 进样前用 $0.22\ \mu\text{m}$ 的微孔滤膜滤过, 即得补骨脂-肉豆蔻药对体外供试品溶液。

2.5 采血时间的优选

取 SD 大鼠 5 只, 随机分为 5 组, 其中 4 组为给药组, 1 组为正常组。称其体质量, 按 $5\ \text{mL/kg}$ 的剂量, ig 给予 S4 批次补骨脂-肉豆蔻醇提液, 每天 2 次, 连续 ig 3 d, 最后 1 次 ig 全天剂量后, 分别在 1、2、3、4 h 用乙醚持续吸入麻醉, 经眼眶取血 $2\ \text{mL}$, 血液在 $4\ ^\circ\text{C}$ 下放置 $1\ \text{h}$ 至有血清析出时, 离心 ($4\ 000\ \text{r/min}$, $15\ \text{min}$)。取 $400\ \mu\text{L}$ 离心血清至 $5\ \text{mL}$ EP 管中, 加入 $800\ \mu\text{L}$ 甲醇, 涡旋混匀, 静置 $20\ \text{min}$ 。 $12\ 000\ \text{r/min}$ 离心 $10\ \text{min}$, 取上清液, 氮气吹干。残

渣加 200 μL 甲醇复溶, 合并每个时间点复溶液, 移置 5 mL EP 管中, 涡旋混匀, 再次 12 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液为含药血清供试品。将 200 μL 处理好的空白血清样品及给药后每个时间点血清样品进行 UPLC 分析, 结果表明, 给药后 2 h 的含药血清样品中, 补骨脂-肉豆蔻提取物血中移行成分最多, 而且浓度最高, 最适于分析, 故选定给药后 2 h 为最佳采血时间。

2.6 含药血清样品处理方法的筛选

2.6.1 10%三氯乙酸沉淀法 取含药血清 400 μL 至 5 mL EP 管中, 加入 800 μL 10%三氯乙酸, 涡旋 1 min, 静置 20 min。12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 氮气吹干。残渣加 200 μL 甲醇复溶, 移置 5 mL EP 管中, 涡旋混匀, 再次 12 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液为含药血清供试品。取处理好的空白血清样品及给药后血清样品各 200 μL , 以 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 进行 UPLC 分析。

2.6.2 甲醇沉淀法 取含药血清 400 μL 至 5 mL EP 管中, 加入 800 μL 甲醇, 涡旋 1 min, 静置 20 min。12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 氮气吹干。残渣加 200 μL 甲醇复溶, 移置 5 mL EP 管中, 涡旋混匀, 再次 12 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液为含药血清供试品。取处理好的空白血清样品及给药后血清样品各 200 μL , 以 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 进行 UPLC 分析。

2.6.3 热水浴法 取含药血清 400 μL 至 5 mL EP 管中, 放入沸水中加热 5 min, 涡旋混匀, 静置 20 min。12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 氮气吹干。残渣加 200 μL 甲醇复溶, 移置 5 mL EP 管中, 涡旋混匀, 再次 12 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液为含药血清供试品。取处理好的空白血清样品及给药后血清样品各 200 μL 以 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 进行 UPLC 分析。

结果显示, 甲醇沉淀法制得的血清样品被检出的入血成分峰最多、最明显, 与空白血清对比, 没有血中杂质干扰, 富集程度最高, 分离效果好, 因此确定甲醇沉淀法为本实验的血清样品处理方法。

2.7 血清样品的制备

取 SD 大鼠 22 只, 随机分为 11 组, 其中 10 组为给药组, 1 组为正常组。按 5 mL/kg 的剂量 ig 给予补骨脂-肉豆蔻提取物, 每天 2 次, 连续 ig 3 d, 最后 1 次 ig 全天剂量后, 在给药 2 h 后腹主动脉取血, 血液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下放置 1 h 至有血清析出时, 离心

(4 000 r/min, 15 min)。取 400 μL 离心血清至 5 mL EP 管中, 加入 800 μL 甲醇, 涡旋混匀, 静置 20 min。12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 氮气吹干。残渣加 200 μL 甲醇复溶, 合并每组复溶液, 移置 5 mL EP 管中, 涡旋混匀, 再次 12 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清液为含药血清供试品。将处理好的空白血清样品及给药后血清样品各 200 μL 进行 UPLC 分析, 结果见图 1。

2.8 血清指纹图谱的测定

将 10 批经甲醇沉淀法处理后的含药血清样品进行 UPLC 分析, 记录 40 min 的色谱图 (图 2), 保留时间为 16.643 min 的色谱峰 (7 号峰) 是血清

