

• 专 论 •

中药物质基础研究思路与方法

屠鹏飞^{1,2*}, 史社坡¹, 姜 勇²

1. 北京中医药大学 中药现代研究中心, 北京 100029

2. 北京大学药学院 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191

摘 要: 中药物质基础研究是中药现代研究的基础。近年来, 随着现代分析、分离技术的不断发展, 中药物质基础研究取得了较大进展, 新思路和新方法不断涌现。为了促进中药物质基础研究和基于中药、天然药物资源的活性先导化合物及创新药物的发现, 对当前中药物质基础研究的思路和方法进行综述, 并重点介绍基于二维高通量制备液相色谱(2D-pHPLC)技术的中药化学成分高效分离技术、基于液相-质谱-数据库(LC-MS-DS)/制备液相色谱(pHPLC)技术的中药化学成分快速识别与高效制备技术、基于 LC-DAD-MSⁿ 技术的中药化学成分研究与数据库的构建等中药物质基础研究的新方法、新技术, 以供参考。

关键词: 中药物质基础; 天然产物; 二维制备液相色谱; 液相-质谱-数据库联用技术; 液相质谱联用

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)02-0209-07

Strategies and approaches on exploring material basis of Chinese materia medica

TU Peng-fei^{1,2}, SHI She-po¹, JIANG Yong²

1. Modern Research Center of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China

Abstract: To study the material basis of Chinese materia medica (CMM) is the basis of modernization of CMM. Recently, along with the development of modern analytical methods and separation technologies, material basis research of CMM has achieved great progress, and new strategies and approaches are emerging. In order to promote the material basis research of CMM and the discovery of leading compounds and novel drugs stemmed from CMM and natural products, the present review summarized the current strategies and approaches on the material basis research of CMM. Especially, new strategies and approaches, including rapid separation technology based on two dimensional high-throughput preparative liquid chromatography (2D-pHPLC), rapid identification and high efficient preparation technologies based on liquid chromatography-mass spectrometry-database and preparative HPLC (LC-MS-DS/pHPLC), and new methods and technologies for material basis research, such as CMM components research and database construction based on LC-DAD-MSⁿ were emphatically introduced.

Key words: material basis of Chinese materia medica; natural products; 2D-pHPLC; LC-MS-DS; HPLC-MSⁿ

中药物质基础研究是阐明中药药效物质、药理作用及其机制和临床疗效的先决条件, 也是深层次开发中药方剂、改进工艺和剂型、制定质量标准、提高临床疗效的重要基础, 是中药现代化的重要组成部分。中药化学成分和药效物质研究已有近 80 年的历史, 对中药尤其是单味药物物质基础的研究取得了很大成就, 但由于中药化学成分复杂, 特别是

中药复方, 所含化学成分多达数百种甚至上千种, 同时, 中药又存在多成分、多途径、多靶点协同作用的特点, 给中药的药效物质基础研究带来巨大的困难和挑战。如何能够快速、高效地阐明中药物质基础, 从方法和技术上解决中药复杂体系中物质基础研究的难题, 是近 10 年来国内外学者不断探索的热点问题。为了促进中药物质基础研究和基于中药、

收稿日期: 2011-10-17

作者简介: 屠鹏飞, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为天然药物活性成分与新药研究。

Tel/Fax: (010)82802750 E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn

网络出版时间: 2012-01-12 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120112.1518.001.html>

天然药物资源的活性先导化合物及创新药物的发现, 本文对当前中药物质基础研究的思路和方法进行综述, 并介绍几种中药物质基础研究的新方法、新技术, 以供参考。

1 当前中药物质基础研究方法及其进展

传统中药物质基础研究思路和方法来源于西方国家的天然药物研究, 即对中药的化学成分进行提取、分离、结构鉴定, 然后进行生物活性筛选, 确定有效成分, 阐明物质基础。采用此研究方法已对近千种单味中药的化学成分和生物活性进行了研究, 阐明了一大批单味中药的物质基础, 如麻黄、黄连、人参、丹参等, 取得了辉煌的成果。但由于中药特别是复方化学成分的复杂性以及存在成分相互影响、协同作用等特点, 传统的研究方法不仅速度慢, 且难以进行多成分配伍研究。随着我国政府对中药现代化的重视和现代科学技术特别是生物技术、仪器分析、计算机科学等学科的发展, 近 10 年来出现了很多中药物质基础研究的新思路、新方法, 有效地促进了中药物质基础研究。主要研究思路与方法介绍如下。

