

评估中药煎液络合铁离子能力的分析方法研究

陈巧利¹, 华 瑛², 王翠玲¹, 张 宁¹, 孙艳妮¹, 王 征¹, 刘建利^{1*}

1. 西北大学生命科学学院, 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 陕西 西安 710069

2. 陕西省肿瘤医院 药剂科, 陕西 西安 710061

摘要: **目的** 建立体外筛选分析的方法来确定临床所用治疗阿尔茨海默病、帕金森综合症以及骨质疏松症的中药中哪种中药以及哪些成分是与铁离子(Fe^{3+})络合的主要成分, 并评估其络合强度。**方法** 基于 Fe^{3+} 对螺环罗丹明 B 酰肼生物开环显色反应的催化作用, 建立了催化光度法测定中药煎液中游离态 Fe^{3+} 的方法, 进而通过加入一定量 Fe^{3+} 测定被络合的程度来评估中药成分与铁络合的强度。**结果** 补肾中药对 Fe^{3+} 的络合率较高; 采用催化光度法测定中药煎液中游离 Fe^{3+} 的量, 线性范围 1.68~22.4 mg/L, $r=0.999\ 0$; 平均加标回收率在 90.45%~104.11%, $\text{RSD}<5\%$ 。**结论** 该方法可应用于评估中药络合游离 Fe^{3+} 强度。

关键词: 铁离子; 中药; 罗丹明 B 衍生物; 催化光度法; 络合能力; 阿尔茨海默病; 帕金森综合症; 骨质疏松症; 显色反应
中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)10-1402-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.10.010

Analytical method to evaluate chelating capacity of constituents in decoction of Chinese materia medica with free iron ions

CHEN Qiao-li¹, HUA Ying², WANG Cui-ling¹, ZHANG Ning¹, SUN Yan-ni¹, WANG Zheng¹, LIU Jian-li¹

1. Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China, Ministry of Education, School of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China

2. Department of Pharmacy, Shaanxi Provincial Cancer Hospital, Xi'an 710061, China

Abstract: Objective To establish the *in vitro* screening method for determining what kinds of Chinese materia medica (CMM) and which main constituents in the medicine used for the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and osteoporosis can chelate with free iron ions (Fe^{3+}) and evaluating the chelating strength. **Methods** Based on the catalytic effect of Fe^{3+} on the spiro lactam (nonfluorescence) to ring-open amide reaction (fluorescence), the catalytic spectrophotometric method was established to determine the free Fe^{3+} in the decoction of CMM, by adding a certain amount of iron ion and determining the chelating level to evaluate the chelating strength of the constituents in CMM. **Results** The chelating strength of kidney-tonifying CMM is stronger. The catalytic spectrophotometric method could be used to determine the free Fe^{3+} in the decoction of CMM and the linearity was good in the range of 1.68—22.4 mg/L, $r = 0.999\ 0$. The average recovery was between 90.45% and 104.11% with $\text{RSD} < 5\%$. **Conclusion** This method can be used to evaluate the chelating capacity of constituents in CMM with Fe^{3+} .

Key words: free iron ion; Chinese materia medica; rhodamine B derivative; catalytic spectrophotometric method; chelating capacity; Alzheimer's disease; Parkinson's disease; osteoporosis; color reaction

铁是人体必需的微量元素之一, 参与血红蛋白的合成、细胞呼吸、电子传递、DNA 合成并参与酶活性反应。缺铁使酶活性降低, 细胞功能紊乱, 体力减弱, 容易疲劳, 还可引起组织器官异常, 细胞免疫功能缺陷, 对感染的易感性增高。但是, 铁过

载也会引起诸多疾病^[1-5]。在机体内铁的吸收、摄取、利用和存储都受到一定的调控, 但是由于机体排铁能力相对不足, 所以如果外源性铁摄入过多, 如食用大量含铁的食物, 吸入大量含铁的颗粒, 注射大量含铁的蔗糖酸盐以及多次反复的输入全血或红细

收稿日期: 2014-01-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20872118, 30070905); 长江学者和创新团队发展计划资助 (IRT1174)

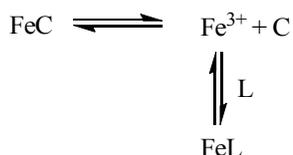
作者简介: 陈巧利, 女, 陕西商洛人, 硕士研究生, 主要从事中药中微量元素研究工作。E-mail: chen834470128@126.com

