

## 基于响应面和 G1-熵权法优选彝药痛风颗粒提取工艺及其药效评价

赵雪莲<sup>1,2,3</sup>, 兰建龙<sup>1,2,3</sup>, 杨正明<sup>2,3,4</sup>, 李奕松<sup>1,2,3</sup>, 海来约布<sup>1,2,3</sup>, 崔琪<sup>1,2,3</sup>, 李文兵<sup>2,3,4\*</sup>, 李利民<sup>6</sup>, 刘圆<sup>2,3,4,5\*</sup>

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041
2. 四川省羌彝药用资源保护与利用技术工程实验室, 四川 成都 610225
3. 青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室, 四川 成都 610225
4. 西南民族大学青藏高原研究院, 四川 成都 610041
5. 西南民族大学民族医药研究院, 四川 成都 610041
6. 四川省中医药科学院, 四川 成都 610041

**摘要:** 目的 优选彝药痛风颗粒 (Yi Medicine Tongfeng Granules, YMTG) 的提取工艺, 并探索其对痛风性肾病的作用, 为其新药的开发与利用提供科学依据。方法 采用主客观组合赋权和响应面法设计, 以加水倍数、浸泡时间、提取时间、提取次数为考察因素, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、虎杖苷、新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷 8 种指标成分提取率及出膏率为评价指标, 优选 YMTG 的最佳水提工艺, 并以痛风性肾病模型进行药效评价。结果 优选 YMTG 最佳提取工艺为加 12 倍水、浸泡 60 min、煎煮 3 次, 每次煎煮 80 min; 药效结果表明, YMTG 可降低痛风性肾病模型大鼠血液中尿酸质量浓度、增加尿酸排出量和尿酸清除率, 降低血液中血清肌酐、尿素氮水平, 减轻肾脏损伤。结论 优选的 YMTG 提取工艺稳定可行, 其对痛风性肾病有良好的作用。

**关键词:** 彝药痛风颗粒; G1-熵权法; Box-Behnken 响应面法; 痛风性肾病; 药效评价; 新绿原酸; 绿原酸; 隐绿原酸; 咖啡酸; 虎杖苷; 新落新妇苷; 落新妇苷; 异落新妇苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)12-3653-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.010

## Optimization extraction process of Yi Medicine Tongfeng Granules based on response surface methodology and G1-entropy weight method and its pharmacodynamic evaluation

ZHAO Xue-lian<sup>1,2,3</sup>, LAN Jian-long<sup>1,2,3</sup>, YANG Zheng-ming<sup>2,3,4</sup>, LI Yi-song<sup>1,2,3</sup>, HAI-LAI Yue-bu<sup>1,2,3</sup>, CUI Qi<sup>1,2,3</sup>, LI Wen-bing<sup>2,3,4</sup>, LI Li-min<sup>6</sup>, LIU Yuan<sup>2,3,4,5</sup>

1. College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China
2. Sichuan Qiang-Yi Medicinal Resources Protection and Utilization Technology Engineering Laboratory, Chengdu 610225, China
3. Key Laboratory of Tibetan Plateau Ethnic Medicinal Resources Protection and Utilization, National Ethnic Affairs Commission, Chengdu 610225, China
4. Institute of Qinghai-Tibetan Plateau Research, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China
5. Ethnic Medicine Institute, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China
6. Sichuan Academy of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610041, China

**Abstract: Objective** To provide a scientific basis for the development and utilization of Yi Medicine Tongfeng Granules (YMTG) by optimizing the extraction process of YMTG and exploring its effect on gouty nephropathy. **Methods** In this study, multi-objective

收稿日期: 2022-01-25

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1708005); 四川省科技计划项目 (重点研发项目) (2021YFS0043); 中央高校基本科研业务费专项资金研究类项目 (2021PTJS35)

作者简介: 赵雪莲 (1995—), 女, 彝族, 四川省米易县人, 研究方向为民族药。E-mail: 1983890037@qq.com

\*通信作者: 李文兵 (1988—), 男, 博士, 副研究员, 从事民族药炮制工艺及质量标准研究。E-mail: 285892232@qq.com

刘圆 (1968—), 女, 博士, 从事民族药品种、品质评价及新药资源保护与利用研究。E-mail: 499769896@qq.com

optimization of water extraction technology of YMTG was performed using a combination of the subjective-objective combined weighting method and the response surface method. The process parameters were considered as extraction duration, extraction times, immersion time, and water addition. The contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, polydatin, neoastilbin, astilbin, isoastilbin and the extract rate were selected as the objective functions. And gouty nephropathy model was used to evaluate the pharmacodynamics of YMTG. **Results** The results showed that the optimum process of decocting YMTG was as follow: soaking in 12 times water for 60 min, boiling three times for 8 min each time. The pharmacodynamics results showed that YMTG could reduce the concentration of uric acid in the blood of rats with gouty nephropathy, increase the excretion of uric acid and the clearance rate of uric acid, reduce the levels of serum creatinine and blood urea nitrogen, and alleviate renal injury. **Conclusion** The optimized extraction process of YMTG is stable and feasible, and which has a good effect on gouty nephropathy.

**Key words:** Yi Medicine Tongfeng Granules; G1-entropy weight method; Box-Behnken response surface method; gouty nephropathy; pharmacodynamic evaluation; neochlorogenic acid; chlorogenic acid; cryptochlorogenic acid; caffeic acid; polydatin; neoastilbin; astilbin; isoastilbin

痛风是由嘌呤代谢紊乱或尿酸排泄能力降低引起的一种终身性的疾病<sup>[1]</sup>, 已成为继糖尿病的第 2 大代谢疾病。现代医学认为, 长期食用高嘌呤食物, 机体产生的尿酸盐超出正常代谢量, 使尿酸盐沉积于结缔组织、骨骼关节、肾脏等部位。痛风患者体内嘌呤代谢紊乱, 血液中的尿酸排泄减少或者生成过多, 在肾间质的髓质、远端集合管易形成高尿酸盐的晶体沉积, 进而导致痛风性肾病, 其临床表现为腰部酸痛、尿量增加、轻度尿蛋白、尿血、肾功能不全、高血压、水肿等, 少数可表现为急性肾衰竭<sup>[2-3]</sup>。现代临床治疗痛风常用药物有秋水仙碱、非甾体类抗炎药、糖皮质激素类等, 虽在短期可缓解疼痛, 但停药会复发, 不良反应较大, 无法改善病理<sup>[4]</sup>。因此, 安全有效的治疗手段及新药研发显得极为迫切。

