

活细胞固相色谱法联合高分辨质谱快速筛选龙血竭中镇痛活性成分

汤 丹^{1,2,3,4}, 肖 伟⁵, 钱正明⁶, 曹东敏^{1,2,3,4}, 黄广泉^{1,2,3,4}, 罗家敏^{1,2,3,4}, 聂 红^{5*}, 王淑美^{1,2,3,4*}

1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 国家中医药管理局 中药数字化质量评价技术重点实验室, 广东 广州 510006

3. 广东省中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006

4. 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006

5. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632

6. 广东东阳光药业有限公司 国家中医药管理局重点实验室, 广东 东莞 523850

摘要: **目的** 采用活细胞固相色谱法及高分辨液质联用技术快速筛选鉴定龙血竭中潜在的镇痛活性成分。**方法** 首先采用 HPLC-DAD-TOF-MS 法对龙血竭药材中的主要化学成分信息进行表征, 进一步选择以疼痛相关的离子通道受体表达丰富的小鼠背根神经元细胞为靶细胞, 先使龙血竭提取液中的活性成分与靶细胞特异性结合, 应用液质联用技术快速鉴定与细胞靶向亲和的化学成分。**结果** 从龙血竭药材中鉴定出 21 个具有不同结构类型的主要成分, 采用活细胞固相色谱法共筛选出 10 种能与背根神经元细胞亲和的潜在活性成分, 包括二苯乙烯类 2 个、高异黄酮 2 个、高异黄酮 1 个、二氢查耳酮 2 个、黄酮寡聚体 3 个等。**结论** 应用活细胞固相色谱法与高分辨质谱联用技术可快速筛选辨识龙血竭中活性成分, 为龙血竭镇痛等活性成分的进一步研究奠定基础, 也可对中药药效物质研究提供有益的方法学参考。

关键词: 活细胞固相色谱; 液质联用; 龙血竭; 镇痛活性成分; 筛选; 二苯乙烯; 高异黄酮; 二氢查耳酮

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)11-2539-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.11.006

Rapid screening of potential analgesic ingredients from *Draconis Resina* by live cell immobilized chromatography coupled with HPLC-DAD-TOF-MS

TANG Dan^{1,2,3,4}, XIAO Wei⁵, QIAN Zheng-ming⁶, CAO Dong-min^{1,2,3,4}, HUANG Guang-xiao^{1,2,3,4},
LUO Jia-min^{1,2,3,4}, NIE Hong⁵, WANG Shu-mei^{1,2,3,4}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of SATCM, Guangzhou 510006, China

3. Engineering Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China

4. Engineering & Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Universities of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China

5. College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China

6. Key Laboratory of SATCM, Sunshine Lake Pharma Co., Ltd, Dongguan 523850, China

Abstract: **Objective** To rapidly screen the potential analgesic ingredients from *Draconis Resina* by live cell immobilized chromatography coupled with HRMS. **Methods** An HPLC-DAD-ESI-TOF-MS technique was used to rapidly identify the main chemical constituents from *Draconis Resina*. Based on the bio-specific affinity adsorption of bioactive compounds with receptors or channels on cells, the potential bioactive components in *Draconis Resina* could be selectively bound to the target cells-mice dorsal root neurons cells, then the chemical constituents with cell target affinity were identified by LC-HRMS. **Results** A total of 21 compounds

收稿日期: 2019-01-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81703671); 国家自然科学基金资助项目 (81773884); 国家自然科学基金资助项目 (81861138042); 广东省科技计划项目 (2017A020213029); 广东省中医药局科研项目 (20181066)

作者简介: 汤 丹 (1983—), 男, 博士后, 研究方向为中药药效物质与新药研发。Tel: (020)39352177 E-mail: tdpharm@126.com

*通信作者 王淑美 (1966—), 女, 教授, 研究方向为中药药效物质。Tel: (020)39352177 E-mail: 2395903468@qq.com

聂 红 (1970—), 女, 教授, 研究方向为中药药理。Tel: (020)85222810 E-mail: hongnie1970@163.com

with various structures were tentatively identified and characterized by HPLC-DAD-ESI-TOF-MS, and among them, 10 potentially analgesic active ingredients in *Draconis Resina* extract combined with dorsal root neurons cells were successfully detected and identified, including two stilbene, two homoisoflavones, one homoisoflavone, two dihydrochalcone, and three flavonoid oligomers.