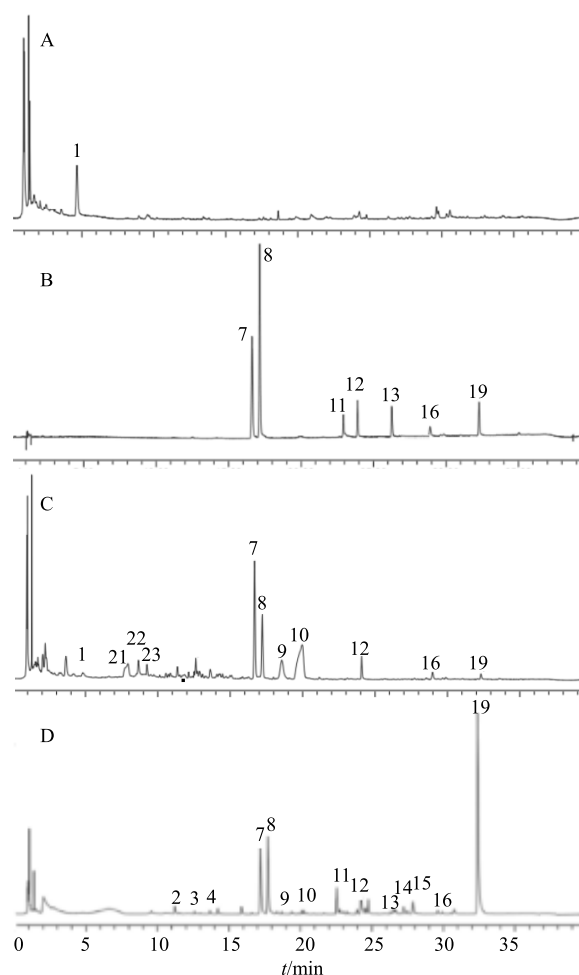


图1 正常大鼠血清 (A)、混合对照品 (B)、含药血清 (C) 及体外供试品 (D) 溶液的 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC of normal rat serum (A), reference substance (B), serum containing drug (C), and sample for *in vitro* test (D)

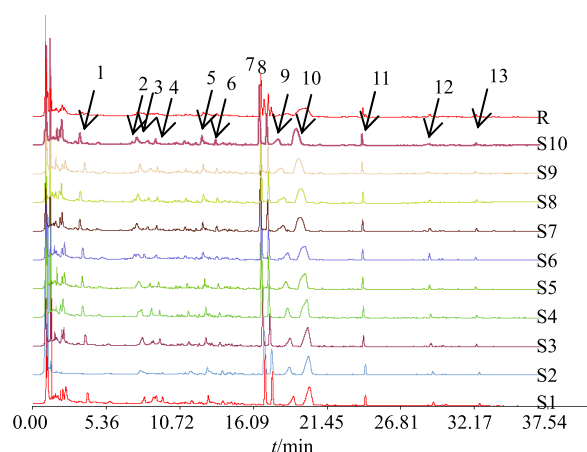


图 2 10 批补骨脂-肉豆蔻药对大鼠含药血清指纹图谱

Fig. 2 Ten batches of PC-MF on rat serum fingerprint

表 2 10 批补骨脂-肉豆蔻药对大鼠含药血清共有峰相对保留时间

Table 2 Relative retention time of common peaks of drug containing serum of rats by 10 batches of PC-MF

峰号	相对保留时间										平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	0.461	0.459	0.454	0.449	0.461	0.493	0.446	0.419	0.447	0.458	0.455	4.027
2	0.509	0.457	0.512	0.523	0.527	0.511	0.534	0.511	0.543	0.471	0.510	5.268
3	0.546	0.551	0.519	0.524	0.532	0.561	0.529	0.551	0.533	0.546	0.539	2.533
4	0.672	0.619	0.645	0.670	0.634	0.679	0.687	0.644	0.653	0.646	0.655	3.298
5	0.742	0.732	0.717	0.723	0.743	0.747	0.738	0.791	0.750	0.714	0.740	2.963
6	0.808	0.811	0.820	0.803	0.797	0.801	0.814	0.813	0.802	0.819	0.809	0.975
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
8	1.032	1.022	1.039	1.028	1.033	1.041	1.029	1.033	1.026	1.024	1.031	0.597
9	1.382	1.343	1.341	1.374	1.383	1.379	1.376	1.383	1.386	1.375	1.372	1.182
10	1.445	1.450	1.443	1.447	1.439	1.444	1.446	1.438	1.441	1.436	1.443	0.304
11	1.738	1.724	1.750	1.736	1.733	1.734	1.748	1.731	1.743	1.735	1.737	0.455
12	1.795	1.777	1.776	1.783	1.785	1.779	1.791	1.793	1.786	1.792	1.786	0.387
13	1.941	1.926	1.943	1.935	1.938	1.947	1.938	1.944	1.936	1.937	1.939	0.301