1.1 以活性为导向的中药物质基础研究

由于传统中药物质基础研究常导致分离过程中活性成分或有效成分的丢失, 同时, 耗费大量的时间, 在无活性成分或非有效成分的分离与结构鉴定上。为了克服这些问题, 近 20 年来, 逐渐引入以活性为导向的中药化学成分研究, 即以生物活性跟踪进行中药成分的分离。该研究方法的实现, 必须以快速、可靠的生物活性筛选方法为前提, 同时, 化学成分分离必须与活性筛选密切配合, 才能取得较好的效果。于垂亮等^[1]以体外肿瘤细胞生长抑制强度结合小鼠急性毒性试验作为活性跟踪方法, 从蟾酥中分离得到具有明显抑制肿瘤细胞生长并具有较低毒性的蟾毒它灵, 对人非小细胞肺癌 A549 细胞具有很好的抑制作用, 体内活性为蟾毒灵的 4 倍; Ho 等^[2]以活性追踪的方法从当归中分离得到的(Z)-藁本内酯、当归酸-(Z)-藁本内酯-11-醇酯、阿魏酸松柏酯、阿魏酸, 在低质量浓度 (1~10 $\mu\text{g/mL}$) 时, 对 β 淀粉样蛋白 (A β) 诱导的 PC12 细胞损伤具有明显的保护作用。但该方法用于阐明中药物质基础存在着一定的局限性: 其一, 中药功能主治广泛, 单一或少数指标的活性筛选发现的活性成分或有效成分不能全面体现中药物质基础; 其二, 由于筛选方法或模型的局限性, 一些微量成分在筛选过程中

丢失, 或筛选得到的活性成分并非体内真正的有效成分。为了解决这些问题, 目前大多采用活性跟踪与系统分离相结合的方法进行研究, 即对分离部位进行活性筛选, 确定活性部位后, 再进行系统分离, 既明确活性部位, 又不会导致微量活性成分的丢失。

1.2 基于组合化学或化学物质组学概念的中药药效物质基础研究

该研究思路将单味中药或中药方剂所含的复杂成分看作组合化学库或化学物质组, 采用组合化学或组学的方法研究中药物质基础^[3], 即将中药进行适当分离后, 采用现代仪器分析方法如 HPLC、LC-MS 等对各分离部分进行分析、标化, 再对各部分进行活性筛选, 确定活性部分。张岩^[4]以葛根为研究对象, 以转基因酵母雌激素检测模型为生物活性检测手段, 构建了葛根的组分库。实验首先利用溶剂分配法将葛根的 95% 乙醇总提取物分成了石油醚、醋酸乙酯、正丁醇和水 4 个部位, 然后利用制备高效液相色谱 (pHPLC) 将活性部位 (醋酸乙酯部位和正丁醇部位) 进行规模化制备分离得到了 47 个组分, 利用 HPLC、LC-MS 对各个组分进行了化学表征, 并利用雌激素检测模型实现了各个组分的生物学表征, 最后筛选出了 12 个活性组分, 化学表征和生物学表征关联分析结果显示葛根中的主要雌激素样活性物质为大豆苷元、染料木素和芒柄花素, 而水溶性成分大豆苷、葛根素和染料木苷则没有表现出明显的雌激素样活性。此外, 数据关联分析结果还发现了葛根中另外一个具有显著雌激素样活性的化合物香豆雌酚。

1.3 血清药物化学与血清药理学相结合的研究方法

该研究思路以传统的药物化学为基础, 利用现代先进的分析技术, 结合对含药血清的生物活性测定, 来分析鉴定口服中药后血液中移行成分及其药效相关性, 探讨中药的药效物质基础及其作用机制。现代分析技术尤其是 LC-MS 技术的发展, 对于检测吸收入血成分的体内过程以及微量、痕量成分非常便利; 新的药物作用靶点包括酶、受体的不断发现, 为血清药理研究提供了高通量的体外筛选模型。以含药血清作为研究对象, 探讨中药作用的物质基础, 很大程度上简化了中药及其方剂成分研究的复杂性, 排除了中药中大量非有效成分对生物活性测定的影响。Wang 等^[5]通过对口服越桔茎叶乙醇提取物大鼠血清中移行成分进行 HPLC 分析, 并结合药效学试验, 证明熊果苷和秦皮苷对急性和慢性呼吸道