Conclusion Live cell immobilized chromatography coupled with LC-DAD-HRMS analysis could provide a rapid and efficient tool for finding the potential bioactive components in *Draconis Resina* for the next pharmacology studies, which provide the reference for exploring of effective materials basis in Chinese medicines.

Key words: live cell immobilized chromatography; liquid chromatography-mass spectrometry; *Resina Draconis*; analgesic ingredients; screening; stilbene; homoisoflavones; dihydrochalcone

龙血竭为百合科植物剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的含脂木材经提取得到的树脂, 又名国产血竭, 主产于广西和云南^[1]。龙血竭具有活血化瘀、消肿止痛等功效, 被誉为“活血圣药”, 现代药理研究表明其具有广泛的药理活性, 近期对龙血竭的药效研究逐渐聚焦在镇痛作用方面^[2-4]。龙血竭现也已被开发成多种制剂, 如龙血竭胶囊、龙血通络胶囊、散结镇痛胶囊等, 在临床上广泛运用, 特别是在外科疼痛、妇科疼痛、心绞痛等方面疗效确切, 值得深入挖掘^[5]。龙血竭的化学成分复杂, 主要包括龙血素 A 和 B 等二氢查耳酮、白藜芦醇和紫檀芪等二苯乙烯类成分^[6-9], 但其镇痛等药效物质仍有待进一步研究。

现代药理学研究表明, 药物可与细胞膜上的受体、离子通道等特异性结合从而发挥镇痛等系列药理作用。活细胞固相色谱技术便是基于此理论发展而来的一种符合中医药整体观及多成分、多靶点整体作用特点的中药活性成分筛选技术, 其通过药物可与靶点特异性结合的原理, 采用特定的靶细胞, 将中药等复杂体系中的活性成分进行靶向富集分离, 进而应用于中药药效物质的筛选^[10-11]。

背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 是脊神经后根进入脊髓后角前在椎间孔处的椭圆形膨大结构, 是躯体感觉初级传入神经元细胞体的聚集处, 包含感觉神经细胞, 是痛觉、温度 (冷、热)、机械性触压等感觉传导路径中重要的信号整合和传递中心^[12]。研究表明 DRG 细胞膜上覆盖了大量表达丰富的与疼痛相关的多个离子通道 (如 TRP 家族等)^[13-14], 因此 DRG 细胞是一种理想的用于镇痛中药活性成分筛选的靶细胞。

为阐明龙血竭中的镇痛活性成分, 本研究首先采用高分辨液质联用技术, 对龙血竭药材中的主要化学成分信息进行表征, 进一步以疼痛相关的离子通道受体表达丰富的背根神经元为靶细胞, 采用活细胞固相色谱技术, 对龙血竭中的镇痛活性成分进

行快速筛选辨识, 为后续深入研究奠定基础。

1 材料

U3000 型高效液相色谱仪 (美国 DIONEX 公司); Agilent 6200 型高分辨飞行时间质谱仪 (美国 Agilent 公司); ATY124 型万分之一电子天平 (日本 Shimadzu 公司); 二氧化碳培养箱 (美国 Bio-Rad 公司); 超净工作台 (苏州净化设备股份有限公司); 相差倒置显微镜 (日本 Olympus 公司)。

对照品 7,4'-二羟基黄酮 (批号 PS17051302)、白藜芦醇 (批号 PS17061903)、龙血素 A (批号 PS17032201)、龙血素 B (PS17021701) 和紫檀芪 (PS17061302), 购自成都普思生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%。乙腈、甲酸均为色谱纯, 水为自制超纯水。龙血竭样品来源于云南, 经广东药科大学中药学院中药资源系马鸿雁副教授鉴定为百合科植物剑叶龙血树 *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的树脂。

小鼠背根神经节细胞购自赛齐 (上海) 生物工程有限公司。DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); 胰蛋白酶 (美国 Gibco 公司); 青霉素 (美国 Gibco 公司); 链霉素 (美国 Gibco 公司)。

