

基于谱效关系的中药虎杖抗炎活性成分探讨

李姣姣^{1,2}, 于猛², 高源², 张涛², 贾红梅², 张宏武², 马丽焱², 邹忠梅^{2*}

(1. 天津中医药大学, 天津 300193;

2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] **目的:**基于谱效关系研究虎杖中潜在的抗炎活性成分。**方法:**应用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导小鼠腹腔巨噬细胞(RAW264.7细胞)建立炎症模型,对虎杖95%乙醇提取物及其大孔树脂洗脱部位(30%,60%,95%乙醇洗脱物)的抗炎活性进行筛选;结合超高效液相色谱-飞行时间质谱(ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF/MS)技术建立特征指纹图谱;利用偏最小二乘法(partial least squares, PLS)将各部位特征成分谱峰面积与一氧化氮(NO)抑制率进行谱效关系研究,根据变异权重系数(variable important in projection, VIP)来辨识其抗炎活性成分。**结果:**虎杖醇提物大孔树脂60%乙醇洗脱部位对LPS诱导的细胞炎症模型中一氧化氮生成的抑制能力最强,且表现出一定的剂量依赖关系。谱效关系研究发现,虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位中3个成分包括大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷(E-8-G),大黄素-1-O- β -D-葡萄糖苷和大黄素-8-O-(6'-O-丙二酰基)-葡萄糖苷具有潜在的抗炎活性,并从细胞层面和分子反向寻靶研究对E-8-G的抗炎活性进行了验证。**结论:**本研究基于谱效关系的研究方法,从虎杖中筛选到3个潜在的抗炎活性成分,该方法有助于快速准确地发现中药活性成分(群),为研究中药药效物质基础提供新的研究思路和方法。

[关键词] 虎杖; 抗炎活性; 谱效关系; 超高效液相色谱-飞行时间质谱; 大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷(E-8-G)

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)12-00208-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191203

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190228.1601.003.html>

[网络出版时间] 2019-03-01 14:56

Anti-inflammatory Active Ingredient of Chinese Herb *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* Based on Spectrum-effect Relationship

LI Jiao-jiao^{1,2}, YU Meng², GAO Yuan², ZHANG Tao², JIA Hong-mei², ZHANG Hong-wu²,
MA Li-yan², ZOU Zhong-mei^{2*}

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. The Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To study the potential anti-inflammatory active ingredient of Chinese herbal *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix*. **Method:** The inflammatory model of peritoneal macrophages (RAW264.7 cells) induced by lipopolysaccharide (LPS) in mice was used to screen out the anti-inflammatory activity of 95% ethanol extract of *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* and its macroporous resin elution site (30%, 60%, 95% ethanol eluting site). The characteristic fingerprints were established by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS) technology, and then partial least squares method (partial least squares, PLS) was used to study the spectrum-effect relationship between the peak

[收稿日期] 20181029(013)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09711001-008);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-3-015)

[第一作者] 李姣姣,在读硕士,从事中药分析及质量控制研究,E-mail:2414235040@qq.com

[通信作者] *邹忠梅,研究员,博士生导师,从事中药药效物质基础及质量评价研究,Tel:010-57833290,E-mail:zmzou@implad.ac.cn

area of the characteristic components and the inhibition rate of nitric oxide (NO), and potential anti-inflammatory active ingredients were identified according to variable important in projection (VIP). **Result:** The ethanol extract macroporous resin 60% ethanol elution site of Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix had the strongest inhibition ability of nitric oxide formation, with a certain dose-dependent relationship. The study of spectrum-effect relationship showed that 3 components had potential anti-inflammatory activity, namely Emodin-8-*O*- β -D-glucoside (E-8-G), Emodin-1-*O*- β -D-glucoside, and Emodin-8-*O*- (6'-*O*-malonyl)-glucoside. In addition, the anti-inflammatory activity of E-8-G was further validated at the cell level through molecular docking analysis. **Conclusion:** Three potential anti-inflammatory active ingredients were found base on the spectrum-effect relationship. This study strategy is helpful to find the active ingredients (group) of traditional Chinese medicine, and provides new research ideas and methods for studying the material basis of Chinese herbal medicine.

