

基于主成分分析和硫熏前后无机元素含量变化的 硫熏与非硫熏菊花鉴别方法

汤坚¹, 汪华君¹, 蒋俊^{2,3,4*}, 顾丽亚^{3,4}, 李昊天^{3,4}, 李平², 贾晓斌^{3,4*}, 李松林⁴

(1. 江苏大学附属医院药剂科, 江苏 镇江 212001; 2. 镇江出入境检验检疫局, 国家食品添加剂及调味品检测重点实验室, 江苏 镇江 212008; 3. 南京中医药大学药学院, 南京 210023; 4. 江苏省中医药研究院, 国家中医药管理局中药释药系统重点研究室, 南京 210028)

[摘要] 目的: 研究菊花硫磺熏蒸前后样品中多种无机元素含量差异性, 并探索根据无机元素含量变化, 结合主成分分析建立硫熏菊花的定性区识别别方法。方法: 采用 Ultrawave digestion/ICP-MS 检测硫磺熏蒸前后菊花中多种无机元素含量, 结合主成分分析 (PCA) 散点分布法对硫熏和非硫熏菊花进行区域划分, 建立其区分鉴别的方法; 并随机抽取 9 批样品, 考察已建立方法的实用性。结果: 比较 9 批硫熏菊花样品与 9 批非硫熏菊花样品的无机元素含量, Ba 和 Cu 元素含量在硫磺熏蒸后含量增加且具有显著性; Pb 和 As 元素含量略有增加但不具有显著性; Hg 元素含量无明显变化; Cd 元素含量较非硫熏菊花样品略有降低但不具有显著性; PCA 分析 9 批硫熏菊花和 9 批非硫熏菊花的区域分布相对较散, 差异较大, 能够完成硫熏菊花和非硫熏菊花的区分鉴定; 此外, 该方法还能对未知菊花样品进行初步定性分析。结论: 该方法符合测定要求, 可应用于硫熏菊花的质量控制及安全性考察, 为探索硫熏菊花和其他硫熏中药的区分鉴别提供了重要的数据。

[关键词] 硫磺熏蒸; 菊花; Ultrawave digestion/ICP-MS; 主成分分析; 无机元素; 鉴别

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0097-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130097

Identification Method for Sulphur Fumigated Chrysanthemi Flos based on Principal Component Analysis and Element Contents

TANG Jian¹, WANG Hua-jun¹, JIANG Jun^{2,3,4*}, GU Li-ya^{3,4}, LI Hao-tian^{3,4},
LI Ping², JIA Xiao-bin^{3,4*}, LI Song-lin⁴

(1. Affiliated Hospital of Jiangsu University, Jiangbin Hospital, Zhenjiang 212001, China; 2. Zhenjiang Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, National Food Additives and Spices Key Laboratory Testing, Zhenjiang 212008, China; 3. Nanjing University of Chinese Medicine, College of Pharmacy, Nanjing 210023, China; 4. Institute of Chinese Medicine in Jiangsu Province, The State Administration of Traditional Chinese Medicine Oral Drug Release System Key Laboratory, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To Study Chrysanthemi Flos variety of elements content in the samples before and after sulphur fumigated differences, and try to establish sulphur fumigated Chrysanthemi Flos qualitative identification method. **Method:** Using Ultrawave Digestion/ICP-MS testing before and after sulphur fumigated Chrysanthemi Flos, a variety of mental elements content in combined with principal component analysis (PCA) scatter distribution method to distinguish between sulphur fumigated and non sulphur fumigated Chrysanthemi Flos.