2 方法与结果

2.1 细胞培养

小鼠 DRG 细胞培养在高糖 DMEM 培养基中 (含 25 mmol/L 葡萄糖、12% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素), 在 37 °C、含 5% CO₂ 的培养箱中培养, 隔天换液。待细胞融合度达 90% 时, 细胞传代, 先倒尽瓶中的培养基, 加入适量的 0.25% 胰蛋白酶消化后轻轻吹打, 吹散细胞团成单细胞悬液, 取对数生长期的细胞用于后续实验, 一般按 1:2 比例传代培养。

2.2 色谱和质谱条件

色谱柱 Merck Purospher® STAR LP-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.1% 甲酸溶液 (A) -

乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~4 min, 17%~25% B; 4~15 min, 25%~35% B; 15~17 min, 35% B; 17~34 min, 35%~57% B, 体积流量 2.0 mL/min。质谱分析采用 1:3 柱后分流模式, 柱温 40 °C, 检测波长 280 nm, 进样量 20 μ L。高分辨质谱采用电喷雾离子源 (ESI) 正、负离子模式, 雾化气为高纯氮气。具体质谱参数: 正离子模式下毛细管电压 3 500 V, 雾化器压力 0.3 MPa, 干燥器温度 350 °C, 干燥气体体积流量 10 L/min; 离子扫描范围 m/z 100~1 500; 负离子模式下毛细管电压 4 000 V, 其他参数同正离子模式。测定样品之前, 使用调谐液校准质量轴, 以保证质量精度误差小于 5×10^{-6} 。

2.3 供试品溶液的制备

取龙血竭药材粉末 0.3 g, 置三角锥形瓶中, 加入 80% 甲醇水 50 mL, 反复振摇使其完全溶解, 12 000 r/min 高速离心 10 min, 取上清液, 作为龙血竭药材对照溶液, 供后续药材特征图谱分析用。另取龙血竭药材粉末 1 g, 加入纯化水 50 mL, 100 °C 水浴加热提取 1 h, 12 000 r/min 高速离心 10 min, 取上清液, 作为龙血竭药材水提液, 供后续活细胞固相相色谱分析用。

2.4 对照品溶液的制备

分别精密称取 7,4'-二羟基黄酮、白藜芦醇、龙血素 A、龙血素 B、紫檀芪对照品各 5 mg, 用甲醇溶解并稀释至 10 mL, 摇匀, 即得单一对照品储备液, 分别精密吸取 1 mL 单一对照品储备液, 用 80% 甲醇水稀释至 10 mL, 摇匀, 即得。

2.5 活细胞固相色谱筛选

①小鼠 DRG 细胞固相色谱筛选龙血竭中的亲和吸附成分: 待细胞长满培养皿后弃去培养基并用 PBS 冲洗 2 次, 每次 1 mL, 取 2 mL 龙血竭水提液加入细胞培养皿中 (空白对照组不加入龙血竭水提液, 加入同体积的 PBS, 后续实验与实验组同步操作), 并与 37 °C 培养箱中孵育 1 h, 使龙血竭水提液中活性成分充分与 DRG 细胞孵育结合。②非结合成分的洗脱: 弃去龙血竭水提液, 并用 PBS 冲洗 7 次, 每次 1 mL, 弃去洗脱液, 收集最后一次 PBS 清洗液。③细胞亲和成分的解离: 向 DRG 细胞中加入 pH 4.0 醋酸盐缓冲液并在 37 °C 培养箱孵育 30 min 使其完全解离。④解离液分析: 将解离液按上述色谱条件进行分析, 通过比较活性成分解离液、第 7 次清洗的清洗液和龙血竭指纹图谱中各吸收峰, 确定与 DRG 细胞有亲和吸附作用的成分。

2.6 龙血竭化学成分数据库的构建

通过系统检索 CNKI、PubMed、Scopus、SciFinder 等专业数据库中龙血竭化学成分信息, 利用 ChemBioFinder 软件建立了龙血竭药材的化学成分信息库, 包括编码、CAS 号、中英文名称、结构式、分子式、精确相对分子质量、参考文献等, 为后续成分鉴定奠定基础。