感染有治疗作用,具有抗炎、止咳化痰的功效,为其有效成分。对复方安替威胶囊的体外抗SARS病毒活性研究,通过对含药血清指纹图谱的分析、含药血清中目标成分的富集制备和体外抗SARS病毒活性测定,成功证明了复方安替威胶囊的药效作用物质基础^[6]。陶金华等^[7]利用HPLC法对ig给予通塞脉微丸全方制剂及各单方制剂大鼠血清中移行成分进行了研究,检测到了13种原型成分,同时还发现复方给药后,可以检测到1个新产生的代谢产物,但其确切结构和活性在文献中没有报道。血清药物化学和血清药理学研究方法也有一定的不足,如血清中含药浓度低,一些微量成分特别是体内代谢产物难于富集,无法进行活性筛选,特别是整体动物实验;受给药方式、采血时间、实验动物等因素影响较大。

1.4 基于谱效关系或组效关系的中药物质基础研究

该研究思路以NMR、HPLC、GC-MS、HPLC-MS等现代先进的分析技术为手段,建立中药的一维、二维甚至多维指纹谱,或者利用代谢组学的方法研究中药复杂体系在体内的代谢过程;同时利用体内外多种药效指标,结合现代的代谢组学、蛋白质组学、基因组学技术进行药效学评价;采用智能化数据分析软件,进行谱效或组效相关性分析,来探讨中药复杂体系的物质基础和作用机制。目前,很多国内学者在这方面开展了研究,如夏建飞等^[8]利用谱效学、组效学方法对清开灵注射液进行了系统研究,针对脑缺血级联反应,通过组效学分析,确定复方中起作用的4类有效组分,并将其研制为有效组分的新复方。孔维军等^[9]利用HPLC法建立了左金丸及其类方的指纹图谱,用微量热法测定了给药情况下大肠杆菌的热谱曲线,以指纹图谱中特征色谱峰的峰面积和热活性分析结果进行典型相关分析和谱效相关性研究,结果发现吴茱萸次碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱量的差异是导致生物热活性差异的主要原因。

1.5 基于亲和色谱和分子烙印技术的中药物质基础研究

亲和色谱和分子烙印技术是基于分子特异性识别的色谱分离技术。随着一系列新的药物靶标如酶、受体等的发现,将这些对药物小分子具有特异性识别和结合能力的靶酶、受体、抗体甚至活性组织细胞膜等采用固定化技术与合适的固相支持物进行共价、非共价结合后用于活性分子的筛选,即

亲和色谱技术;分子烙印技术是以特定的活性分子为模板,选择适当的功能单体如甲基丙烯酸等在交联剂的作用下制备而成的对模板分子类似物具有特异性保留能力的色谱分离技术,本质上也可以列为亲和色谱的一种。亲和色谱和分子烙印技术用于药物活性分子筛选具有特异性强、速度快、效率高的特点。结合在线质谱检测技术,用于中药复杂体系中特异性活性成分的初筛,可以实现中药活性成分的分离、高通量筛选、鉴定一体化。Luo等^[10]运用亲和色谱-质谱联用技术对叶下珠中抗丙型肝炎病毒活性成分进行筛选,结果得到5个化合物在亲和色谱柱上有很好的保留,进一步研究证明,这5个化合物对丙型肝炎病毒都具有较好的抑制作用。赵小娟和赵惠茹等^[11-12]利用固定化血管细胞膜亲和色谱结合离体药理实验从淫羊藿、当归提取物中筛选出了具有血管舒张活性的活性部位和活性化合物。王嗣琴等^[13]用高表达表皮生长因子受体(EGFR)细胞膜色谱与HPLC-MS在线联用技术对中药独活中的活性成分进行筛选,结合体外生物活性测定发现蛇床子素对HEK239EGFR细胞增殖及EGFR表达均有明显抑制作用。谢建春等^[14]采用分子烙印技术,以骆驼蓬种子中抗肿瘤活性成分哈尔明和哈马灵的结构类似物哈尔满为模板分子,以非共价键法制备的分子烙印聚合物作为液相色谱固定相与质谱联用,直接从骆驼蓬种子甲醇粗提取物中分离鉴定了目标性成分哈尔明和哈马灵。虽然亲和色谱技术和分子烙印技术对于从中药复杂体系中选择性筛选有某种活性的化合物具有很大的优势,但也存在着一些不足:其一,由于中药是多成分、多靶点及协同作用的作用特点,亲和色谱技术和分子烙印技术只能选择性地对某单一靶点进行筛选,要实现多靶点的筛选具有一定难度,并且在筛选过程中一些非特异性的结合也会影响筛选结果;其二,亲和色谱和分子烙印技术仅是从化合物与靶酶或细胞的结合力、模板分子的相似性方面进行筛选,在生物体系中,强结合力或相似性高的化合物不一定是正活性,也有可能是负活性或没有生物效应,因此,必须进行进一步的细胞水平和体内的活性筛选,才能证实其是否为真正的有效物质。