[收稿日期] 20140318(005)

[基金项目] 江苏省镇江市科技支撑计划-社会发展项目(SH2012010); 江苏大学医学临床科技发展基金项目资助(JLY20120170)

[第一作者] 汤坚, 本科, 从事中药学研究, Tel: 15252918585, E-mail: xuyan9323@126.com

[通讯作者] * 蒋俊, 博士, 从事中药物质基础研究, Tel: 15252918585, E-mail: jiangjuntem2007@hotmail.com

* 贾晓斌, 从事中药药剂学研究, E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com

Result: Nine batches of stoving of sulphur fumigated *Chrysanthemi Flos* samples and nine samples of each element content comparison found that Ba and Cu element content increased after sulphur fumigated *Chrysanthemi Flos* medicine materials and has significant; Pb and As element content increased slightly, but not significant; Hg element content has no obvious change; Cd element content in the sulphur fumigated *Chrysanthemi Flos* samples slightly lower but not significant; 9 batches of sulphur fumigated *Chrysanthemi Flos* and 9 batches non-sulphur fumigated *Chrysanthemi Flos* distribution distance is relatively loose, able to complete stoved *Chrysanthemi Flos* and non-sulphur fumigated *Chrysanthemi Flos* to distinguish the identification. **Conclusion:** Methodology to investigate the results show that this method conform to the requirements of the measurement, the method can be applied to quality control of sulphur fumigated *Chrysanthemi Flos* and safety inspection, to explore stoved *Chrysanthemi Flos* and other sulphur fumigated the distinction between tradition Chinese medicine identification provides important data.

[**Key words**] Sulphur fumigation; *Chrysanthemum*; Ultrawe Digestion/ICP- MS; Principal component analysis; Elements; Identification

菊花具有疏散风热、平肝明目、清热解毒之功效,用于治疗风热感冒、头痛眩晕、目赤肿痛等证^[1]。菊花的主要成分为挥发油、黄酮类、氨基酸、微量元素等,临床使用具有扩张冠状动脉降低血压、预防高血脂、抗菌、抗病毒、抗炎、抗衰老等多种活性^[2-5]。硫熏菊花(毒菊花)的报道屡见不鲜,影响到菊花的用药安全性和有效性^[6]。建立硫磺熏蒸菊花的鉴别方法,亟待解决。硫磺熏蒸法是菊花加工养护的传统用法之一,主要目的是实现防腐、防霉、防虫蛀,以及有利于干燥和增色等^[7]。但是,硫熏过程多采用工业硫磺,硫熏后,残留的大量二氧化硫会影响到菊花中主要成分的变化,人体食用硫磺熏蒸过的中药材会刺激呼吸道黏膜,引起气管炎、支气管炎等呼吸道疾病和肝脏损伤,实验小鼠吸入二氧化硫或食用二氧化硫衍生物可导致神经系统 DNA 损伤^[8]。另外,硫磺熏蒸还会导致金属元素的含量升高,严重影响到菊花的安全性和有效性^[9]。2004 年,国家食品药品监督管理局专门下文《关于对中药材采用硫磺熏蒸问题的复函》禁止采用硫磺熏制中药材,2005 年和 2010 年版《中国药典》都取消了中药加工中使用硫磺熏蒸的方法^[10]。迄今为止,如何对硫熏菊花进行有效鉴别,仍然是一个制约中药安全性、有效性的重大问题。其中,硫熏金属元素的污染问题,直接影响到菊花的安全性。针对中药硫磺熏蒸的质控问题,有报道利用傅里叶变换红外光谱^[11],指纹图谱^[12],高效液相色谱质谱(HPLC-MS)等^[13-14]方法对硫磺熏蒸药材进行鉴别,为硫熏中药的质量控制提供了技术支持。也有对硫熏中药金属元素的检测报道^[15-16],但是如何根据无机元素以及重金属元素的含量,建立其相应的