*通信作者 刘建利 E-mail: jlliu@nwu.edu.cn

胞等都会引起机体铁过载^[6]。血液中铁超出转铁蛋白结合能力时，可产生未被转铁蛋白结合的游离铁离子(Fe³⁺)其沉积于组织中便形成铁过载。大量研究表明阿尔茨海默病(早老性痴呆)、帕金森综合症和骨质疏松症(osteoporosis, OP)等的发病机制都与机体内铁过载有直接关系^[7-9]。研究表明异常金属元素在脑内的沉积直接参与了阿尔茨海默病和帕金森综合症的发病过程，并且在动物模型上证明，以异常 Fe³⁺为靶点的药物可以有效预防这类疾病^[10]。临床驱铁药物铁螯合剂可与 Fe³⁺形成络合物而促进 Fe³⁺排泄，降低体内 Fe³⁺水平及其在各个器官组织中的病理性沉积，因而可能具有防治铁过载 OP 的潜在作用^[11-13]。

中药治疗阿尔茨海默病、帕金森综合症和 OP 有很好的临床效果，但是以现代科学却难以解释其治疗机制和物质基础，所以难以规范化并影响其推广应用。从铁过载的角度考虑，可能是中药中存在多种能与 Fe³⁺形成络合物的有机成分，这些成分进入体内与 Fe³⁺形成络合物而使过载铁排出体外。为了验证这种推测，本实验建立了体外筛选分析的方法来确定临床所用中药中哪种中药以及哪些成分是与 Fe³⁺络合的主要成分，并评估其络合强度。

体内沉积的铁仍然会解离出少量游离 Fe³⁺，如果中药中的成分能与 Fe³⁺形成更稳定的络合物，则由于新络合物的形成而消耗了 Fe³⁺，而沉积的铁就会解离来补充被消耗的 Fe³⁺。如此，随着与 Fe³⁺络合的中药成分的不断进入，沉积的铁会不断溶解，形成络合物后排出体外。以 L 表示能够与 Fe³⁺形成络合物的中药中的配体成分，FeL 表示新生成的络合物，FeC 表示铁沉积物，C 表示沉积铁的配体(除 Fe³⁺外其他络合物、沉积物的电荷均略去)，则有下列平衡存在：



由于体内游离 Fe³⁺浓度无法测知，中药中能够与 Fe³⁺形成络合物的配体成分 L 有待筛选，那么体内研究是无法进行的。如果能够建立测定游离 Fe³⁺浓度的方法，则可进行体外筛选。虽然能够与 Fe³⁺络合的中药成分未知，浓度也未知，但如果在一一定量的中药中加入一定量的 Fe³⁺，当测知加入的游离 Fe³⁺浓度变小时，说明所加中药中含有与 Fe³⁺络合

作用强的成分存在，这样就可以筛选出对 Fe³⁺络合作用强的中药。然后再对所选中药进行分离、筛选、追踪，最后就可能找到对 Fe³⁺络合作用强的成分，此类成分很可能就是中药驱除体内过量铁的活性成分，也可能就是中药治疗阿尔茨海默病、帕金森综合症和 OP 等与铁过载有关疾病的物质基础。所有这些研究的起点和关键是要建立测定中药煎液中游离 Fe³⁺的灵敏方法。

本实验基于查阅文献基础，选择临床报道治疗阿尔茨海默病、帕金森综合症及 OP 的常用中药(主要为补肾中药)，如续断、锁阳、补骨脂等。同时选择未见临床报道治疗以上 3 类疾病的中药作为对比，如桔梗、绞股蓝等。

利用游离态 Fe³⁺对无色罗丹明 B 螺环酰肼衍生物(FD1)的催化开环作用，使无色的试剂开环后显示出罗丹明 B 的颜色^[14]。该颜色的吸光度与游离 Fe³⁺浓度成比例，以此来测定游离态 Fe³⁺的浓度，并进一步评估中药煎液对 Fe³⁺的络合强度。反应式见图 1。