1.6 基于药物代谢的中药物质基础研究

中药治疗疾病的有效成分可以是中药中的原型成分,也可以是经肠内生菌的转化产物,或者是进

入体内后的代谢产物。基于药物代谢的中药物质基础研究就是从整体上对中药在人体内的消化(生物转化)、吸收、代谢、分布、排泄等各个环节进行研究,探讨中药成分在体内的过程及其动态变化的规律,考察生物转化产物和(或)代谢产物的生物活性,探讨中药的药效物质基础,并根据入血成分的代谢特征探讨中药组分间的相互作用规律、中药复方的配伍机制等重大问题。目前已经建立了很多体外研究药物代谢的模型,如小肠灌流模型、人肠内细菌转化模型、肠 Caco-2 吸收模型、肝微粒体模型、MDCK 模型(改造犬肾上皮细胞单层模型)等,利用这些模型模拟中药在体内的药物代谢过程,对于探讨中药的药效物质基础有很大的帮助。杨秀伟等^[15]研究表明,人肠内细菌可以将七叶皂苷 Ia 转化为异七叶皂苷 Ia、去酰基七叶皂苷 I、21- β -O-巴豆酰基原七叶树皂苷元和原七叶树皂苷元,而转化产物去酰基七叶皂苷 I 对多种肿瘤细胞生长显示出抑制活性;相反,人肠内细菌可以转化华蟾毒精为去酰基华蟾毒精,转化羟基华蟾毒精为去酰基羟基华蟾毒精,转化产物和原型药物相比,完全失去抗肿瘤活性,不仅部分阐明了中药蟾酥抗肿瘤的药效物质基础,也为药物制剂的设计提供了依据^[16]。还有研究表明,芍药苷的转化产物是原型化合物抗癫痫活性的 2.4 倍^[17];石蒜中加兰他敏的转化产物在选择性抑制乙酰胆碱酯酶活性上,是原型化合物的 10 倍^[18]。对于入血后的代谢产物的活性研究,利用前面已经提到过的血清药物化学和血清药理学相结合的研究方法,也取得了较大进展。虽然目前基于代谢的中药物质基础研究取得了不少成果,但是对于中药来说,存在成分过于复杂,不同成分体内的代谢过程可能完全不同,并且有的药效成分可能是微量或者痕量成分,难于获得足够量用于生物活性检测等问题,对于未来的研究来说仍是挑战。

1.7 基于计算机虚拟筛选技术的中药物质基础研究

计算机虚拟筛选是依靠计算机强大的编程建模功能、数据库构建和搜索功能,结合各种数学算法,构建中药成分库、中药药理作用库、中药功效库等,并利用和融合现代系统生物学的研究成果,关联相关的基因调控网络数据库、代谢网络数据库、细胞信号通路数据库、蛋白质三维结构数据库等,来研究中药药效物质基础、药性理论、作用机制等相关问题^[19-20]。张燕玲等^[21]以活血化瘀方剂中经常出现的 65 味中药中的 892 个化学成分构建活血化瘀方剂三维数据库,

以血管紧张素转化酶抑制剂、血小板活化因子受体拮抗剂、血管紧张素 II 等三维药效团为辨识模型,对所构建的三维数据库进行柔性搜索,最后发现了 18 首方剂中 20 味中药可能具有抑制血管紧张素转化酶、血小板活化因子、血管紧张素 II 受体活性的物质基础。王梅等^[22]构建中药药理作用预测功效的贝叶斯网络模型,对部分活血化瘀中药组分的功效进行预测,结果显示组分的功效和饮片的功效吻合,为研究中药及其组分的功效提供了良好的思路。李佐静等^[23]利用化合物定量结构-效应毒性关系方法对 14 种乌头碱类成分的结构和毒性关系进行研究,采用偏最小二乘法建立毒性预测模型,可以对同类化合物的毒性显示很好的预测功能。基于计算机虚拟筛选的中药物质基础研究虽然可以处理庞大的数据和整合利用海量的信息资源,对于中药复杂体系的研究来说有一定的启示和帮助,但是所预测的结果还需要大量的生物实验进行验证。