3 结果

3.1 龙血竭中化学成分的高分辨液质分析

按优化好的液质联用分析条件, 对龙血竭药材提取液进行 HPLC-DAD-ESI-TOF-MS 分析。龙血竭药材的代表性紫外色谱图 (280 nm) 及正、负离子模式下的质谱总离子流图如图 1 所示, 可见在优化的色谱条件下, 龙血竭药材中主要化学成分能得到较好地分离。化合物的鉴定中, 首先通过正负离子质谱信息、离子丰度等方法确定色谱峰的准分子离子, 利用 Agilent MassHunter Qualitative 数据分析软件, 根据 TOF-MS 的精确相对分子质量及同位素分布情况得到分子式, 结合建立的化学成分数据库进行搜索匹配, 推断出可能的候选化合物。同时通过调节 TOF-MS 的毛细管电压可得各化合物的裂解碎片离子, 根据各化合物的精确质荷比、保留时间、裂解特征性碎片离子对龙血竭中的化学成分进一步确证。采用本法共鉴定出龙血竭药材中共计 21 个主要化合物, 其中通过对照品数据推断出 5 个化合物, 通过文献数据^[15-17]推断出 16 个化合物, 误差值均小于 5×10^{-6} 。结果见表 1。

由表 1 可知, 龙血竭药材中成分种类丰富, 主要为黄酮苷元类成分, 根据结构骨架类型不同, 包

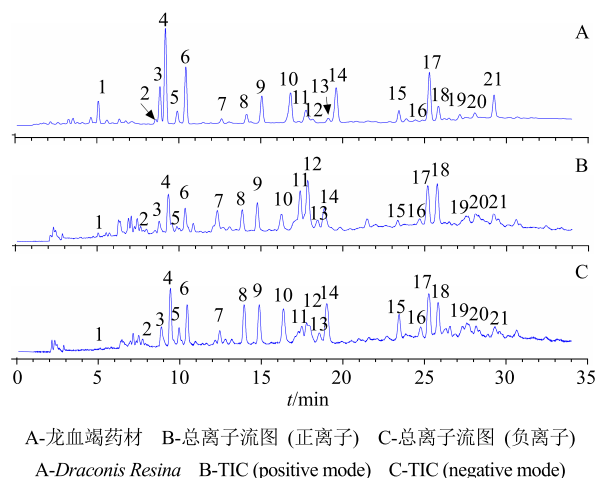


图 1 龙血竭 HPLC-DAD-ESI-TOF-MS 图谱

Fig. 1 HPLC-DAD-ESI-TOF-MS of *Draconis Resina*

表 1 龙血竭的高分辨质谱化学成分鉴定

Table 1 Identification of chemical compounds from *Draconis Resina*

峰号	t_R/min	$[M-H]^-$	误差/ $(\times 10^{-6})$	$[M+H]^+$	误差/ $(\times 10^{-6})$	分子式	鉴定化合物
1	5.091	299.093 7	-3.34	301.107 4	-0.99	$C_{17}H_{16}O_5$	10,11-二羟基-7-甲氧基龙血树酮 C
2	8.796	253.051 7	-4.06	255.065 6	-1.35	$C_{15}H_{10}O_4$	7,4'-二羟基黄酮*
3	8.934	227.072 3	-3.90	229.086 3	-1.46	$C_{14}H_{12}O_3$	白藜芦醇*
4	9.312	299.100 0	3.87	301.113 6	2.04	$C_{17}H_{16}O_5$	7,4'-二羟基-5-甲氧基高异黄烷酮
5	9.962	301.073 2	-4.23	303.086 5	-0.44	$C_{16}H_{14}O_6$	3,5,7,4'-四羟基高异黄酮
6	10.374	289.097 5	-4.24	289.107 9	-2.56	$C_{16}H_{16}O_5$	龙血素 D
7	12.472	523.174 1	-1.00	525.194 3	-4.83	$C_{32}H_{28}O_7$	龙血竭红素 A
8	14.279	271.101 9	-2.16	273.112 8	3.04	$C_{16}H_{16}O_4$	龙血素 C
9	15.072	301.112 0	-1.46	303.123 3	-1.75	$C_{17}H_{18}O_5$	4,4'-二羟基-2,6-二甲氧基二氢查耳酮
10	16.715	285.075 8	-2.51	287.091 4	0.14	$C_{16}H_{14}O_5$	5,7,4'-三羟基高异黄烷酮
11	17.914	255.102 4	2.35	257.118 0	2.62	$C_{16}H_{16}O_3$	7,4'-二羟基高异黄烷
12	18.295	285.113 3	-0.82	287.129 5	-3.81	$C_{17}H_{18}O_4$	7,4'-二羟基-8-甲氧基高异黄烷
13	19.480	301.109 2	-3.29	303.122 6	0.18	$C_{17}H_{18}O_5$	2,4'-二羟基-4,6-二甲氧基二氢查耳酮
14	20.095	285.112 0	-1.91	287.128 2	-1.17	$C_{17}H_{18}O_4$	7,4'-二羟基-5-甲氧基高异黄烷
15	23.392	527.208 3	-1.19	529.202 1	2.15	$C_{32}H_{32}O_7$	cinnabarone
16	24.732	543.203 4	1.66	545.217 1	0.09	$C_{32}H_{32}O_8$	hydroxyl cinnabarone
17	25.176	285.120 8	-4.86	287.128 5	2.16	$C_{17}H_{18}O_4$	龙血素 A*
18	25.865	315.128 1	-3.85	317.139 0	1.60	$C_{18}H_{20}O_5$	龙血素 B*
19	27.649	541.223 3	0.31	543.237 4	1.00	$C_{33}H_{34}O_7$	剑叶龙血素 B
20	28.096	299.093 4	-2.84	301.107 4	-0.93	$C_{17}H_{16}O_5$	7,4'-二羟基-8-甲氧基高异黄烷酮
21	29.229	255.103 6	-3.70	257.118 1	1.71	$C_{16}H_{16}O_3$	紫檀芪*