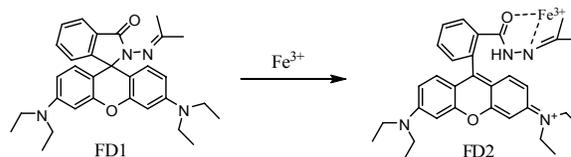


图 1 FD1 与 Fe³⁺络合原理

Fig. 1 Principle of FD1 complexing with Fe³⁺

1 仪器与材料

岛津 UV2550 紫外分光光度计(深圳市赛亚泰科仪器设备有限公司)。

药材购买于同仁堂西安分店，经西安市药检所谢志民研究员鉴定，均为正品药材(符合《中国药典》2010 年版规定)。续断 *Dipsacusasper* Wall. ex Henry，产地四川攀枝花；锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr，产地甘肃酒泉；巴戟天 *Morinda officinalis* How，产地广东肇庆；沙苑子 *Astragalus complanatus* R. Br.，产地陕西渭南；葫芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L.，产地河南郑州；骨碎补 *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm.，产地四川西昌；仙茅 *Curculigo orchoides* Gaertn.，产地四川宜宾；狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm.，产地广西南宁；菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam.，产地河南洛阳；地榆 *Sanguisorba officinalis* L.，产地河南郑州；黄柏 *Phellodendron chinense* Schneid.，产地四川都江堰；

远志 *Polygala tenuifolia* Willd., 产地陕西渭南; 绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino, 产地陕西安康; 拳参 *Polygonum bistorta* L., 产地山西陵川; 川贝母 *Fritillaria cirrhosa* D. Don, 产地四川绵阳; 玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce, 产地河南郑州; 桂枝 *Cinnamomum cassia* Presl, 产地广东肇庆; 钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil., 产地四川绵阳; 泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep., 四川彭山; 桔梗 *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC., 产地安徽亳州。蒸馏水洗净, 80 °C 烘干 6 h 备用。

所用试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 试剂的合成

按照文献方法^[15]合成试剂FD1, 精密称取罗丹明B 3.0 g至500 mL圆底烧瓶中, 以甲醇作溶剂加入过量水合肼, 回流3 h, 冷却待析出固体后抽滤, 并用水洗3次, 固体经干燥得罗丹明B肼。精密称取罗丹明B肼1 g, 与丙酮搅拌反应6 h, 经减压蒸馏回收丙酮, 即析出白色粉末, 得终产物FD1, 产率40%, 熔点为215~217 °C, 质量分数为98%。核磁及质谱数据为¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.87 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.56 (s, 2H), 7.11 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 6.43 (s, 1H), 6.38 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.35 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.37 (d, $J = 7.0$ Hz, 8H), 1.95 (s, 3H), 1.75 (s, 3H), 1.16 (d, $J = 7.0$ Hz, 12H)。MS (EI): m/z 496.5 (M⁺), C₃₁H₃₆N₄O₂元素分析: 计算值: C 74.97%、H 7.31%、N 11.28%; 实测值: C 74.84%、H 7.17%、N 11.32%。

2.2 各药材水煎液的制备

准确称取各药材 10.000 g, 加水 150 mL 浸泡 60 min, 然后用大火煮沸, 后改用文火保持微沸 30 min, 再用 4 层纱布滤过, 滤液保留, 滤渣分别加水 100、100 mL, 重复以上操作方法再煎煮 2 次各 20 min, 合并 3 次滤液静置冷却, 待次日高速离心 20 min, 取上清液定容至 100 mL 再稀释 10 倍, 相当于生药 0.01 g/mL 待测^[14]。

2.3 标准溶液的制备

精确称取分析纯无水三氯化铁 162.2 mg (1 mmol), 用水定容至 1 L 量瓶中, 配置成 1 mmol/L 的 Fe³⁺标准储备溶液, 备用。将已配制好的 Fe³⁺标准储备溶液分别稀释至 0.8、0.6、0.4、0.2、0.08、0.06、0.04、0.02 mmol/L。

2.4 FD1 试剂配制

精密称取 FD1 试剂 40.0 mg, 用无水乙醇定容至 100 mL 量瓶中, 配置成 0.81 mmol/L 的溶液, 备用。

2.5 吸收波长考察

精密吸取 0.1 mmol/L 标准 Fe³⁺溶液 2 mL, 以及 FD1 (0.81 mmol/L) 试剂溶液 2 mL 于 5 mL 量瓶内, 用 20 mmol/L, pH 7 的 4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲溶液 (hepes 缓冲液) 定容至刻度, 摇匀, 利用紫外-可见分光光度计进行波长扫描。经测试 FD1-Fe³⁺络合物显色后, 全波长扫描得最大吸收波长为 563 nm, 见图 2。