彝药痛风颗粒(Yi Medicine Tongfeng Granules, YMTG)以萆薢丸为基础方进行加减化裁。萆薢丸出自《太平圣惠方》卷十九, 具有坚骨益筋、养血固发的功效, 主治风湿痹症、肢体疼痛、不能行步等<sup>[5]</sup>。YMTG 在此方基础上减去方中附子、白术、枳壳, 加入虎杖、土茯苓、甘草等。土茯苓具有泄浊散结、通利关节等功效<sup>[6]</sup>, 甘草为补气健脾之要药, 虎杖为治疗痛风的传统中彝药。YMTG 原以汤剂服用, 具有清热祛湿、活血化瘀、软坚散结、通络止痛之功效, 在彝医临床用于治疗痛风已有 30 余年, 疗效确切。因此, 本实验采用响应面法结合 G1-熵权法优选 YMTG 的最佳水提工艺, 并评价其对痛风性肾病的药效作用, 为 YMTG 的新药开发提供科学依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪, 沃特世科技

(上海)有限公司; ME 电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; TSJ-Q 型全自动封闭式组织脱水机、BMJ-III 型包埋机, 常州中威电子仪器厂; 莱卡 2135 轮转式切片机, 德国 Leica 公司; CX31 光学显微镜, 日本 Olympus 公司; D2 型大鼠代谢笼, 上海泽雅科教仪器有限公司。

### 1.2 试剂与材料

对照品绿原酸(批号 110753-201817, 质量分数 96.8%)、虎杖苷(批号 11575-201603, 质量分数 87.3%)、落新妇苷(批号 111798-201805, 质量分数 93.6%)、咖啡酸(批号 110885-201703, 质量分数 99.7%), 中国食品药品检定研究院; 对照品新绿原酸(批号 2008030, 质量分数 99.56%)、隐绿原酸(批号 20042105, 质量分数 99.37%), 成都康邦生物科技有限公司; 对照品新落新妇苷(批号 18051405, 质量分数 $\geq 98\%$ )、异落新妇苷(批号 18051404, 质量分数 $\geq 98\%$ ), 成都普菲德生物科技有限公司。

苯溴马隆片(批号 1907935), 德国赫曼大药厂; 戊巴比妥钠(进口分装), 中国医药公司上海化学试剂采购供应站; 腺嘌呤(批号 H205BA0016), 生工生物工程(上海)股份有限公司; 高活性干酵母, 安琪酵母股份有限公司; 尿酸(批号 20210605)、肌酐(批号 20210615)、尿素氮(批号 20210617)、黄嘌呤氧化酶试剂盒(批号 20210612), 南京建成生物工程研究所; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析级。

药材苏木、石韦、土茯苓、桃仁、虎杖、萆薢、甘草均购自四川新荷花中药饮片股份有限公司, 批号分别为 1911015、2002086、2004063、2003132、1912147、2002133、2002165; 红牛膝采自四川省凉山彝族自治州木里藏族自治县白碉苗族乡, 采集日期 2020-11-10; 药材均经西南民族大学青藏高原研究院刘圆教授鉴定, 苏木为豆科芸实属植物苏木

*Caesalpinia sappan* L.的干燥心材、石韦为水龙骨科石韦属植物石韦 *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell.的干燥叶、土茯苓为百合科菝葜属植物光叶菝葜 *Smilax glabra* Roxb.的干燥块茎、桃仁为蔷薇科樱桃花属植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子、虎杖为蓼科蓼属植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.的干燥根茎和根、蕁薹为薯蓣科薯蓣属植物蕁薹 *Dioscorea tokoro* Makino 的干燥根茎、甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎、红牛膝为苋科杯苋属植物头花杯苋 *Cyathula capitata* Moq.的干燥根。

### 1.3 实验动物

SD大鼠, 6~8周龄, SPF级, 体质量为180~220 g, 雌雄各半, 四川省中医药科学院实验动物中

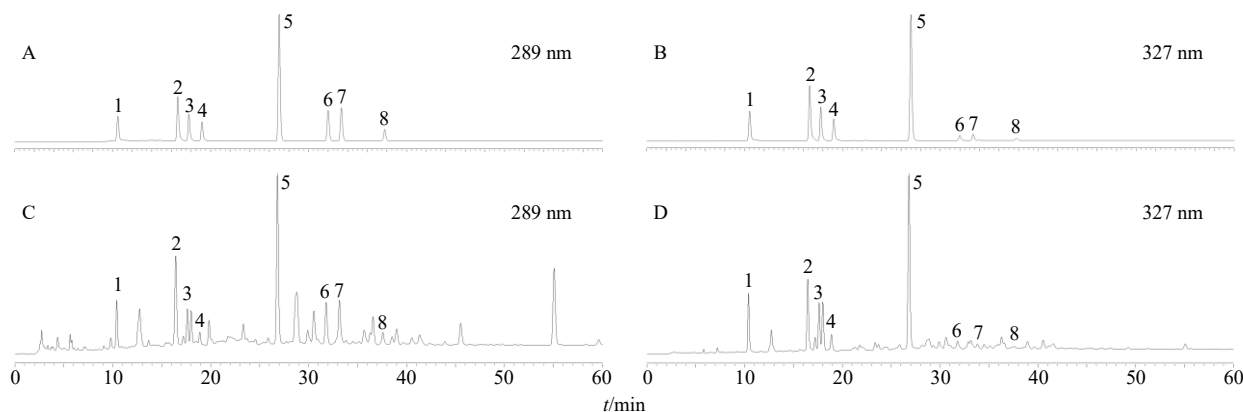
心提供, 实验动物生产许可证号: SCXK(川)2018-19。所有动物实验遵循四川省中医药科学院有关实验动物管理和使用的规定, 均符合3R原则。

## 2 方法与结果

### 2.1 8种指标成分的含量测定<sup>[7]</sup>

**2.1.1 色谱条件** Agilent Zorbax C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 甲醇-0.1%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱: 0~20 min, 12%~30%甲醇; 20~60 min, 30%~60%甲醇; 体积流量为1.0 mL/min; 进样量10 μL; 检测波长为327 nm (检测新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、虎杖苷)、289 nm (检测新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷); 柱温30 °C; 色谱图见图1。