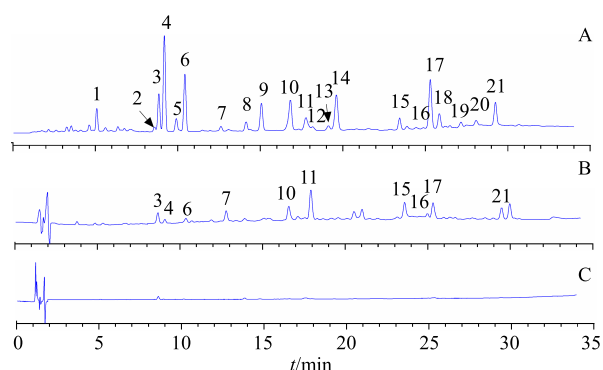
*采用对照品对比鉴定

*Identified by comparing with reference standards

括黄酮 1 个(化合物 2)、高异黄烷 3 个(化合物 11、12、14)、高异黄酮 4 个(化合物 4、5、10、20)、二氢查耳酮 6 个(化合物 6、8、9、13、17、18)、黄酮寡聚体 4 个(化合物 7、15、16、19)、以及二苯乙烯类 2 个(化合物 3、21)等。

3.2 龙血竭 DRG 细胞固相色谱分析

采用镇痛靶细胞——小鼠 DRG 细胞与龙血竭提取液进行孵育结合后洗脱,第 7 次洗脱液图谱中无色谱峰出现,说明非吸附成分已经被完全清洗干净。如图 2 所示,经对比龙血竭提取液与解离液可以确定 10 个与 DRG 细胞特异性结合的特征峰,其结构类型多样,分别为二苯乙烯类 2 个(白藜芦醇、紫檀芪)、高异黄酮 2 个(7,4'-二羟基-5-甲氧基高异黄烷酮、5,7,4'-三羟基高异黄烷酮)、高异黄烷 1 个(7,4'-二羟基高异黄烷)、二氢查耳酮 2 个(龙血素 A、龙血素 D)、黄酮寡聚体 3 个(龙血竭红素 A、



A-龙血竭药材 B-DRG 细胞解离液 C-DRG 细胞空白对照解离液

A-Draconis Resina B-dissociative eluate of DRG cells
C-dissociative eluate of blank cells

图 2 龙血竭 DRG 细胞固相色谱

Fig. 2 DRG cell immobilized chromatography analysis of *Draconis Resina*

hydroxyl cinnabarone、cinnabarone) 等, 可以认为这些成分是与 DRG 细胞膜上靶点结合的潜在效应成分群。同时 DRG 细胞空白对照中的解离液图谱中也无出峰(图 2-C), 排除了细胞膜上内源性物质的干扰, 进一步说明了筛选得到的这 10 个成分是与 DRG 细胞膜上受体有亲和作用的潜在活性成分。