2.6 pH 值考察

精密吸取水溶液 2 mL, 以及 FD1 (0.81 mmol/L) 试剂溶液 2 mL 于 5 mL 量瓶内, 以 pH 3.6~8.5 hepes 缓冲液分别定容至刻度, 并混合均匀。测定各样品在 563 nm 处吸光度 (A) 值。经测定 FD1 在 pH 3.6~8.5 hepes 缓冲液中 A 值, 发现最适 pH 值为 6.5~7.5, 见图 3。

2.7 线性关系考察

准确移取各浓度 Fe³⁺标准溶液各 2 mL 于 5 mL 量瓶中, 加入 FD1 (0.81 mmol/L) 试剂溶液 2 mL,

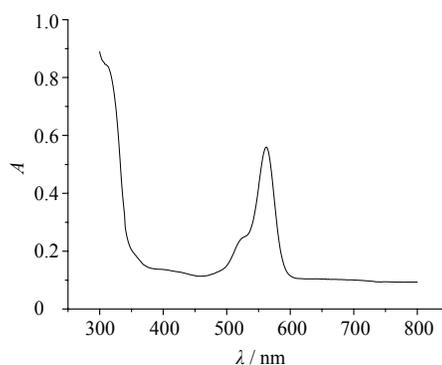


图2 Fe³⁺-FD1 络合物紫外可见吸收光谱
Fig. 2 UV-Vis spectrum of Fe³⁺-FD1 complex

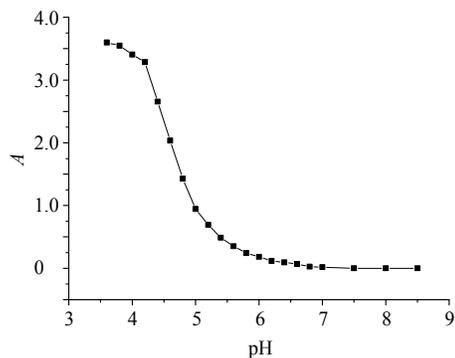


图3 pH 值对 FD1 吸收的影响
Fig. 3 Effect of pH values on FD1 absorption

用 hepes 缓冲液定容至刻度, 摇匀, 显色, 于特定波长处测 A 值, 以 Fe^{3+} 质量浓度为横坐标, 以 A 值为纵坐标绘制标准曲线。在实验条件下, Fe^{3+} 质量浓度在 1.68~22.4 mg/L 符合比尔定律, 线性回归方程为 $A=4.662 C-0.1113$, $r=0.9990$, 检出限为 0.032 mg/L。

2.8 显色时间的影响

精密吸取 0.1 mmol/L 标准 Fe^{3+} 溶液 2 mL, 以及 FD1 (0.81 mmol/L) 试剂溶液 2 mL 于 5 mL 量瓶内, 用 hepes 缓冲液定容至刻度, 摇匀, 显色时间 5、15、25、30 min 后测其在 563 nm 处 A 值并绘制在不同时间 A 值与浓度之间的关系图, 见图 4。通过对 FD1- Fe^{3+} 络合物显色 5、15、25、30 min 后, 对于其线性关系的考察结果, 5 min 时间最适, 线性关系良好。

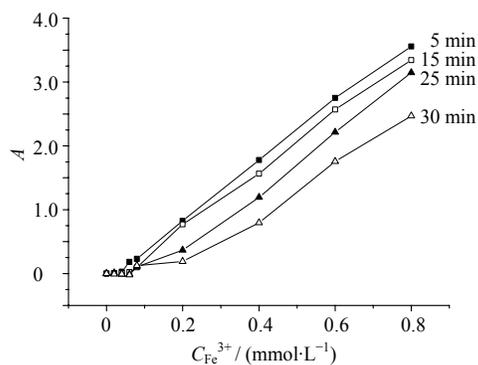


图 4 显色时间对线性关系的影响

Fig. 4 Effect of color time on linear relationship

2.9 专属性考察

在测定 0.1 mmol/L 标准 Fe^{3+} 溶液时, 当误差小于 5% 时, 共存离子可允许倍数 (是指当除 Fe^{3+} 以外的其他金属离子以 Fe^{3+} 多少倍共存但是不影响 Fe^{3+} 定量测定时, 所允许的倍数) 为 Mg^{2+} (300 倍), Zn^{2+} 、 Co^{2+} (200 倍), Ni^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 、 Ag^+ (100 倍), Pb^{2+} (50 倍), Fe^{2+} (5 倍), Cu^{2+} (1 倍) (加入不同倍数的共存离子, 测定其在 563 nm 处 A 值, 当该值与为加入共存离子的标准 Fe^{3+} 溶液 A 值之间误差不大于 5%)。虽然 Cu^{2+} 的允许倍数为 1 倍, 但是中药中一般 Fe 质量分数高, 而 Cu 质量分数很低, 所以不会对 Fe 的测定构成影响, 说明该方法具有良好的选择性。