测定方法稳定可靠、重现性好、药材的质量可控,能够用于补骨脂-肉豆蔻药对的含药血清的分析研究。而 13 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值偏大, RSD 值客观说明实验动物个体差异的存在^[12]。通过比较含药血清、体外供试品及空白血清在同一条条件下的 UPLC 的色谱图 (图 1), 可知 2、3、4、7、8、9、10、12、16、19 号峰为原型入血的成分, 21、22、23 号峰为代谢成分。与混合对照品比较, 确定 7、8、12、16、19 号峰的化学成分分别为补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂宁、去氢二异丁香酚、补骨脂酚; 补骨脂甲素和补骨脂乙素在体外供试品中检测到而在含药血清中未检测到, 推测可能的原因有: ①浓度太低

中峰面积较大、出峰时间适中并且很稳定的 1 个峰, 故选择 7 号峰作为参照峰 (S)。以参照峰的保留时间和峰面积积分为 1, 计算出其他 12 个峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值分别为 0.301%~5.268%和 2.564%~32.471% (表 2、3)。将得到的 UPLC 色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统版》(2004A) 软件, 以 S1 号样品图谱作为参照谱进行指纹匹配 (图 2), 确定了 13 个共有峰, 并进行了相似度计算, 计算的相似度结果均在 0.90 以上。

2.9 UPLC 指纹图谱归属分析

实验建立了 10 个不同批次的补骨脂-肉豆蔻药对的指纹图谱, 且相似度在 0.90 以上, 说明建立的 UPLC

检测不到; ②血清的处理方法对成分的破坏作用^[13]。

3 讨论

3.1 给药剂量的考察

预实验参照临床剂量的 3、6、9、15、21 倍剂量给药, 结果发现, 15 倍的给药剂量血中移行成分多且大鼠的状态最佳。故实验选择 15 倍剂量作为给药剂量。

3.2 取血时间和血清处理方法的考察

实验前期分别进行采血时间和血清处理方法的优选。参考相关的文献报道, 取血时间优选设定 1、2、3、4 h 4 个取血时间点, 结果显示给药 2 h 后的血清移行成分最多且质量浓度高, 故选择 2 h 为最

表3 10批补骨脂-肉豆蔻药对大鼠含药血清共有峰相对峰面积

Table 3 Relative peak areas of common peaks of drug containing serum of rats by 10 batches of PC-MF

峰号	相对峰面积										平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	0.190	0.172	0.153	0.179	0.156	0.209	0.157	0.177	0.194	0.173	0.176	10.259
2	0.040	0.052	0.045	0.039	0.041	0.047	0.058	0.050	0.053	0.062	0.049	15.908
3	0.063	0.041	0.056	0.090	0.049	0.066	0.044	0.067	0.047	0.052	0.057	25.190
4	0.065	0.051	0.049	0.081	0.057	0.073	0.081	0.055	0.069	0.063	0.064	17.992
5	0.118	0.101	0.123	0.111	0.113	0.130	0.098	0.112	0.120	0.114	0.114	8.414
6	0.093	0.081	0.101	0.099	0.087	0.079	0.085	0.079	0.091	0.096	0.089	9.140
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
8	0.517	0.533	0.511	0.540	0.507	0.513	0.509	0.514	0.544	0.523	0.521	2.564
9	0.005	0.004	0.007	0.006	0.006	0.003	0.004	0.005	0.004	0.004	0.005	25.604
10	0.149	0.152	0.157	0.141	0.153	0.147	0.144	0.146	0.138	0.134	0.146	4.856
11	0.067	0.054	0.061	0.053	0.062	0.071	0.066	0.058	0.057	0.064	0.062	9.854
12	0.011	0.020	0.017	0.009	0.013	0.018	0.019	0.006	0.013	0.014	0.014	32.471
13	0.043	0.041	0.039	0.048	0.044	0.046	0.038	0.047	0.045	0.037	0.043	9.070