2 当前中药物质基础研究存在的主要问题

2.1 传统的中药物质基础研究存在的问题

传统的中药物质基础研究一般先进行系统的化学成分分离,再进行生物活性或药效作用筛选,明确有效成分。这种研究方法时间长、效率低,在化合物的分离上消耗大量的时间;化学成分研究不能与生物活性筛选密切结合,往往化学成分研究得比较清楚,但有效成分仍未阐明;化学成分研究结果仅以论文发表,不能很好的记录研究结果,造成大量研究的重复。

2.2 新的研究思路和方法存在的不足

近 10 年来新出现的各种研究思路和方法,特别是一些从整体成分上研究中药物质基础的思路和方法,一定程度上促进了中药物质基础的阐明,但有些研究方法大多仅从某一侧面或模糊地研究中药物质基础,其“发现”的有效成分往往都是传统方法早已确证的有效成分,难以真正地阐明中药物质基础及其相互作用,因此,尚不能得到推广。

2.3 生物活性研究方法存在的问题

随着生命科学的发展,很多疾病的分子机制得以阐明,基于这些机制的体外筛选方法或细胞系得以建立,特别是高通量筛选技术的推广应用,大大提高了中药活性成分的筛选速度,但随之而来产生了过分重视或局限于体外筛选和计算机虚拟筛选的趋势,没有再从整体水平进一步证实其药理作用,所得到的研究结果难以置信。

3 中药物质基础研究新方法和新技术

随着色谱分离技术和检测技术的快速发展, pHPLC 已经成为天然产物分离的常规手段, 目前出现的二维甚至多维制备分离色谱技术、LC-MS 联用技术、LC-NMR 联用技术、LC-CD 联用技术等, 不仅可以实现目标成分的快速分离鉴定, 而且可以实