**2.1.2 混合对照品溶液制备** 取新绿原酸、绿原酸、



1-新绿原酸 2-绿原酸 3-隐绿原酸 4-咖啡酸 5-虎杖苷 6-新落新妇苷 7-落新妇苷 8-异落新妇苷

1-neochlorogenic acid 2-chlorogenic acid 3-cryptochlorogenic acid 4-coffeic acid 5-polydatin 6-neoastilbin 7-astilbin 8-isoastilbin

图1 混合对照品溶液 (A、B)、供试品溶液 (C、D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances solution (A, B) and test sample (C, D)

隐绿原酸、咖啡酸、虎杖苷、新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷对照品适量, 精密称定, 置于25 mL量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度分别为24.6、33.4、25.4、8.1、64.1、24.7、24.3、8.0 μg/mL的混合对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液制备** 按处方量称取方中饮片, 按正交实验因素水平设计表进行煎煮, 分别合并各煎煮液, 加水稀释至相同体积, 取5 mL, 5000 r/min离心5 min, 取上清液0.45 μm微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

**2.1.4 线性关系考察** 分别吸取混合对照品溶液1、2、4、6、8、10 μL, 按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 以测得峰面积 (Y) 与各对照品质量 (X) 进行线性回归, 得到相应的回归方程及相关系数 (r), 结果分别为新绿原酸  $Y=2\ 136\ 333.83 X+$

$14\ 716.49$ ,  $r=0.999\ 2$ , 线性范围24.6~246.5 ng; 绿原酸  $Y=3\ 107\ 086.15 X+15\ 162.74$ ,  $r=0.999\ 7$ , 线性范围33.4~334.0 ng; 隐绿原酸  $Y=2\ 351\ 663.02 X+7\ 766.79$ ,  $r=0.999\ 8$ , 线性范围25.4~254.0 ng; 咖啡酸  $Y=4\ 902\ 635.63 X+8\ 500.47$ ,  $r=0.999\ 2$ , 线性范围8.1~81.0 ng; 虎杖苷  $Y=3\ 543\ 062.67 X+26\ 742.37$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围64.1~641.0 ng; 新落新妇苷  $Y=2\ 072\ 512.33 X+7\ 350.55$ ,  $r=0.999\ 7$ , 线性范围24.7~247.0 ng; 落新妇苷  $Y=2\ 283\ 757.89 X+6\ 822.31$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围24.3~243.0 ng; 异落新妇苷  $Y=2\ 370\ 275.61 X+960.45$ ,  $r=0.999\ 9$ , 线性范围8.0~80.0 ng。

**2.1.5 精密度试验** 取混合对照品溶液10 μL, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 连续6次, 记录各指标成分峰面积, 结果显示新绿原酸、绿原酸、隐绿原

酸、咖啡酸、虎杖苷、新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷 8 种指标成分峰面积的 RSD 分别为 0.73%、0.53%、0.74%、0.56%、1.46%、0.91%、0.93%、1.45%，表明该仪器精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 量取设计方案试验号 1 供试品溶液 10  $\mu$ L，按“2.1.1”项下色谱条件测定，分别在制样后的 0、2、6、12、18、24、30、36 h 进样检测，考察各成分峰面积的变化情况，计算峰面积 RSD 值，得新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、虎杖苷、新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷 8 种指标成分峰面积的 RSD 分别为 1.61%、1.75%、1.81%、1.98%、2.13%、2.56%、1.90%、2.29%，说明供试品溶液在 36 h 内稳定。

**2.1.7 重复性试验** 称取 6 份处方量样品，精密称定，按设计方案试验号 1 进行配制，按“2.1.1”项下色谱条件进样，记录测得峰面积，计算各成分含量，得新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、虎杖苷、新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷 8 种指标成分质量分数的 RSD 分别为 1.81%、0.62%、1.85%、0.86%、0.62%、0.78%、1.06%、0.82%，说明该方法重复性良好。

**2.1.8 专属性试验** 取除虎杖、土茯苓和石韦以外的方中饮片，按最佳提取工艺，制备阴性对照液。按“2.1.1”项下色谱条件测定。结果表明，阴性样品未同时出现与虎杖苷、落新妇苷、新落新妇苷和异落新妇苷色谱保留时间一致的色谱峰，表明处方中其他药味对 4 种指标成分的测定结果无干扰，专属性强。而酚酸类成分，方中其他药味对测定结果存在一定干扰，专属性不强。

**2.1.9 加样回收率试验** 按处方称取 1/2 处方量饮片，称取 6 份，按各成分含量的 50% 加入新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、虎杖苷、新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷 8 种对照品，按设计方案试验号 1 制备方法制供试品溶液，滤过，以“2.1.1”项下色谱条件进行测定，计算 8 种成分的加样回收率，结果新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、虎杖苷、新落新妇苷、落新妇苷、异落新妇苷的平均加样回收率分别为 99.81%、97.94%、97.53%、99.60%、101.7%、97.19%、97.17%、99.49%，RSD 分别为 1.00%、1.07%、0.71%、1.28%、1.85%、0.72%、1.10%、1.62%。

**2.1.10 样品测定** 取各供试品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件进样，测定峰面积，外标法计算各指标

成分含量及其提取率。

## 2.2 出膏率测定

分别取各煎煮液 25 mL，放入已干燥至恒定质量的蒸发皿中，蒸干，于 105  $^{\circ}$ C 烘箱中干燥 3 h，取出，置干燥器中冷却 30 min，精密称定质量，计算出膏率。

## 2.3 评价指标综合赋权

**2.3.1 G1 主观赋权** G1 法是一种计算快、无需一致性检验的主观评价方法。首先确定评级指标序的关系，本实验根据 YMTG 复方的药效物质，确定 YMTG 中 9 个评价指标的序关系为新绿原酸 (1) = 绿原酸 (2) = 隐绿原酸 (3) = 咖啡酸 (4) = 虎杖苷 (5) = 新落新妇苷 (6) = 落新妇苷 (7) = 异落新妇苷 (8) > 出膏率 (9)；其次确定相邻指标间的相对重要程度，确定其  $r_1=r_2=r_3=r_4=r_5=r_6=r_7=r_8=1$ ， $r_9=1.2$ <sup>[8]</sup>。最后进行各指标权重系数 ( $w_k$ ) 的计算。

$$w_k = (1 + \sum_{k=2}^m \prod_{i=k}^m r_i) \quad (1)$$

$w_{k-1} = r_k w_k$ ,  $k=m, m-1, \dots, 2$  ( $m$  为评价指标个数)