鉴别方法,至今未有报道。主成分分析(PCA)是从大量的、复杂混乱的数据集中挖掘最重要信息的有效技术,将原来众多的具有一定相关性(比如 P 个指标),重新组合成一组新的互相无关的综合指标来代替原来的指标。PCA 技术已广泛应用于中药材和中药饮片的质量控制^[17]。本研究中,利用 Ultrawe digestion/ICP-MS 法分析硫磺熏蒸前后菊花中多种元素的变化,并将多种元素含量与主成分分析(PCA)相结合,根据主成分分析的 3D 散点分布,尝试将硫熏与非硫熏菊花样品分布于不同的区域,并建立硫熏和非硫熏菊花鉴别方法,以期为其鉴别提供重要数据和技术支撑。

1 仪器与试剂

Agilent 7700 电感耦合等离子体质谱同心雾化器(配有 ASX-500 自动进样器,美国安捷伦公司),梅尔斯通 Ultrawe 微波消解系统,Milli-Q 型超纯水机(美国密理博公司)。标准液 Pb、标准液 As、标准液 Hg、标准液 Cd、标准液 Ba 和标准液 Cu(上海安谱生物科技有限公司),升华硫(批号 20121211,购自国药集团化学试剂有限公司),其他试剂均为分析纯化。非硫熏菊花由亳州市辉睿中药科技有限公司提供,硫熏菊花由实验室通过非硫熏菊花经过硫磺熏蒸自制,从江苏大学附属医院中药房随机抽取 9 批菊花样品(江大菊花)。所有菊花样品均由镇江出入境检验检疫局徐江高级园艺师徐江鉴定为 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 菊花。

2 方法与结果

2.1 ICP-MS 的操作条件 氩气压力 700 kPa,反应气压力(氦气)40 kPa,循环水温度 20 ℃,压力 230 ~ 400 kPa,排风量 5 ~ 7 m³/min,等离子功率 1 500 W,

载气流量 0.9 L·min⁻¹, 补偿气流量 0.25 L·min⁻¹, 进样深度 8 mm, 蠕动泵速 0.1 r·s⁻¹, 预混室温度 2 ℃, 积分时间普通元素 Ba 和 Cu 为 0.3 s, As 为 1 s, Pb, Cd, Hg 为 2 s。

2.2 标准溶液的制备 制备元素 Pb, As, Hg, Cd, Ba, Cu 的混合标准溶液。Pb 的标准液质量浓度分别为 0, 2, 4, 8, 16, 32 μg·L⁻¹; As 的标准液质量浓度分别为 0, 2, 4, 8, 16, 32 μg·L⁻¹; Hg 的标准液质量浓度分别为 0, 2, 4, 8, 16, 32 μg·L⁻¹; Cd 的标准液质量浓度分别为 0, 2, 4, 8, 16, 32 μg·L⁻¹; Ba 的标准液质量浓度分别为 0, 2, 4, 8, 16, 32 μg·L⁻¹; Cu 的标准液质量浓度分别为 0, 2, 4, 8, 16, 32 μg·L⁻¹。

2.3 样品的前处理 将非硫熏、硫熏菊花、江大菊花样品经烘干、粉碎, 过 40 目筛, 准确称取各样品粉末 0.5 g 加入消解罐中至完全消解。消解程序见表 1。将完全消解后的消解液转移至 50 mL 量瓶中, 用去离子水定容至刻度, 即得供试品溶液。

表 1 微波消解程序

步骤	状态	温度/℃	t/min
1	1 600 W 加热	25 ~ 120	5
2	保温	120	5
3	1 600 W 加热	120 ~ 220	5
4	保温	220	25

备注: 预充氮气压力为 60 bar。

2.4 统计方法 采用 SPSS 16.0 统计软件, 对非硫熏、硫熏菊花、江大菊花样中元素含量的差异进行主成分分析(PCA) 分析, 并采用三维散点分布法, 根据非硫熏、硫熏菊花、江大菊花的分布区域, 对硫熏和非硫熏菊花进行区分鉴别。