2.10 精密度考察

精密吸取 0.1 mmol/L 标准 Fe^{3+} 溶液 2 mL 各 6 份, 按照标准曲线制备方法进行检测分析, 记录 A 值, 结果其 RSD 值为 1.10%, 表明该方法具有良好

的精密度。

2.11 稳定性考察

精密吸取连续供试品溶液 2 mL, 按照标准曲线制作方法进行分析测试, 每隔 5 min 测试 1 次, 连续测试 6 次, 记录 A 值, 结果其 RSD 值为 1.92%, 表明 Fe^{3+} 在供试品溶液中 30 min 内稳定。

2.12 重复性考察

准确称取续断药材 10.000 g, 按“2.2”项方法操作。精密吸取 6 份同质量浓度的上述续断供试品溶液, 按照标准曲线制备方法进行检测分析, 记录 A 值, 结果其 RSD 值为 1.80%, 表明该方法具有良好的重复性。

2.13 加样回收率试验

紫外-可见分光光度法测定中药水煎液中 Fe^{3+} 的量, 在各中药饮片水煎液干法消化样品中, 添加 3 个水平的 Fe^{3+} 标准品, 进行回收率试验。标准 Fe^{3+} 溶液浓度为 0.1、1、2 mmol/L, 按照标准曲线制备方法进行检测分析, 3 个水平各重复 6 次测定。结果表明, 标准 Fe^{3+} 的平均加标回收率在 90.45%~104.11%, 重复性 RSD < 5%。该方法回收率较高, 重复性良好, 可应用于中药水煎液中成分对铁络合强度的测定。

2.14 铁络合能力测定

准确移取各药材水煎液各 2 mL 于 5 mL 量瓶中, 加入 FD1 (0.81 mmol/L) 试剂溶液 2 mL, 用 hepes 缓冲液定容至刻度, 混合均匀, 显色后于 563 nm 处测 A 值, 以 A 值计算煎液中游离态 Fe^{3+} 的量; 准确移取各药材水煎液、0.1 mmol/L 标准 Fe^{3+} 溶液各 2 mL 于 5 mL 量瓶中, 加入 FD1 (0.81 mmol/L) 试剂溶液 2 mL, 用 hepes 缓冲液定容至刻度, 混合均匀, 显色后于 563 nm 下测定 A 值, 以 A 值计算络合量以显示对 Fe^{3+} 的络合能力。准确移取各中药饮片水煎液 2 mL 于 5 mL 量瓶中, 准确加入 2 mL 水代替试剂 FD1 用 hepes 缓冲液定容至刻度, 摇匀, 于 563 nm 波长处测定 A 值, 作为样品空白。测定结果见表 1 (其中, Fe^{3+} 加入量为 11.20 μg)。

$$\text{Fe}^{3+}\text{络合率} = \frac{\text{Fe}^{3+}\text{络合量}}{\text{Fe}^{3+}\text{加入量}} = \frac{\text{游离态 Fe}^{3+}\text{量} + \text{Fe}^{3+}\text{加入量} - \text{Fe}^{3+}\text{测得量}}{\text{Fe}^{3+}\text{加入量}}$$

3 讨论

本实验基于 Fe^{3+} 对于螺环罗丹明 B 酰肼衍生物开环反应的催化作用, 建立了测定中药煎液中游离态 Fe^{3+} 的方法。在中药煎液中加入一定量的标准 Fe^{3+} 溶液, 然后测定其游离态 Fe^{3+} 的回收率, 进而