[**Key words**] Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix; anti-inflammation; spectrum-effect relationship; UPLC-Q-TOF/MS; emodin -8-*O*- β -D-glucoside (E-8-G)

虎杖为蓼科植物虎杖的干燥根茎和根,广泛分布于中国南部和日本等地^[1]。虎杖具有祛风利湿、活血化瘀、清热解毒等功效,主要用于治疗关节痹痛、湿热黄疸、咳痰等疾病^[2],其主要含有蒽醌类、黄酮类、二苯乙烯类、香豆素类等化学成分^[3]。现代药理学研究表明,虎杖具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、代谢调节等多种药理作用^[4]。目前,关于虎杖抗炎活性的研究报道较为广泛。Kim 等^[5]研究发现,虎杖水提物可抑制脂多糖(LPS)诱导 RAW264.7 细胞炎症模型的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)mRNA 的表达;Ghanim 等^[6]研究发现,虎杖醇提物可对肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6)和 C 反应蛋白的 mRNA 过表达及核转录因子- κ B(NF- κ B)炎症通路的激活显著下调;Bralley 等^[7]研究发现,虎杖醇提物可抑制对佛波酯(TPA)诱导的小鼠耳部炎症;此外,HAN 等^[8]研究还发现,虎杖乙酸乙酯提取物可显著抑制弗氏完全佐剂(FCA)诱导的关节肿胀,但虎杖抗炎作用的物质基础至今尚不明确。

因此,本实验基于 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症模型,结合 UPLC-Q-TOF/MS 技术指纹图谱方法^[9],通过偏最小二乘法(PLS)的分析手段,将虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位特征成分(共有峰)的相对含量与药效活性之间进行相关性分析,以期揭示虎杖潜在的抗炎活性成分(群),为虎杖的临床用药和药效物质基础研究提供科学依据。

1 材料

1.1 细胞 小鼠腹腔巨噬细胞 RAW264.7(细胞株)由中国医学科学院药用植物研究所齐云课题组惠赠。

1.2 药物及试剂 虎杖药材购于保定安国药材市场(批号 1000226),经中国医学科学院北京协和医

学院药用植物研究所林余霖副研究员鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* 根茎和根。大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷(E-8-G)对照品(由课题组自行制备,纯度 > 98%,批号 21870001);LPS(美国 Sigma 公司,批号 017M4112V);DMEM 高糖培养基,胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号 1989241,1932595);磷酸盐缓冲液(PBS,美国 Hyclone 公司,批号 AD108279);小鼠单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和 IL-6 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(美国 Biologend 公司,批号分别为 B256883, B269644);小鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒(美国 Excell 公司,批号 21H222)。

1.3 仪器 SYNAPT G2 HDMS 型超高效液相飞行时间高分辨质谱联用系统(美国 Waters 公司),MSA125P-100-DU 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司),KQ-500E 型超声振荡仪(昆山市超声仪器有限公司),MCO-15AC 型 CO₂ 恒温细胞培养箱(日本 Sanyo 公司),DL-CJ-1-N 型超净工作台(北京东联哈尔仪器制造有限公司),CKX41 型倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司),SUNRISE 型酶标光度计(美国 Tecan 公司)。

2 方法

2.1 虎杖提取物及大孔树脂纯化部位样品的制备 称取虎杖药材约 2 kg,用 95% 乙醇依次以 4, 3.5, 3.5 L·kg⁻¹ 的液料比冷浸 24 h 后,直接回流提取 3 次,每次 1.5 h,提取液浓缩得到浸膏约 323 g(提取率为 16.15%)。虎杖醇提物用 20% 乙醇溶解过滤,滤液上大孔树脂(HP-20)吸附,分别用 30%, 60%, 75%, 95% 乙醇依次洗脱,洗脱液浓缩成浸膏,真空干燥,得到各洗脱部位样本。

2.2 虎杖提取物及其大孔树脂纯化部位抗炎活性

的筛选 取对数生长期状态良好的 RAW264.7 细胞,用完全培养基将细胞悬液密度调整至 2×10^6 个/mL,按每孔 100 μL 接种于 96 孔细胞板中,4 h 后弃去上清,加入 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的不同极性部位的虎杖样本 100 μL 预处理细胞,2 h 之后加入 LPS 100 μL (终质量浓度为 $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),正常组只加完全培养基,模型组以 LPS 代替药物,每组 3 个复孔,于细胞培养箱中孵育 24 h。每孔取细胞上清 100 μL ,再加入 Griess 试剂 100 μL ,混匀,于 540 nm 处测吸光度 A 。根据 NaNO_2 标准曲线,可计算每孔中 NO_2^- 的含量,即为上清中的一氧化氮含量,通过测定虎杖提取物及其大孔树脂纯化部位对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型中 NO 生成的抑制率来考察它们的抗炎作用。