4 讨论

本研究首先采用 HPLC-DAD-TOF-MS 高分辨液质联用技术, 对龙血竭药材中的化学成分信息进行了研究, 通过 TOF-MS 提供化合物的准确分子质量、碎片离子信息, 结合参考文献及部分对照品保留时间和质谱数据, 并结合自建的龙血竭化学成分信息数据库, 对龙血竭药材中的主要化学成分进行在线快速检出及结构推断, 共从龙血竭药材中鉴定出 21 个具有不同结构类型的主要成分, 为后续阐明龙血竭的药效物质基础和质量控制提供了依据。

活细胞固相色谱技术由朱荃等^[10]首次提出, 该方法属于生物色谱法范畴, 其原理是采用活细胞“固相化萃取”中药粗提液, 其中的“垂钓成分”(潜在效应成分)会与靶细胞上靶点(如离子通道受体等)特异性结合在细胞上, 洗去未结合成分后, 再用解离液将细胞上的成分解离下来, 通过比对中药全成分特征指纹图谱, 锁定“垂钓成分”并进一步采用液质联用等技术鉴定其结构。该方法是贺浪冲等提出的“细胞膜色谱”^[18]技术上的创新和改进, 直接取用生物靶点富集的细胞选择性的结合(固相化萃取)中药提取液中的活性成分, 通过洗脱非特异性结合成分后, 再行分离鉴定效应物质, 将生物学部分与化学分析部分分开进行, 能发挥特异性结合和色谱分析各自的长处, 且省去了传统生物色谱中载体与受体、通道和酶等蛋白质耦联的过程, 有利于保持生物靶点的活性。目前该技术已成功用于多种中药及复方活性成分群的筛选研究, 展现出良好的应用前景^[19-22]。

本实验采用活细胞固相色谱技术, 以疼痛相关的离子通道受体表达丰富的小鼠 DRG 细胞为靶细胞, 对镇痛药效确切的中药龙血竭中的活性成分进行快速筛选, 从中鉴定了 10 个与 DRG 细胞结合的潜在活性成分。其中已有文献报道二苯乙烯成分白藜芦醇为瞬时受体电位通道 TRPA1 离子通道抑制剂, 在 TRPA1 转染的人胚胎肾细胞 HEK-293 细胞中, 可抑制由 AITC 引起的内向电流, 并可减轻由 AITC 引发的疼痛反应^[23]。文献报道龙血素 A 和剑

叶龙血素 B 等可以调制 DRG 细胞河豚毒素不敏感型钠通道电流和拮抗 TRPV1, 干预痛觉信息传入, 从而通过直接干预外周痛觉信息的传导过程来发挥其镇痛效应^[24-25]。此外研究还表明其还能对广动力范围神经元的诱发放电频率具有浓度依赖的抑制作用, 从而在脊髓水平干预痛觉信息的传导和加工发挥镇痛效应^[25]。以上研究结果表明, 活细胞固相色谱法结合高分辨质谱联用技术可快速有效筛选辨识龙血竭中的潜在镇痛活性成分, 为龙血竭镇痛等活性成分的进一步研究奠定基础, 也可作为中药药效物质研究提供有益的方法学参考。