现活性组分的快速制备, 使得中药物质基础研究向着高速、高效、高通量方向迈进。

3.1 基于二维高通量制备液相色谱 (2D-pHPLC) 技术的中药化学成分高效分离技术

2D-pHPLC 示意图、仪器和分离原理见图 1。该色谱系统由两组分离柱和两组俘获柱系统组成,

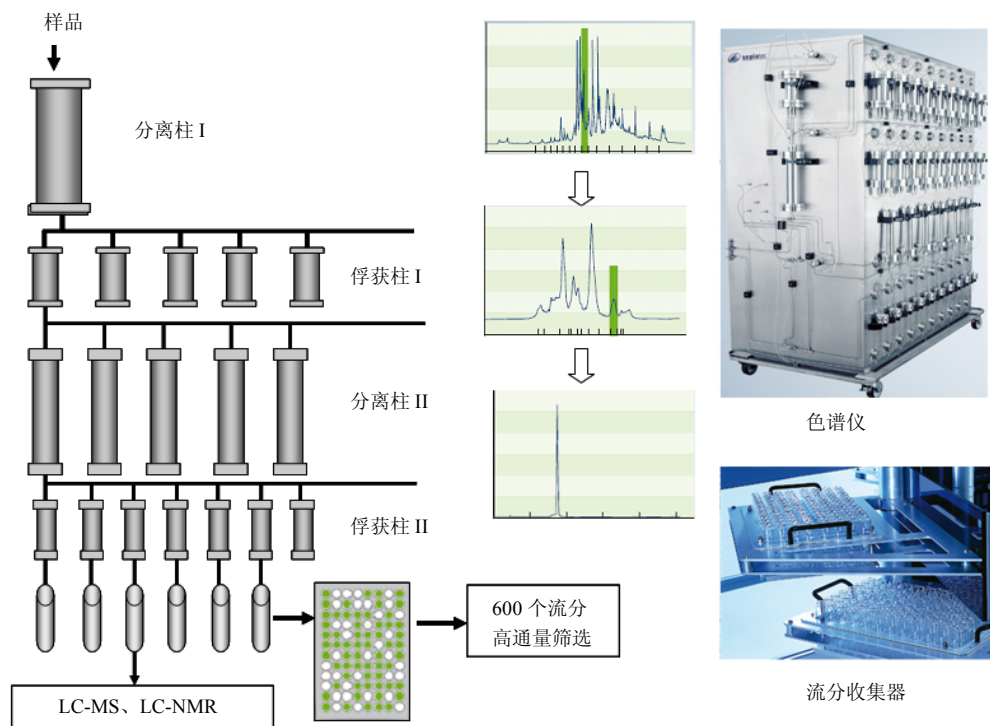


图 1 二维高通量制备液相色谱分离系统示意图及其仪器

Fig. 1 Diagram of 2D-pHPLC and its equipments

每次样品进样量根据不同仪器在 0.25~5 g, 运行时间约 24 h, 可将一个样品分离成为多达 600 个流分, 其中很多流分都已达到质量分数超过 90% 的单体化合物; 对于混合流分, 再采用普通的 pHPLC 进行进一步纯化。如果与 LC-MS 或 LC-NMR 联用, 可实现各流分的快速鉴定。该系统大大提高化合物分离效率, 特别适合于化合物或化学组分的快速、高效制备和天然产物高通量筛选。

3.2 基于液相-质谱-数据库 (LC-MS-DS) / pHPLC 技术的中药化学成分快速识别与高效制备技术

中药化学成分复杂, 每种中药都含有数十至数百种成分, 特别是复方, 其成分更加复杂, 但这些成分大部分是已知化合物, 因此, 系统分离中药化学成分时, 大部分时间是在分离已知化合物, 做了大量的重复性工作, 造成大量的时间和经费的浪费, 能否有目标地分离未知成分或目标化合物, 提高工作效率, 基于 LC-MS-DS / pHPLC 技术 (图 2) 能

解决这一问题。该技术首先采用化学对照品建立 LC-MS-DS, 将拟分离的提取物进行 LC-MS-DS 分析, 识别已知成分和未知成分, 对于未知的色谱峰或目标成分, 经普通柱色谱粗分后, 再采用 pHPLC 分离、制备, 可以大大提高研究效率, 一般一种中药的化学成分可以在 1~2 个月内就能够系统阐明, 对于有目标地制备化合物也是非常有用的。

3.3 基于 LC-DAD-MSⁿ 技术的中药化学成分研究与数据库的构建

目前, 80% 以上常用中药已有系统的化学成分研究报道, 但这些化学成分研究结果仅以论文形式发表, 后人在进行质量标准研究时需要制备化学对照品或在进行药理、药物代谢研究时分离、制备化合物, 都必须从头开始进行系统的化学成分研究, 浪费大量的人力、物力, 如何将化学成分研究结果有效地记录下来, 让后人能够有目标地分离需要的化合物, 是中药化学成分研究的关键问题之

一。当前飞速发展的 LC-DAD-MSⁿ 技术即能解决这一问题。在中药化学成分研究结束后, 建立该中药或复方的 LC-DAD-MSⁿ 图谱, 以分离的化合物为对照鉴定每一个色谱峰, 建立每个色谱峰的保留时间、紫外光谱、质谱数据库, 将化学成分的研究结果记录在 LC-DAD-MSⁿ 上, 并构建数据库, 后人如果需要从该中药中分离化合物, 只要对其进行 LC-DAD-MSⁿ 分析, 就知道哪一个色谱

峰是目标成分, 同时, 也为中药质量标准、谱效学、药物代谢等研究提供化学成分的鉴定依据。其示意图见图 3。

4 结语

中药物质基础研究是中药现代研究的基础。但由于中药成分的复杂性, 特别是多数成分的量很低, 想要制备足够的量进行生物活性和药效作用研究, 其难度很大, 尤其是复方中药, 因此, 中药物质基