表 1 中药与 Fe³⁺络合率测定结果

Table 1 Determination on strength of CMM complexing with Fe³⁺

样品	游离态 Fe ³⁺ 量 / (μg·g ⁻¹)	加入 Fe ³⁺ 后 Fe ³⁺ 测得量 / μg	络合率 / %	样品	游离态 Fe ³⁺ 量 / (μg·g ⁻¹)	加入 Fe ³⁺ 后 Fe ³⁺ 测得量 / μg	络合率 / %
续断	10.72	13.55	74.74	黄柏	16.54	22.43	47.41
锁阳	13.04	14.80	84.28	远志	23.87	30.40	41.69
巴戟天	10.28	14.21	64.91	绞股蓝	15.02	21.55	41.70
沙苑子	11.85	13.99	80.88	拳参	19.58	4.65	41.48
葫芦巴	9.68	12.57	74.15	川贝母	25.10	32.28	35.90
骨碎补	22.53	24.91	78.76	玉竹	13.68	20.45	39.53
仙茅	14.33	17.20	74.37	桂枝	18.44	25.47	37.20
狗脊	42.76	46.84	63.57	钩藤	21.12	25.05	40.99
菟丝子	10.34	18.58	26.39	泽泻	15.29	22.10	39.23
地榆	27.50	34.82	34.66	桔梗	18.71	23.46	57.55

建立了中药煎液对 Fe³⁺络合能力的体外评估方法。该方法具有简便、灵敏、选择性高、容易推广和应

用的特点。中药治疗与铁过载有关的疾病具有很好的效果，但从现代科学看，其机制不明、物质基础不清，严重影响了其推广应用，也无法制定相应的质量控制标准，使其临床效果难以保障。本实验研究结果虽然离弄清中药治疗铁过载的机制和物质基础还有一定距离，但分析筛选方法的建立使得此项研究能够开展并预期能够取得成果，因此必将推动此项研究的进步。

结果显示续断、锁阳、巴戟天、沙苑子、葫芦巴、骨碎补、仙茅、狗脊 8 种补肾中药对铁的络合强度较高 (63.57%~84.28%)，这与临床报道治疗老年痴呆症及 OP 常用补肾药是一致的。也说明这些补肾药中可能含有对 Fe³⁺络合能力较强的成分，值得深入研究。同时，经查阅相关文献发现补肾中药中络合率较高的续断、锁阳、沙苑子、仙茅、骨碎补的主要成分都为三萜皂苷类，并且在其他对比中药饮片桔梗的络合率较高，其主要成分也为三萜皂苷类，所以，由此推测三萜皂苷类化学成分可能更容易与游离 Fe³⁺进行络合。本课题组将进一步实验证实这一推测，为中药治疗铁过载疾病机制进行证据补充。

参考文献

[1] 毕桂宏. 简析微量元素铁与中药临床疗效的相关性 [J]. 中医中药, 2011, 9(32): 161-162.
 [2] 吕金荣. 微量元素铁与人体健康 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(3): 63-64.

[3] 单振芬. 微量元素与人体健康 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(3): 66-67.
 [4] 夏敏. 必需微量元素与人体健康 [J]. 广东微量元素科学, 2003, 10(1): 11-16.
 [5] 刘旭新. 微量元素铁代谢的研究进展 [J]. 广东微量元素科学, 2001, 8(1): 11-15.
 [6] 赵国阳, 徐又佳. 铁过载的研究进展 [J]. 江苏医药, 2012, 38(2): 205-207.
 [7] 杨卉, 曹学兵. 铁与帕金森病相关性研究的近况国外医学: 神经病学神经外科学分册 [J]. 2000, 27(4): 180-183.
 [8] 冯玉爽, 徐又佳, 钱忠明. 铁过载与骨质疏松症 [J]. 江苏医药, 2011, 37(11): 1320-1321.
 [9] 王兵, 徐又佳. 铁过载检测在骨质疏松症诊断中的作用 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2012, 5(1): 69-72.
 [10] Lei P, Ayton S, Finkelstein D I, et al. Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export [J]. *Nat Med*, 2012, 18(2): 291-295.
 [11] Kepp K P. Bioinorganic chemistry of Alzheimer's Disease [J]. *Chem Rev*, 2012, 112(10): 5193-5239.
 [12] Savelieff M G, Lee S, Liu Y, et al. Untangling amyloid-β, tau, and metals in Alzheimer's Disease [J]. *ACS Chem Biol*, 2013, 8(5): 856-865.
 [13] 何银峰, 徐又佳. 铁螯合剂在铁过载骨质疏松症中的应用前景 [J]. 国际骨科学杂志, 2011, 32(4): 226-227.
 [14] Zhan M, Gao Y H, Li M Y, et al. A selective turn-on fluorescent sensor for Fe(III) and application to bioimaging [J]. *Tetrahedron Lett*, 2007, 48(21): 3709-3712.
 [15] 杨宏梅, 付红梅. 中药煎煮方法及注意事项 [J]. 中国实用医药, 2010, 5(13): 241.