2.5 标准曲线的线性 按照上述仪器条件, 对各元素 6 个浓度点的标准液进行测定, 结果表明: 各元素标准曲线线性相关系数(*r*) 均在 0.998 3 ~ 0.999 2, 测定方法的线性关系良好, 检出限(LOD) 在 0.007 ~ 1.092 μg·kg⁻¹。测定结果见表 2。

表 2 6 种金属元素标准曲线、线性范围及相关系数

元素	标准曲线	线性范围 /μg·L ⁻¹	<i>r</i>	LOD /μg·kg ⁻¹
Cu	$Y = 14\ 638.81X + 398.53$	0.0 ~ 32.0	0.998 3	0.015
As	$Y = 1\ 482.75X + 31.22$	0.0 ~ 32.0	0.998 6	0.030
Cd	$Y = 3\ 939.62X + 93.72$	0.0 ~ 32.0	0.998 9	0.080
Ba	$Y = 3\ 524.57X + 225.56$	0.0 ~ 32.0	0.998 3	0.007
Hg	$Y = 6\ 564.35X + 48.78$	0.0 ~ 32.0	0.999 2	0.018
Pb	$Y = 65\ 219.50X + 5\ 701.61$	0.0 ~ 32.0	0.999 1	1.092

2.6 加样回收试验 称取非硫熏菊花样品约 0.5 g, 精密称定, 加入相当于 0.5 g 样品中待测元素含有量的 1.0 倍量的标准溶液, 测定无机元素(铅、砷、汞、镉、钡、铜)的加样回收率, 平行测定 3 次, 结果显示, 方法的回收率在 86.5% ~ 102.3%, RSD 在 2.33% ~ 4.12%, 方法准确度较高。

2.7 样品测定 分别取非硫熏、硫熏菊花、江大菊花供试品溶液 27 批, 样品经过 Ultrawave 消解后, 定容, 直接进样, 分别测定 3 种菊花中 Pb, As, Hg, Cd, Ba, Cu 含量, 测定得各元素含量见表 3。

表 3 菊花硫磺熏蒸前后 6 种金属元素含量(*n* = 6)

样品	金属元素质量分数 /mg·kg ⁻¹						
	Cu	As	Cd	Ba	Hg	Pb	
菊花 (非硫熏)	1	1.154 2	0.151 4	0.006 8	2.731 9	0.003 4	0.179 6
	2	0.993 1	0.139 9	0.007 1	3.761 5	0.003 3	0.184 4
	3	1.126 7	0.141 9	0.007 1	3.473 6	0.003 1	0.182 5
	4	1.054 2	0.161 4	0.007 6	2.538 8	0.003 1	0.177 6
	5	0.999 9	0.147 9	0.007 2	3.461 5	0.003 4	0.183 4
	6	1.136 7	0.148 2	0.007 3	3.247 4	0.002 8	0.177 5
	7	1.044 2	0.152 1	0.006 5	2.431 9	0.003 0	0.169 6
	8	0.963 1	0.147 9	0.006 1	3.261 5	0.003 2	0.176 4
	9	1.016 7	0.152 9	0.005 1	3.573 6	0.003 3	0.169 3
菊花 (硫熏)	10	0.431 5	0.119 0	0.013 0	0.565 3	0.003 3	0.123 1
	11	0.412 5	0.128 8	0.012 6	0.537 5	0.003 0	0.126 5
	12	0.418 4	0.122 4	0.012 0	0.556 0	0.003 3	0.124 9
	13	0.411 5	0.139 0	0.012 7	0.564 3	0.003 3	0.123 4
	14	0.421 0	0.138 8	0.012 8	0.542 1	0.003 1	0.124 4
	15	0.370 0	0.132 4	0.012 6	0.526 0	0.003 1	0.125 3
	16	0.349 3	0.129 0	0.013 2	0.565 4	0.003 1	0.125 3
	17	0.312 5	0.126 6	0.012 5	0.525 5	0.002 9	0.128 7
	18	0.468 4	0.1233	0.012 3	0.555 4	0.003 4	0.115 4
江大菊花	19	0.580 1	0.196 6	0.000 1	1.059 4	0.003 3	0.130 3
	20	0.584 3	0.176 6	0.000 1	1.043 0	0.003 1	0.122 2
	21	0.575 5	0.156 7	0.000 1	0.905 9	0.003 3	0.112 2
	22	0.585 3	0.185 6	0.000 1	0.875 9	0.003 2	0.125 6
	23	0.480 1	0.167 5	0.000 1	1.002 5	0.003 3	0.135 2
	24	0.380 1	0.197 5	0.000 1	1.013 8	0.002 8	0.126 5
	25	0.343 5	0.185 7	0.000 1	0.932 6	0.002 6	0.133 2
	26	0.454 6	0.193 5	0.000 1	1.011 9	0.003 3	0.128 6
	27	0.488 0	0.195 4	0.000 1	0.866 0	0.003 3	0.132 6