参考文献

- [1] Fan J Y, Yi T, Szeto C M, *et al.* A systematic review of the botanical, phytochemical and pharmacological profile of *Dracaena cochinchinensis*, a plant source of the ethnomedicine “dragon’s blood” [J]. *Molecules*, 2014, 19(7): 10650-10669.
- [2] Li Y S, Wang J X, Jia M M, *et al.* Dragon’s blood inhibits chronic inflammatory and neuropathic pain responses by blocking the synthesis and release of substance P in rats [J]. *J Pharmacol Sci*, 2012, 118(1): 43-54.
- [3] 刘向明, 陈素. 龙血竭外周镇痛效应的药理研究和反向药理学 [J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2008, 27(3): 40-46.
- [4] 陈素, 吴水才, 曾毅, 等. 龙血竭总黄酮抗炎镇痛作用及其镇痛机制探讨 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(5): 1030-1032.
- [5] 陈福锋, 郑亚男, 杜文杰, 等. 龙血竭胶囊抗慢性血瘀证作用的研究 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(3): 274-278.
- [6] 万青, 王文清, 方建国, 等. 一测多评法测定龙血竭中 5 种有效成分 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4541-4545.
- [7] 苏小琴, 李曼曼, 顾宇凡, 等. 龙血竭酚类成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1511-1514.
- [8] 刘芳, 戴荣继, 邓玉林, 等. 龙血竭化学成分研究进展 [J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1437-1439.
- [9] 秦建平, 林夏, 潘有智, 等. 基于指纹图谱分析和多成分同时定量的龙血通络胶囊质量评价研究 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3028-3033.
- [10] 朱荃. 细胞膜固相色谱及其在中药效应-物质基础研究中的应用 [J]. 南京中医药大学学报, 2006, 22(1): 8-13.
- [11] 毕肖林, 马世堂, 狄留庆. 中药药效物质筛选与辨识的研究思路及进展 [J]. 中草药, 2018, 49(22): 5229-5234.
- [12] 罗涛, 李力燕. 外周神经系统中背根神经节的研究进展 [J]. 解剖科学进展, 2015, 21(5): 543-546.

- [13] Hara T, Chiba T, Abe K, *et al.* Effect of paclitaxel on transient receptor potential vanilloid 1 in rat dorsal root ganglion [J]. *Pain*, 2013, 154(6): 882-889.
- [14] Kobayashi K, Yamanaka H, Noguchi K. Expression of ATP receptors in the rat dorsal root ganglion and spinal cord [J]. *Anat Sci Int*, 2013, 88(1): 10-16.
- [15] Sun J, Song Y, Sun H, *et al.* Characterization and quantitative analysis of phenolic derivatives in Longxuotongluo Capsule by HPLC-DAD-IT-TOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 145: 462-472.
- [16] Xu H, Zhang Y, Lei Y, *et al.* A systems biology-based approach to uncovering the molecular mechanisms underlying the effects of dragon's blood tablet in colitis, involving the integration of chemical analysis, ADME prediction, and network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101432.
- [17] 秦建平, 潘有智, 郎悦, 等. 龙血通络胶囊中化学成分的 RRLC-Q-TOF MS 分析 [J]. *药物分析杂志*, 2017, 37(10): 1782-1790.
- [18] 贺浪冲, 杨广德, 耿信笃. 固定在硅胶表面细胞膜的酶活性及其色谱特性 [J]. *科学通报*, 1999, 44(6): 632-637.
- [19] 焦姣姣, 杨园珍, 袁恩, 等. UPLC-Q-TOF-MS 筛选穿心莲中亲和 Caco-2 细胞的活性成分 [J]. *中草药*, 2018, 49(12): 2946-2952.
- [20] 刘思燚, 张红柱, 范菁, 等. 内皮细胞提取和 UHPLC-LTQ-Orbitrap 法分析筛选苦碟子注射液中的活性成分 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(17): 3362-3367.
- [21] 樊宏伟, 朱荃, 洪敏, 等. 血小板细胞膜固相色谱法在脉络宁注射液效应物质分析中的应用 [J]. *中国药理学杂志*, 2006, 41(1): 63-66.
- [22] 樊宏伟, 余黎, 洪敏, 等. 血小板细胞膜固相色谱法的建立及其对丹参效应物质的初步分析 [J]. *中国药理学杂志*, 2004, 39(5): 62-65.
- [23] Yu L, Wang S, Kogure Y, *et al.* Modulation of TRP channels by resveratrol and other stilbenoids [J]. *Mol Pain*, 2013, 9: 3-13.
- [24] Wei L S, Chen S, Huang X J, *et al.* Material basis for inhibition of dragon's blood on capsaicin-induced TRPV1 receptor currents in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 702: 275-284.
- [25] 刘向明, 陈素, 张玉霞, 等. 血竭对背根神经节细胞河豚毒素不敏感型钠电流的调制及其药效物质的确定 [J]. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2006, 36(1): 76-85.
- [26] 郭敏, 陈素, 刘向明. 龙血竭抑制大鼠脊髓背角广动力范围神经元诱发放电的药效物质 [J]. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2008, 38(12): 1130-1142.