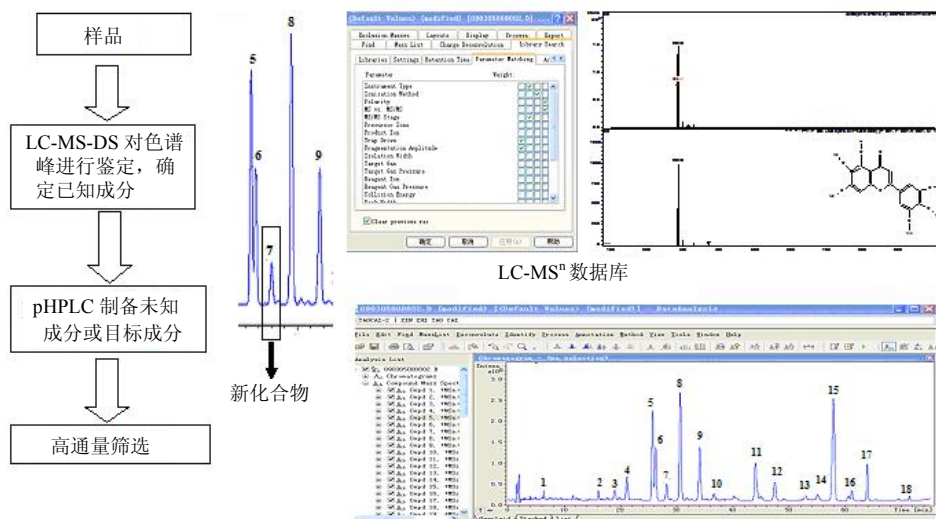


图 2 基于 LC-MS-DS/pHPLC 技术的化合物快速识别与高效制备示意图

Fig. 2 Diagram of rapid identification and high efficient preparation for target compounds based on LC-MS-DS/pHPLC technology

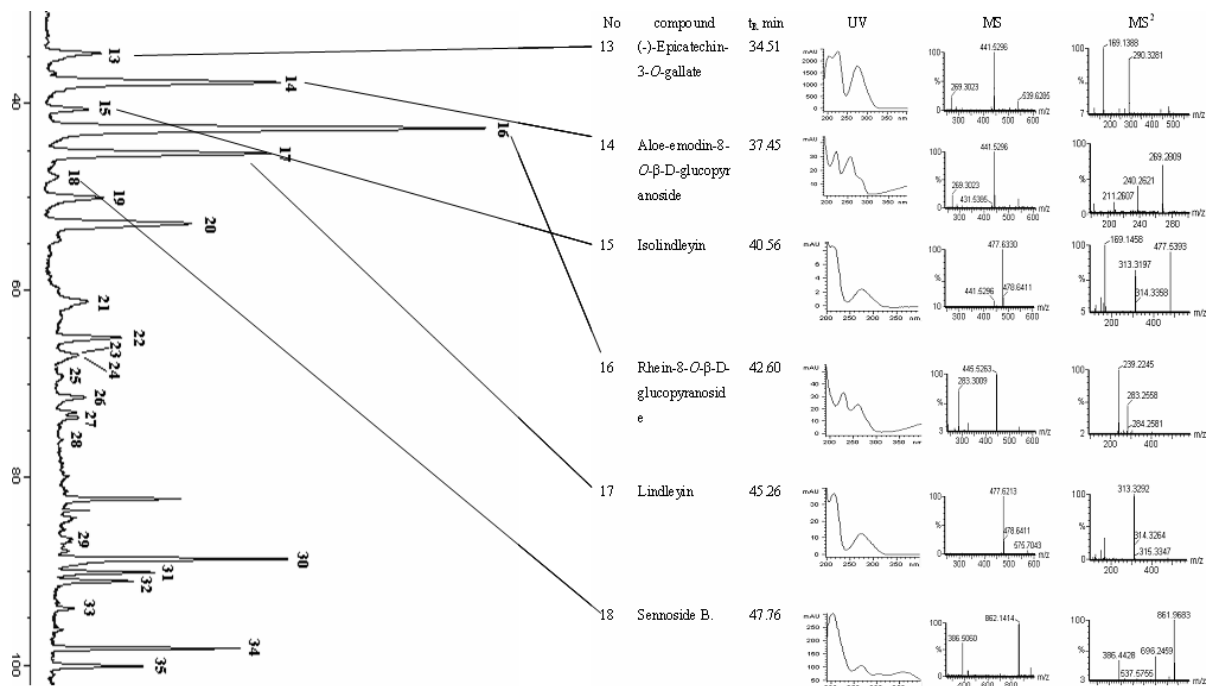


图 3 以 LC-DAD-MSⁿ 记录的中药化学成分信息示意图

Fig. 3 Diagram of chemical components of CMM and their database information recorded by LC-DAD-MSⁿ