**2.3.2 熵权法客观赋值** 熵权法是根据各项指标值的变异程度来确定指标权数的，这是一种客观赋权法，避免了人为因素带来的偏差，使精度较高客观性更强，能够更好的解释所得到的结果。指标的变异程度越小，所反映的信息量也越少，其对应的权值也应该越低。根据原理计算 YMTG 各指标的权重系数 ( $w_j$ )，计算的具体步骤按王继龙等<sup>[9]</sup>所用方法。

**2.3.3 组合权重确定** 设由 G1 法得到的主权重为  $w_1$ ，熵权法得到的客观权重为  $w_2$ ，则组合权重为  $w_j$ ，按计算公式 (2) 进行计算，结果见表 1。

$$w_j = w_1 w_2 / \sum_{j=1}^m w_1 w_2 \quad (2)$$

表 1 提取工艺评价指标的权重值

Table 1 Weight values of extraction process evaluation indexes

评价指标	$w_1$	$w_2$	$w$
新绿原酸	0.500 0	0.051 9	0.052 1
绿原酸	0.500 0	0.061 9	0.062 2
隐绿原酸	0.500 0	0.044 6	0.044 8
咖啡酸	0.500 0	0.144 3	0.144 9
虎杖苷	0.500 0	0.067 7	0.068 0
新落新妇苷	0.500 0	0.169 1	0.169 8
落新妇苷	0.500 0	0.193 9	0.194 7
异落新妇苷	0.500 0	0.252 2	0.253 2
出膏率	0.416 7	0.014 4	0.012 0

**2.3.4 综合评价方法** 由式(2)计算得到各指标的组权重值( $w$ ),并进一步得到各实验条件的指标综合评分( $H$ ),按公式(3)计算。再进行直观分析与方差分析。

$$P_j = \sum_{j=1}^m (100w_{jj}y_j)/y_{j\max} \quad (3)$$

**2.4 YMTG 提取工艺研究<sup>[10-11]</sup>**

**2.4.1 响应面设计因素与水平** 通过预实验,本实验以加水倍数( $X_1$ )、浸泡时间( $X_2$ )、提取时间( $X_3$ )、提取次数( $X_4$ )为主要考察因素,根据 Box-Behnken

法设计原则,每个因素设置3个水平,结果见表2。

**2.4.2 Box-Behnken 响应面法实验结果** 根据响应面 Box-Behnken 实验设计方案,对应称取方中药材,对 YMTG 的提取工艺进行优化,提取液按“2.1.1”项下色谱条件进样,分别计算8种指标成分及出膏率,结合“2.3.3”项下的组权重,进行综合评分,结果见表2。

**2.4.3 模型的建立与方差分析** 应用 Design-Expert 8.0.6 软件对表2数据进行多元回归拟合及显著性检验,结果见表3。因素  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$  与  $H$  之间的

表2 Box-Behnken 响应面设计实验方案及结果

Table 2 Scheme and results of Box-Behnken response surface design

序号	$X_1$ /倍	$X_2$ /min	$X_3$ /min	$X_4$ /次	提取率/(mg·g <sup>-1</sup> )								出膏率/%	$H$
					新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	虎杖苷	新落新妇苷	落新妇苷	异落新妇苷		
1	8(-1)	30(-1)	60(0)	2(0)	0.317 8	0.430 4	0.294 0	0.039 3	0.619 2	0.239 6	0.148 1	0.054 9	17.66	68.297 4
2	12(+1)	30(-1)	60(0)	2(0)	0.309 3	0.331 8	0.264 1	0.039 7	0.680 6	0.210 5	0.147 6	0.050 3	18.90	64.709 9
3	8(-1)	90(+1)	60(0)	2(0)	0.258 4	0.354 2	0.223 9	0.028 8	0.665 9	0.282 1	0.218 1	0.069 0	17.87	74.108 7
4	12(+1)	90(+1)	60(0)	2(0)	0.260 9	0.316 2	0.226 4	0.046 9	0.637 6	0.261 1	0.165 8	0.064 3	18.92	72.007 4
5	10(0)	60(0)	30(-1)	1(-1)	0.241 9	0.342 8	0.219 7	0.027 4	0.453 5	0.214 9	0.182 3	0.052 2	15.58	61.324 0
6	10(0)	60(0)	90(+1)	1(-1)	0.278 3	0.335 6	0.240 9	0.037 8	0.525 2	0.236 6	0.134 8	0.056 0	17.22	63.375 4
7	10(0)	60(0)	30(-1)	3(+1)	0.305 5	0.397 9	0.284 9	0.042 0	0.734 7	0.241 0	0.186 0	0.056 1	18.74	73.001 7
8	10(0)	60(0)	90(+1)	3(+1)	0.343 5	0.436 4	0.299 0	0.051 7	0.781 6	0.397 8	0.214 4	0.106 0	18.83	98.439 5
9	8(-1)	60(0)	60(0)	1(-1)	0.226 8	0.316 2	0.212 1	0.030 2	0.612 8	0.115 5	0.091 8	0.025 9	18.48	44.572 0
10	12(+1)	60(0)	60(0)	1(-1)	0.254 3	0.256 8	0.218 3	0.033 8	0.648 3	0.204 4	0.138 9	0.047 7	16.13	58.508 0
11	8(-1)	60(0)	60(0)	3(+1)	0.270 9	0.353 4	0.251 6	0.055 8	0.716 2	0.305 5	0.187 6	0.078 5	18.42	83.342 3
12	12(+1)	60(0)	60(0)	3(+1)	0.315 4	0.305 2	0.269 5	0.039 8	0.763 1	0.304 0	0.223 4	0.070 7	18.92	80.707 8
13	10(0)	30(-1)	30(-1)	2(0)	0.245 4	0.323 9	0.227 3	0.030 6	0.647 5	0.253 9	0.159 4	0.064 3	17.05	66.448 2
14	10(0)	90(+1)	30(-1)	2(0)	0.270 0	0.413 5	0.242 3	0.036 0	0.619 9	0.244 7	0.195 2	0.054 7	16.83	69.917 5
15	10(0)	30(-1)	90(+1)	2(0)	0.304 5	0.354 0	0.256 6	0.046 7	0.678 3	0.236 9	0.141 7	0.058 0	19.03	69.237 5
16	10(0)	90(+1)	90(+1)	2(0)	0.249 7	0.305 2	0.224 4	0.040 9	0.700 7	0.224 1	0.109 2	0.044 5	18.94	59.273 6
17	8(-1)	60(0)	30(-1)	2(0)	0.301 6	0.452 7	0.279 4	0.036 4	0.520 5	0.286 5	0.195 5	0.066 0	18.74	75.322 2
18	12(+1)	60(0)	90(+1)	2(0)	0.295 4	0.362 6	0.265 4	0.036 5	0.487 6	0.261 6	0.209 8	0.058 4	18.45	71.899 0
19	8(-1)	60(0)	90(+1)	2(0)	0.306 6	0.374 7	0.261 3	0.042 6	0.642 8	0.230 3	0.099 1	0.049 4	18.83	62.106 9
20	12(+1)	60(0)	90(+1)	2(0)	0.301 3	0.310 5	0.253 8	0.050 6	0.669 0	0.289 5	0.164 8	0.066 3	19.58	75.835 3
21	10(0)	30(-1)	60(0)	1(-1)	0.302 7	0.351 4	0.264 2	0.035 7	0.612 1	0.198 7	0.104 8	0.036 0	16.95	55.423 8
22	10(0)	90(+1)	60(0)	1(-1)	0.238 9	0.330 3	0.208 4	0.032 7	0.712 5	0.185 4	0.142 2	0.045 6	17.32	58.451 6
23	10(0)	30(-1)	60(0)	3(+1)	0.358 0	0.378 4	0.312 8	0.050 6	0.790 1	0.347 7	0.166 5	0.084 6	17.68	86.367 5
24	10(0)	90(+1)	60(0)	3(+1)	0.323 0	0.384 4	0.278 7	0.050 0	0.654 2	0.273 1	0.175 2	0.066 7	18.05	77.441 3
25	10(0)	60(0)	60(0)	2(0)	0.290 4	0.357 6	0.253 5	0.031 2	0.752 0	0.245 1	0.163 4	0.054 9	19.44	66.858 1
26	10(0)	60(0)	60(0)	2(0)	0.300 3	0.349 2	0.259 2	0.033 4	0.745 3	0.247 0	0.142 1	0.053 9	19.64	65.530 3
27	10(0)	60(0)	60(0)	2(0)	0.324 5	0.388 6	0.269 9	0.036 7	0.676 4	0.239 0	0.144 8	0.056 3	20.01	67.404 7
28	10(0)	60(0)	60(0)	2(0)	0.316 6	0.351 1	0.265 3	0.044 6	0.725 3	0.254 3	0.162 4	0.053 0	19.07	70.671 7
29	10(0)	60(0)	60(0)	2(0)	0.301 4	0.307 4	0.259 4	0.036 9	0.716 8	0.259 4	0.155 8	0.054 8	19.30	67.623 3