根据表 3 中结果显示, 采用 SPSS 16.0 分析软件对硫磺熏蒸前后的菊花样品所测得的各元素的含量进行单因素方差分析, 结果显示 Ba 和 Cu 元素的

含量存在显著性差异 ($P < 0.05$) ; 将 9 批硫熏菊花样品与 9 批非硫熏菊花样品测得的各元素含量进行比较发现, Ba 和 Cu 元素含量在经过硫磺熏蒸的菊花药材中含量增加且具有显著性; Pb 和 As 元素含量略有增加但不具有显著性; Hg 元素含量无明显变化; Cd 元素含量较非硫熏菊花样品略有降低但不具有显著性。

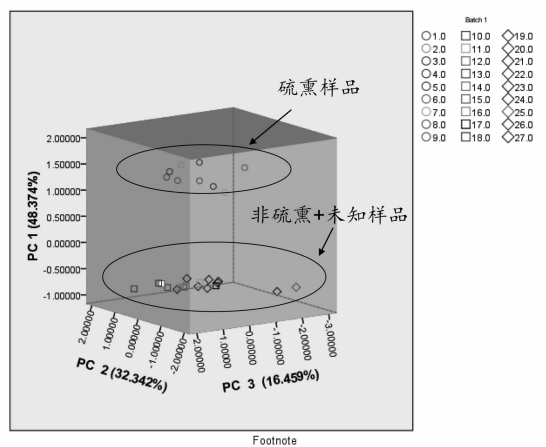
2.8 主成分分析 以菊花样品中 6 种元素的含量变化进行主成分分析, 并对 6 种元素含量进行降维处理, 得到 3 个主成分 PC1, PC2 和 PC3。结果, PC1, PC2 和 PC3 的累积提取出了总体方差的 97.175%, 其中 PC1 为 48.374%, PC2 为 32.342%, PC3 为 16.459%, 具体结果见表 4。在分析出的 3D 三点分布图中, 每一个点代表一批样品, 其中 9 批 (1~9) 为硫熏菊花, 9 批 (10~18) 为非硫熏菊花, 9 批江大菊花样品为 (19~27)。结果显示, 9 批硫熏菊花和 9 批非硫熏菊花分布距离较散, 且分别分布于不同的区域, 能够完成硫熏菊花和非硫熏菊花的区分鉴定。另外, 江大附属医院中药房的 9 批菊花 (19~27), 与 9 批非硫熏菊花分布于相同的区域, 存在一定的交叉, 且分布区域能与硫熏菊花完全分开。因此, 根据上述 3 种菊花的 3D 散点分布, 我们能初步实现对硫熏菊花和非硫熏菊花的定性区分。硫熏菊花、非硫熏菊花、江大菊花的 3D 散点分布见图 1。