基础研究仍然具有相当的挑战性。解决中药物质基础研究的瓶颈问题, 仍然需要利用多学科发展的优势成果, 在研究思路、方法和技术上不断改进和创新。

参考文献

- [1] 于垂亮, 侯惠民. 蟾酥抗肿瘤有效成分的活性追踪分离及急性毒性研究 [J]. 中草药, 2011, 42 (2): 307-311.
- [2] Ho C C, Kumaran A, Hwang L S. Bio-assay guided isolation and identification of anti-Alzheimer active compounds from the root of *Angelica sinensis* [J]. *Food Chem*, 2009, 114: 246-252.
- [3] 郭立玮, 朱华旭, 潘林梅. 基于复杂体系原理的中药复方药效物质“组合筛选”思路与方法 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 505-508.
- [4] 张 岩. 葛根组分库的建立及雌激素活性的研究 [D]. 大连: 中国科学院大连化物所, 2005.
- [5] Wang X J, Sun H, Fan Y L, *et al.* Analysis and bioactive evaluation of the compounds absorbed into blood after oral administration of the extract of *Vaccinium vitis-idea* in rat [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28: 1106-1108.
- [6] 王喜军, 张 宁, 曹洪欣. 复方安替威胶囊血中移行成分的富集工艺研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(21): 1654-1657.
- [7] 陶金华, 狄留庆, 濮雪莲, 等. 通塞脉微丸血清药物化学的初步研究 (I) [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1267-1270.
- [8] 夏建飞, 梁琼麟, 罗国安. 现代中药分析新进展 [J]. 中国科学: 化学, 2010, 40(6): 641-650.
- [9] 孔维军, 赵艳玲, 山丽梅, 等. 左金丸及类方 HPLC 指纹图谱与生物活性的“谱-效”关系研究 [J]. 化学学报, 2008, 66(22): 2533-2538.
- [10] Luo H P, Chen L R, Li Z Q, *et al.* Frontal immunoaffinity chromatography with mass spectrometric detection: A method for finding active compounds from traditional Chinese medicine [J]. *Anal Chem*, 2003, 75: 3994-3998.
- [11] 赵小娟, 党高潮, 杨广德, 等. 淫羊藿根与叶活性成分的分析 and 比较 [J]. 分析化学, 2002, 30(2): 195-197.
- [12] 赵惠茹, 杨广德, 贺浪冲, 等. 用细胞膜色谱法筛选当归中的有效成分 [J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(1): 13-15.
- [13] 王嗣琴, 孙 萌, 张彦民, 等. 用高效表达 EGFR 细胞膜色谱-HPLC/MS 联用快速筛选独活中抗 EGFR 活性成分 [J]. 中国科学: 化学, 2010, 40(6): 750-756.
- [14] 谢建春, 朱荔丽, 徐筱杰. 分子烙印亲和色谱与质谱实现中草药活性成分分离鉴定一体化 [J]. 化学学报, 2002, 60(3): 385-388.
- [15] 杨秀伟, 赵 静, 崔景荣, 等. 七叶皂苷 Ia 的人肠内细菌生物转化产物及其抗肿瘤活性研究 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2004, 36(1): 31-35.
- [16] 杨秀伟, 邢增涛, 崔景荣, 等. 华蟾毒精和羟基华蟾毒精的人肠内细菌代谢研究 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2001, 33(3): 199-204.
- [17] 杨秀伟, 郝美荣, 服部征雄. 中药成分代谢分析 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003.
- [18] Bachus R, Bickel U, Thomsen T, *et al.* The *O*-demethylation of the antidementia drug galanthamine is catalysed by cytochrome P450 2D6 [J]. *Pharmacogenetics*, 1999, 9(6): 661-668.
- [19] 王 耘, 张燕玲, 史新元, 等. 中药功效网络的构建及应用 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2008, 10(5): 105-108.
- [20] 杨文宇, 万德光, 杨鑫嵎. 虚拟筛选辅助揭示中药药效物质基础的思路与初步实践 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1665-1672.
- [21] 张燕玲, 王 耘, 艾 路, 等. 基于中药成分族的方剂物质基础研究 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2008, 10(5): 98-100.
- [22] 王 梅, 张 培, 王 耘, 等. 基于药理作用的中药组分功效预测研究 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2011, 13(1): 93-95.
- [23] 李佐静, 王 琳, 闫心丽, 等. 基于偏最小二乘法的乌头碱类化合物毒性的定量构效关系研究 [J]. 计算机与应用化学, 2011, 28(6): 765-768.