表 3 多元回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance on multiple regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	697.61	14	49.83	5.11	0.002 2	$X_3X_4$	9.44	1	9.44	0.97	0.341 9
$X_1$	27.38	1	27.38	2.81	0.116 1	$X_1^2$	92.91	1	92.91	9.52	0.008 0
$X_2$	3.97	1	3.97	0.41	0.533 7	$X_2^2$	4.74	1	4.74	0.49	0.497 1
$X_3$	30.64	1	30.64	3.14	0.098 1	$X_3^2$	3.28	1	3.28	0.34	0.571 4
$X_4$	319.2	1	319.2	32.72	<0.000 1	$X_4^2$	1.70	1	1.70	0.17	0.682 7
$X_1X_2$	0.55	1	0.55	0.06	0.815 4	残缺	136.57	14	9.75		
$X_1X_3$	73.54	1	73.54	7.54	0.015 8	失拟项	122.26	10	12.23	3.42	0.123 7
$X_1X_4$	1.11	1	1.11	0.11	0.740 6	纯误差	14.31	4	3.58		
$X_2X_3$	45.11	1	45.11	4.62	0.049 5	总误差	834.18	28			
$X_2X_4$	67.27	1	67.27	6.90	0.019 9						

2 次多项回归方程  $H=67.62+1.51 X_1+0.58 X_2-1.6 X_3+5.16 X_4+0.37 X_1X_2+4.29 X_1X_3-0.53 X_1X_4-3.36 X_2X_3+4.1 X_2X_4-1.54 X_3X_4+3.78 X_1^2-0.85 X_2^2-0.71 X_3^2+0.51 X_4^2$ , 结果可以看出, 模型  $P<0.01$ , 说明 2 次多元回归方程模型良好, 模型具有显著性意义。 $R^2=0.8363$ ,  $R_{adj}^2=0.6726$ , 变异系数 (CV) = 4.54%, 说明该模型对实验实际情况拟合良好, 相关度也良好, 误差较小。 $P_{失拟}=0.1237>0.05$ , 表示失拟性不显著, 可以用该实验模型进行分析与预测。自变量 1 次项  $X_4$  极显著 ( $P<0.001$ ), 自变量 2 次项  $X_1^2$  高度显著 ( $P<0.01$ ), 自变量 2 次项  $X_1X_3$ 、 $X_2X_3$ 、 $X_2X_4$  显著 ( $P<0.05$ ), 表明模型具有统计学意义。

**2.4.4 响应面分析与预测** 用 Design-Expert 8.0.6 软件得到 2 次回归方程及响应面图评价选定提取因素之间的相互作用强弱, 绘制出各因素之间相互作

用的三维响应曲面图, 通过观察, 以倾斜度观察两者相互的影响作用, 倾斜度越高, 证明两者相互作用越明显, 且交互作用越显著, 颜色越深, 结果见图 2。两两因素交互作用可通过等高线得出, 等高线呈椭圆形则表明 2 个因素的交互作用显著, 若等高线呈圆形则表明 2 个因素的交互作用不显著。

由图 2 可知, 加水倍数与浸泡时间、提取时间、提取次数, 以及提取时间与浸泡时间两两因素交互呈椭圆形, 故对提取工艺的影响显著; 提取次数和浸泡时间、提取时间交互作用不明显, 故对提取工艺影响不显著。根据所建模型回归方程选择出 YMTG 的最佳提取工艺为加 11.75 倍水, 浸泡时间为 61.02 min, 提取时间为 76.69 min, 提取 2.96 次。通过结合实际实验选择出 YMTG 的提取工艺为加 12 倍水, 浸泡 60 min, 提取 80 min, 提取 3 次。