表 4 总体方差分析

成分	特征值			提取平方和		
	合计	方差/%	累加/%	合计	方差/%	累加/%
1	2.902	48.374	48.374	2.902	48.374	48.374
2	1.941	32.342	80.716	1.941	32.342	80.716
3	0.988	16.459	97.175	0.988	16.459	97.175
4	0.084	1.395	98.570			
5	0.063	1.058	99.629			
6	0.022	0.371	100.000			

3 讨论

本研究中建立的 Ultrawave /ICP-MS 方法, 样品消解过程较快, 能实现对 15 个样品的同时消解, 节约了样品前处理时间。此外, Ultrawave 消解过程是在高压条件下进行的, 压力可控制在 40~100 bar, 这样可确保样品消解较为彻底。Ultrawave /ICP-MS 技术的运用, 不仅能快速准确的测定样品中元素含量, 还能有效地针对痕量的有害成分进行检查, 如本



1~9 为硫熏菊花; 10~18 为非硫熏菊花; 19~27 为医院药房样品
图 1 硫熏菊花、非硫熏菊花的 3D 散点分布

研究中的 Cd 和 Hg。该方法快速、高效, 有利于多种元素的快速检测。

此次实验所用的菊花进行硫磺熏蒸前后的有害重金属含量测定及对比, 结果显示了硫磺熏蒸的确会使菊花药材的有害重金属 Cu 等元素的含量产生较大的变化, 且金属元素铜和钡明显增加。菊花是一种药食同用的功能食品, 不仅中医临床上使用量较大, 日常生活中作为应用品的用量也很大, 长期使用硫熏菊花后, 过量的重金属元素会在体内蓄积而中毒, 表现为口腔内有金属味发烧、胃急性胃肠炎、急性肝坏死、溶血性贫血等症^[18]。这对于中药材质量及安全性有严重的影响。

采用 PCA 方法与多种金属元素的含量相结合, 对不同的样品进行散点分布区域划分, 能从杂乱的数据中发掘出规律性, 能有效地实现了硫熏与非硫熏菊花的区分, 为硫磺熏蒸菊花的鉴别提供了重要的技术支持和有用数据。本研究过程中, 还从江苏大学附属医院的中药房随机抽取了 9 批菊花 (江大菊花) 样品, 对已建立的方法实用性考察, 如果该样品的散点分布趋向于非硫熏样品, 则江大菊花为非硫熏样品; 如果江大菊花样品的散点分布趋向于硫熏样品, 则其可能经过硫磺熏蒸处理。结果显示, 江大菊花与非硫熏菊花的散点分布区域有重叠, 表明随机抽取的江大菊花可能为非硫熏本研究方法具有一定的可行性和适用性, 并可初步应用于硫熏菊花或其他硫熏中药材和中药饮片的定性鉴别。

菊花中化学成分复杂, 除了无机元素以外, 还含有黄酮、酚酸、挥发油等成分。菊花经硫熏之后, 必然导致其他多种成分的复杂变化。根据“中药组分结构理论”^[19-22] 思想, 菊花经硫磺熏蒸后, 菊花中的

“组分结构”必将发生改变,临床药理和毒理作用也将发生改变。因此,后续研究将连续报道菊花硫熏前后的化学成分组分结构差异性,并根据研究结果进一步探索更为确实有效的硫磺熏蒸菊花的鉴别方法。为中药材和中药饮片市场的规范化提供技术支持。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:292.

[2] 殷红,黄越燕,蒋小红,等. 杭白菊挥发油的抗菌抗炎作用及对 PGE2 的影响[J]. 浙江预防医学,2007,19(8):8.

[3] 蒋惠娣,王玲,周新妹,等. 杭白菊乙酸乙酯提取物的舒血管作用及相关机制[J]. 中药病理生理杂志,2005,21(2):334.

[4] 张清华,张玲. 菊花化学成分及药理作用的研究进展[J]. 食品与药品,2007,9(2):60.

[5] 刘晓,蔡皓,马晓青,等. 硫磺熏蒸前后菊花的 HPLC 指纹图谱比较研究[J]. 中药材,2012,35(5):705.