佳取血时间。血清处理方法的筛选是血清药物化学研究中的关键,实验采用10%三氯乙酸沉淀法、甲醇沉淀法、热水浴法处理含药血清与空白血清,经对比色谱图,结果发现甲醇沉淀法处理的血清引入的空白血清中固有成分少。比较3种处理方法的含药血清色谱图,结果显示,甲醇沉淀法处理的血清中成分最多且峰形好。故最终优选的采血时间和血清处理方法分别为给药后2 h取血和甲醇沉淀法。

3.3 小结

查阅补骨脂、肉豆蔻的相关文献,其前期研究主要集中于体外的化学成分及药理学方面^[8-11,14-17],其药效物质基础并不明确。采用血清药物化学方法筛选中药体内的有效成分,其核心思想是只有吸收入血的化学成分才有可能发挥作用,才可能是中药有效成分^[18]。实验建立了10个不同批次的补骨脂-肉豆蔻药对的指纹图谱(相似度>0.90),并确定含药血清13个移行成分中的5个成分,分别为补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂宁、去氢二异丁香酚、补骨脂酚。含药血清中21、22、23号峰在体外供试品和空白血清中未出现,初步推断其为补骨脂-肉豆蔻药对所含成分在大鼠体内的代谢产物。课题组下一步采用更加灵敏、准确的UPLC-Q-TOF-MS技术进行分析,进一步研究移行入血的成分来源并确定其未知成分,有待于为深入探究补骨脂-肉豆蔻药对配伍的药效物质基础提供科学依据。

参考文献

- [1] 陈志敏,胡昌江,潘新,等.补骨脂和肉豆蔻炮制对脾肾阳虚泄泻大鼠能量代谢的影响[J].中成药,2015,37(6):1298-1301.
- [2] 邱蓉丽,李璘,朱苗花,等.补骨脂化学成分研究[J].中药材,2011,34(8):1211-1213.
- [3] 邱蓉丽,李璘,乐巍.补骨脂的化学成分与药理作用研究进展[J].中药材,2010,33(10):1656-1659.
- [4] 张红莲,王雅楠,王建华.补骨脂的化学成分及药理活性研究概况[J].天然产物研究与开发,2010,22(5):909-918.
- [5] 季霄,吴士龙,贾天柱,等.肉豆蔻化学成分的研究[J].中草药,2014,45(23):3367-3372.
- [6] 杨秀伟,黄鑫,艾合买提·买买提.肉豆蔻中新的新木脂素类化合物[J].中国中药杂志,2008,33(4):397-402.
- [7] Cao G Y, Xu W, Yang X W, et al. New neolignans from the seeds of *Myristica fragrans* that inhibit nitric oxide production[J]. *Food Chem*, 2015, 173: 231-237.
- [8] 张婷,杨晓旭,高家荣,等.基于超高效液相色谱指纹图谱的正交试验优选“二神丸”药对醇提工艺考察[J].中国医院药学杂志,2015,35(12):1130-1133.
- [9] 高家荣,杨晓旭,吴溪,等.道地产补骨脂-肉豆蔻药对中7个指标成分同时测定及其化学成分的初步鉴别[J].中药材,2015,38(9):1959-1963.
- [10] 高家荣,杨晓旭,魏良兵,等.补骨脂、肉豆蔻配伍前后特征指纹图谱及指标成分含量变化研究[J].中药材,2014,37(10):1873-1876.
- [11] 杨晓旭,高家荣,韩燕全,等.正交试验结合指纹图谱

- 优选补骨脂-肉豆蔻药对醇提工艺 [J]. 中草药, 2014, 45(15): 2178-2183.
- [12] 汝文文, 汪光林, 韦 敏, 等. 宁心红杞胶囊含药血清指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2013, 36(3): 428-432.
- [13] 李 媛. 黄柏、黄连体内成分对比研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2013.
- [14] 王天晓, 尹震花, 张 伟, 等. 补骨脂抗氧化、抑制 α -葡萄糖苷酶和抗菌活性成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14): 2328-2333.
- [15] 王 莹. 巴戟天、葫芦巴和补骨脂对去卵巢大鼠骨质疏松症的作用及机理探讨 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [16] 王 剑. 异补骨脂素对小鼠骨髓脂代谢影响及其机制的相关研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2014.
- [17] 苗 琳, 马尚伟, 樊官伟, 等. 补骨脂酚拮抗 AR 转录活性抑制雄激素诱导的前列腺癌细胞 LNCaP 的增殖 [J]. 天津中医药, 2013, 30(5): 291-293.
- [18] 黄财顺, 向 诚, 李宝才, 等. 基于中药血清药物化学的活性成分筛选的现状和问题 [J]. 中草药, 2014, 45(20): 3009-3014.