**2.4.5 提取工艺验证** 根据 Design-Expert 8.0.6 软

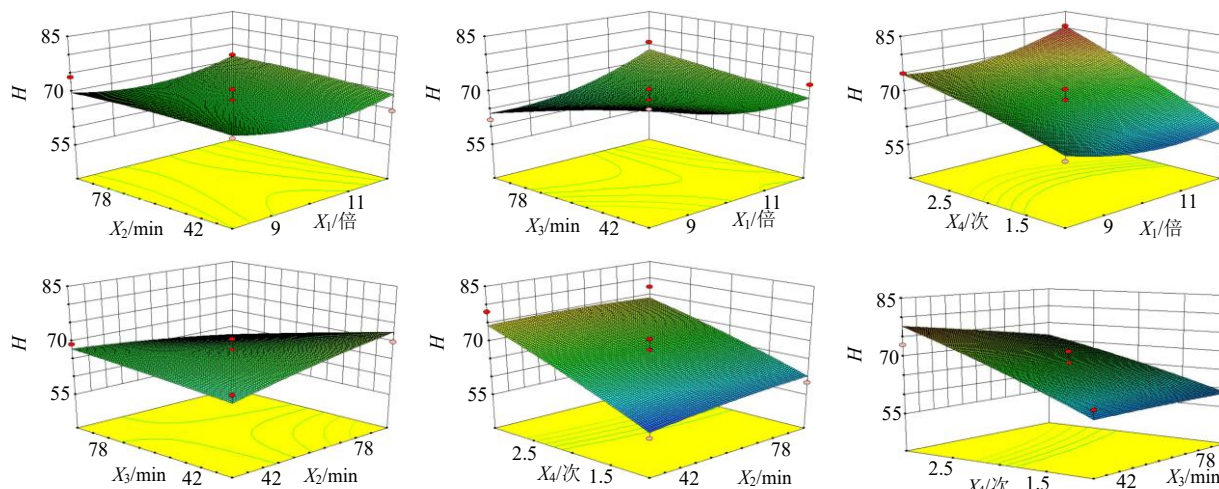


图 2 4 因素交互作用对综合评分的响应面图

Fig. 2 Response surface diagram of four factor interaction on comprehensive score

件分析所得最佳提取工艺,对 YMTG 进行提取工艺的验证。分别称取样品 3 份,加 12 倍水,浸泡 60 min,煎煮 80 min,煎煮 3 次,测定各指标含量与出膏率,结果见表 4。测得综合评分的平均值为 80.249 1,与预测值(82.227 3)相差 1.978 2%,RSD

为 1.13%,表明该提取工艺合理可行,可操作性强,具有实用价值。

### 2.5 对痛风性肾病作用<sup>[12-15]</sup>

**2.5.1 分组与给药** SPF 级 SD 实验大鼠 60 只,随机分为对照组,模型组,YMTG 低、中、高剂量组,

表 4 最佳提取工艺验证

Table 4 Verification of best extraction process

序号	提取率/(mg·g <sup>-1</sup> )								出膏率/%	H
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	咖啡酸	虎杖苷	新落新妇苷	落新妇苷	异落新妇苷		
1	0.332 1	0.467 3	0.283 2	0.049 1	0.883 3	0.273 4	0.187 3	0.069 3	19.26	81.198 9
2	0.319 8	0.443 5	0.293 4	0.046 4	0.874 8	0.282 9	0.182 3	0.066 8	19.99	79.388 8
3	0.338 3	0.446 8	0.292 3	0.048 4	0.882 4	0.273 3	0.179 5	0.068 9	19.86	80.159 7
RSD/%	2.85	2.85	1.93	2.92	0.53	1.99	2.16	1.97	1.98	1.13

苯溴马隆组,每组 10 只。除对照组 ig 蒸馏水外,其余各组 ig 含 1.25%腺嘌呤的 10%干酵母液 10 mL/kg,连续 4 周,造成痛风性肾病模型。造模成功后,低、中、高剂量组分别给予 YMTG 水提液生药 4.2、8.4、16.8 g/kg,苯溴马隆组 ig 给药 10 mg/kg 苯溴马隆,对照组和模型组给以等体积蒸馏水,1 次/d,连续给药 3 周。

**2.5.2 取样与各指标检测及 HE 染色** 给药结束时用代谢笼取大鼠 24 h 尿液,24 h 后将大鼠麻醉,腹主动脉采血,分离血清,根据各试剂盒说明书测定血尿酸、尿液尿酸、尿酸肾脏清除率、血清肌酐、尿素氮水平以及黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)活性;采血后打开腹腔,取肾脏,沿肾门做横断面取材,梯度乙醇脱水,二甲苯透明浸蜡、包埋,切片,HE 染色,观察肾组织形态结构。

**2.5.3 对痛风性肾病大鼠尿酸水平及尿酸清除率的影响** 与对照组相比,模型组尿液尿酸水平降低,血液中尿酸水平增高,肾脏对尿酸的清除率明显降

低。与模型组比较,给药 3 周后,各给药组动物尿量有所减少,尿液中尿酸水平增加,24 h 尿液尿酸排出量增加,各给药组血清尿酸水平明显降低( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),尿酸清除率明显增加( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),YMTG 与阳性组相比,各给药组均无统计学差异,说明 YMTG 与阳性药药效相当,结果见表 5。

**2.5.4 对痛风性肾病大鼠肾功能及 XOD 的影响** 模型组大鼠血清肌酐、尿素氮水平明显升高,与对照组比较有显著性差异( $P < 0.01$ )。模型组血清 XOD 水平较对照组有所升高,但并无显著性差异。YMTG 给药后能降低血液中血清肌酐、尿素氮的水平,中、高剂量组与模型组比较有明显差异( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),YMTG 给药组 XOD 活性有降低趋势,中剂量给药组与模型组比较有明显差异( $P < 0.05$ )。YMTG 与阳性组相比,各给药组均无统计学差异,说明 YMTG 与阳性药药效相当。结果见表 6。