[6] 刘静静,刘晓,李松林,等. 硫磺熏蒸中药材及饮片的研究现状[J]. 中草药,2010,41(8):1404.

[7] 段金殿,赵润怀,宿树兰,等. 对硫磺熏蒸药材的基本认识与建议[J]. 中国现代中药,2011,13(4):3.

[8] 杨智海,宋莉,乔蓉霞,等. 中药外源性有害残留物二氧化硫的研究进展[J]. 药物分析杂志,2010,30(11):2246.

[9] 张晖芬,赵春杰,倪娜. 5 种补益类中药中重金属的含量测定[J]. 沈阳药科大学学报,2003,20(1):8.

[10] 冯学锋,杨连菊,格小光. 中药材使用硫磺熏蒸方法探源[J]. 湖南中医药大学学报,2007,27:374.

[11] 赵花荣,温树敏,冯雅琪,等. 利用傅里叶变换红外光谱法鉴别菊花中硫磺残留[J]. 光谱学与光谱分析,2007,27(6):1110.

[12] 马晓青,蔡皓,刘晓,等. 硫磺熏蒸前后金银花的 HPLC 指纹图谱比较和聚类分析[J]. 中国新药杂志,2012,1(2):99.

[13] Song Lin Li, Hong Shen, Ling Ying Zhu, et al. Ultra high performance Liquid chromatography quadrupole/time of flight mass spectrometry based chemical profiling

approach to rapidly reveal chemical transformation of sulfur-fumigated medicinal herbs, a case study on white ginseng. [J]. Food Chem,2012,135:1141.

[14] Kang J, Zhou L, Sun J, et al. Chromatographic fingerprint analysis and characterization of furocoumarins in the roots of *Angelica dahurica* by HPLC-DAD- ESI-MSn technique [J]. Pharm Biomed Anal,2008,47(4/5):778.

[15] 马晓青,蔡皓,刘晓,等. 硫磺熏蒸前后中药菊花中金属元素及微量元素的 ICP -AESF 检测[J]. 药物分析杂志,2011,31(6):1031.

[16] 刘静静,蔡皓,刘晓,等. ICP-AES 法分析硫磺熏蒸前后白芍中有害重金属硫及主要微量元素含量的变化[J]. 中国中药杂志,2011,36(13):1790.

[17] Jing Zheng Song, Song Lin Li, Yan Zhou, et al. A novel approach to rapidly explore analytical markers for quality control of Radix Salviae Miltiorrhizae extract granules by robust principal component analysis with ultra-high performance liquid chromatography ultraviolet quadrupole time of flight mass spectrometry [J]. J Pharmaceut Biomed Anal, 2010, 53: 279.

[18] 谭瑶. 多代连续饮用四种饮水大鼠肝肾功能 and 骨骼生长发育比较研究 [D]. 重庆:第三军医大学,2012.

[19] 贾晓斌,陈彦,李霞,等. 中药复方物质基础研究新思路和方法[J]. 中华中医药杂志,2008,23(5):420.

[20] Liang Feng, Xiao-Bin Jia, Jun Jiang, et al. Combination of Active Components Enhances the Efficacy of *Prunella* in Prevention and Treatment of Lung Cancer[J]. Molecules, 2010, 15: 7893.

[21] Liang Feng, Xiaobin Jia, Mao-Mao Zhu, et al. Antioxidant Activities of Total Phenols of *Prunella vulgaris* L. in Vitro and in Tumor-bearing Mice [J]. Molecules, 2010, 15(12):9145.

[22] Liang Feng, Xiao-Bin Jia, Feng Shi, et al. Identification of Two Polysaccharides from *Prunella vulgaris* L. and Evaluation on Their Anti-Lung Adenocarcinoma Activity [J]. Molecules, 2010, 15(8):5093.

[责任编辑 顾雪竹]