**2.5.5 对痛风性肾病模型大鼠肾脏组织形态学影响** 模型组肾脏体积不同程度增大,部分肾脏颜色变浅

表 5 YMTG 对痛风性肾病大鼠尿酸水平及尿酸清除率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Effects of YMTG on uric acid level and uric acid clearance rate in gout nephropathy rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	n/只	24 h 尿量/mL	尿液尿酸/(mg·L <sup>-1</sup> )	24 h 尿酸排出量/mg	血清尿酸/(mg·L <sup>-1</sup> )	尿液尿酸清除率/(mL·h <sup>-1</sup> )
对照	-	10	28.2±7.8	165.1±66.3	4.3±0.6	32.7±2.7	5.4±0.7
模型	-	8	37.0±10.2	96.8±37.1 <sup>#</sup>	3.4±1.1 <sup>#</sup>	43.5±8.4 <sup>##</sup>	3.3±1.1 <sup>##</sup>
YMTG	4.2	10	30.4±6.2	135.9±34.3 <sup>*</sup>	4.2±1.3	34.4±6.1 <sup>*</sup>	5.0±1.4 <sup>*</sup>
	8.4	10	35.0±7.2	139.9±27.0 <sup>*</sup>	4.8±0.6 <sup>**</sup>	35.6±5.8 <sup>*</sup>	5.8±1.6 <sup>**</sup>
	16.8	9	27.0±4.8 <sup>*</sup>	182.5±41.9 <sup>**</sup>	4.8±1.0 <sup>*</sup>	33.6±4.4 <sup>**</sup>	6.0±1.3 <sup>**</sup>
苯溴马隆	0.01	10	31.4±8.3	130.9±30.5 <sup>*</sup>	4.0±1.1	34.4±3.9 <sup>**</sup>	4.9±1.2 <sup>*</sup>

与对照组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ; 下表同

<sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group; same as the following table

表 6 YMTG 对痛风性肾病大鼠肾功能及 XOD 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 6 Effects of YMTG on renal function and XOD of gout nephropathy rats ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ (g·kg <sup>-1</sup> )	n/只	尿素氮/ (mmol·L <sup>-1</sup> )	血清肌酐/ (μmol·L <sup>-1</sup> )	XOD/ (U·L <sup>-1</sup> )
对照	-	10	6.2±1.3	125.7±14.6	13.1±1.7
模型	-	8	10.5±2.8 <sup>###</sup>	175.2±32.3 <sup>###</sup>	14.6±2.0
YMTG	4.2	10	8.9±2.8	132.0±31.7*	13.8±1.9
	8.4	10	6.8±1.5**	124.7±25.6**	13.1±0.6*
	16.8	9	7.0±1.1**	123.5±27.9**	13.1±1.4
苯溴马隆	0.01	10	8.2±1.4*	141.4±21.9*	13.6±1.7

呈大白肾。镜下见造模组肾小管损伤,表现为肾小管上皮细胞萎缩变矮,管腔扩张或小管上皮增生肿大挤满小管腔,间质纤维增生,炎细胞浸润,以及少量嘌呤结晶体在小管内的沉积等。与模型组比较,各给药组肾小管损伤面积及损伤程度均有所减轻。治疗组给药后,间质纤维及小管上皮增生不明显,肾小管损伤程度较模型组明显减轻,结果见图 3。

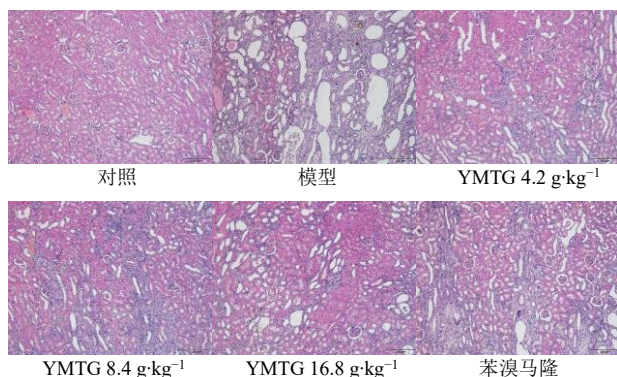


图 3 YMTG 对痛风性肾病模型大鼠肾脏组织形态学的影响 (×200)

Fig. 3 Effects of YMTG on renal histomorphology of gout nephropathy model rats (× 200)

### 3 讨论

#### 3.1 评价指标的选择

YMTG 是在经方萆薢丸的基础上加减化裁而来。方中虎杖具有利湿退黄、清热解毒、散瘀止痛之功效,可用于风湿痹痛、跌打损伤,其中虎杖苷为虎杖主要药效成分,具有使滑膜细胞凋亡,减少炎症分子,控制关节炎症<sup>[16-17]</sup>,降低尿酸吸收蛋白分泌<sup>[18]</sup>的作用;土茯苓以解毒、除湿、通利关节见长,善治筋骨挛痛,为临床防治痛风的常用中药,黄酮类化合物落新妇苷、异落新妇苷为土茯苓的药效成分,具有的抗炎、抗氧化、抗痛风等功效<sup>[19-21]</sup>。

酚酸类成分具有抗病毒、抗菌、抗炎、抗氧化等药理作用<sup>[22]</sup>。YMTG 药味众多,成分复杂,本研究在选择评价指标时,综合考虑到与痛风药效相关及可测性,故以方中虎杖苷、落新妇苷等 8 种成分作为 YMTG 提取工艺中的化学成分指标,以此筛选出最佳提取工艺。

#### 3.2 指标赋值与评价方法

多指标综合评价,权重的确定最为重要,主要有主观赋值和客观赋值。G1 法是对层次分析法进行改进的一种主观赋权法,计算速度快、无需一致性检验、同一层次中元素个数的伸展性强、具有保序性。熵权法是一种根据各项指标观测值所提供信息量的大小来确定指标权重的方法,决策准确性和可靠性较强<sup>[9]</sup>。本实验采用基于 G1-熵权法的组合赋权方法,可同时兼顾决策者的主观性和待评价对象各指标的内在联系,使彝药痛风颗粒提取工艺的多指标综合评价结果更加科学合理。

#### 3.3 药效评价

痛风性肾病是由于嘌呤代谢障碍导致的机体血清尿酸增加,并长期蓄积于肾小管和肾间质中诱发的一系列肾脏疾病<sup>[23]</sup>。临床上的药效评价多以腺嘌呤致痛风性肾病模型,因为当机体摄入大量腺嘌呤时,高浓度腺嘌呤在黄嘌呤氧化酶作用下转变为 2,8-二羟基腺嘌呤,其易沉积于肾小管,阻塞肾小管而引起肾功能衰竭<sup>[24]</sup>。本实验对 YMTG 对痛风性肾病研究结果表明,YMTG 可降低腺嘌呤致痛风性肾病模型大鼠血液和尿液尿酸浓度,增加尿液尿酸清除率,降低血液中血清肌酐、尿素氮水平;病理结果表明,YMTG 可减轻肾脏损伤,减轻肾小管损伤面积和质纤维增生和炎细胞浸润,说明 YMTG 对痛风性肾病大鼠具有较好改善作用。

现代研究表明,虎杖苷具有肾功能保护作用,可通过腺苷酸活化蛋白激酶或沉默信息调节子 1 信号途径,抑制 NF-κB/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 炎性小体活化减轻肾脏炎症<sup>[25]</sup>;还可降低高尿酸血症大鼠的血尿酸、肌酐和血尿素氮水平,以维持代谢平衡<sup>[26-27]</sup>。落新妇苷可通过降低氧化应激和炎症反应降低顺铂诱导的急性肾毒性<sup>[28]</sup>,还可通过磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 途径抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞自噬和凋亡<sup>[29]</sup>。因此,YMTG 治疗痛风性肾病可能与这些成分有关,还有待于进一步研究。



利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 倪青. 高尿酸血症和痛风病证结合诊疗指南(2021-01-20) [J]. 世界中医药, 2021, 16(2): 183-189.
- [2] Fralick M, Chen S K, Paterno E, *et al.* Assessing the risk for gout with sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors in patients with type 2 diabetes: A population-based cohort study [J]. *Ann Intern Med*, 2020, 172(3): 186-194.
- [3] 张二飞, 殷紫, 杨礼白. 健脾清热利浊汤对痛风性肾病大鼠模型肾脏功能的影响 [J]. 中成药, 2020, 42(9): 2459-2463.
- [4] 樊海瑞, 赵岩, 傅警龙, 等. 痛风宁胶囊对痛风性肾病模型小鼠主要脏器病理损伤的改善作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2018, 44(4): 741-745.
- [5] 宋·王怀隐. 太平圣惠方 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1958: 541, 3144.
- [6] 郭璐, 夏道宗, 骆叶姣, 等. 基于网络药理学探讨土茯苓治疗痛风的作用机制 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1413-1418.
- [7] 李淼, 王永香, 孟谨, 等. HPLC 法测定金银花中新绿原酸等 8 种成分的量 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 1006-1010.
- [8] 刘建, 郑双忠, 邓云峰, 等. 基于 G1 法的应急能力评估指标权重的确定 [J]. 中国安全科学学报, 2006, 16(1): 30-33.
- [9] 王继龙, 魏舒畅, 刘永琦, 等. 基于 G1-熵权法和正交设计优选黄芪百合颗粒的提取纯化工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 596-603.
- [10] 唐文文, 孟艳林, 陈垣. 基于多指标成分优化天麻产地“发汗”加工工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7185-7191.
- [11] 何瑶, 江华娟, 成颜芬, 等. 基于 Box-Behnken 设计-响应面法与质量综合评价优化经典名方桃红四物汤煎煮工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(22): 6845-6855.
- [12] Guan J, Huang X Q, Dong J L, *et al.* A novel mouse model of hyperuricemia and gouty nephropathy [J]. *Chin Med J*, 2020, 133(16): 2012-2014.
- [13] 伊世华, 隋淑梅, 王新伟, 等. 肾康降酸颗粒治疗痛风性肾病的临床研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(6): 816-817.
- [14] 杨婷, 林志健, 王雨, 等. 痛风相关模型研究进展及痛风建模思考 [J]. 世界中医药, 2021, 16(1): 46-51.
- [15] Zhao H, Gao Q, Kong L Z, *et al.* Study on network pharmacological analysis and preliminary validation to understand the mechanisms of plantaginisin semen in treatment of gouty nephropathy [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 8861110.
- [16] 曾家顺, 董晓, 刘俊, 等. 虎杖苷对类风湿关节炎大鼠的治疗机制探究 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(10): 1681-1686.
- [17] Chen L L, Chen Z X, Xu Z Q, *et al.* Polydatin protects Schwann cells from methylglyoxal induced cytotoxicity and promotes crushed sciatic nerves regeneration of diabetic rats [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(8): 4592-4604.
- [18] 吴杲, 吴汉斌, 蒋红. 虎杖苷的降尿酸作用及其机制研究 [J]. 药学学报, 2014, 49(12): 1739-1742.
- [19] Zhao X Y, Chen R Y, Shi Y Y, *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids from *Smilax glabra* Roxb. [J]. *Molecules*, 2020, 25(22): 5295.
- [20] 张义生, 张荒生, 王进军. 高效液相色谱法测定痛风颗粒中落新妇苷的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(2): 171-172.
- [21] 张丽红, 邓子淳, 方佳, 等. 异落新妇苷抗痛风活性研究 [J]. 吉林中医药, 2018, 38(10): 1198-1202.
- [22] 熊乐文, 金莹, 王彦予, 等. 金银花酚酸类化学成分、药理活性及体内代谢研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 864-871.
- [23] 杨硕. 中西医治疗痛风性肾病的研究进展 [J]. 吉林医学, 2022, 43(1): 243-244.
- [24] 李文兵. 基于中医“标本兼治”研究益智仁盐炙“温肾缩尿”作用机理 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [25] Chen L Y, Lan Z. Polydatin attenuates potassium oxonate-induced hyperuricemia and kidney inflammation by inhibiting NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome activation via the AMPK/SIRT1 pathway [J]. *Food Funct*, 2017, 8(5): 1785-1792.
- [26] Han B, Gong M J, Li Z, *et al.* NMR-based metabonomic study reveals intervention effects of polydatin on potassium oxonate-induced hyperuricemia in rats [J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2020, 2020: 6943860.
- [27] 梁春晓, 王珊珊, 陈淑静, 等. 虎杖化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(4): 1264-1276.
- [28] Wang S W, Xu Y, Weng Y Y, *et al.* Astilbin ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity through reducing oxidative stress and inflammation [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 114: 227-236.
- [29] 李玉, 王榕, 薛莲, 等. 落新妇苷通过激活 PI3K/AKT 信号通路和抑制 P38MAPK 信号通路减轻 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 PC12 细胞损伤 [J]. 临床神经外科杂志, 2020, 17(4): 399-404.

[责任编辑 郑礼胜]