2.3 虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位 UPLC-Q-TOF/MS 分析

2.3.1 供试品溶液的制备 取虎杖提取物及其大孔树脂纯化部位的样本约 5 mg,置于 2 mL 离心管中,加入纯甲醇 1 mL,超声 10 min,离心,取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得质量浓度约 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的供试品溶液,待测。

2.3.2 UPLC-MS 分析条件 UPLC 条件为 ACQUITY UPLC[®] HSS T3 色谱柱 (2.1 mm \times 100 mm,1.8 μm),流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B),梯度洗脱 (0 ~ 30 min,99% ~ 60% A;30 ~ 32 min,60% ~ 1% A;32 ~ 34 min,1% A;34 ~ 34.1 min,1% ~ 99% A;34.1 ~ 35 min,99% A),柱温设定 35 $^\circ\text{C}$,样品室温度 10 $^\circ\text{C}$,流速 0.30 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样体积 2 μL 。

MS 条件为采用 Waters SYNAPT G2 HDMS 系统,电喷雾离子源 (ESI) 负离子模式检测,毛细管电压 2.5 kV,锥孔电压 40 V,萃取锥孔电压 3 V,离子源温度 100 $^\circ\text{C}$,脱溶剂气温度 350 $^\circ\text{C}$,反向锥孔气流 50 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$,脱溶剂气流速 600 $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$,碰撞气流速 0.5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,扫描时间 0.5 s,扫描时间间隔 0.02 s,离子扫描范围 m/z 50 ~ 1 200。

2.4 虎杖抗炎活性成分辨识 将虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位谱峰进行积分,结合抗炎活性实验数据,组成数据集并导入到 SIMCA-P 13.0.3 软件 (瑞典 Umetrics 公司)中,进行 PLS 相关性分析,寻找虎杖中抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型中一氧化氮生成的潜在抗炎活性成分。

2.5 虎杖抗炎活性成分验证

2.5.1 基于细胞水平的抗炎活性验证 采用 Griess 试剂测定细胞上清中 NO 含量,实验方法同

2.2 项下实验方法。采用 ELISA 检测抗炎活性成分对细胞上清中 IL-6,IL-1 β 和 MCP-1 含量的影响,重复 2.2 项下细胞实验,取各组细胞上清液,按照 ELISA 试剂盒中操作步骤分别测定 IL-6,IL-1 β 和 MCP-1 的表达。

2.5.2 基于反向寻靶技术的抗炎活性成分验证 利用药物发现与生物大分子计算模拟平台 (Discovery StudioTM 3.5, DS),采用反向寻靶技术将初步筛选出的虎杖抗炎活性成分与靶标数据库进行对接^[10],根据对接匹配结果筛选化合物可能作用的靶点进行验证。

2.6 统计学方法 实验结果采用 Graph Pad Prism 5 统计学软件分析,组内数据比较采用 $\bar{x} \pm s$,组间数据比较采用单因素方差分析检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症的抑制作用 实验结果发现,给药剂量在 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下,95% 乙醇提取物,大孔树脂 95% 乙醇洗脱物,60% 乙醇洗脱物和 30% 乙醇洗脱物对细胞炎症模型中的 NO 生成的抑制率依次为 59.09%,31.22%,103.70%,46.73%。显然,大孔树脂 60% 乙醇洗脱物对 NO 生成的抑制能力最强。

3.2 虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位 UPLC-Q-TOF/MS 分析结果 经过查阅文献^[11]发现,虎杖醇提物在负离子模式下具有较好的质谱响应,因此本实验首先采用优化的液相色谱-质谱条件对虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位进行数据采集,以醇提物大孔树脂 60% 乙醇洗脱部位 (图 1) 为例,得到其基峰色谱图 (base peak intensity, BPI 图),然后应用 Mass LynxTM 4.0 工作站对所得质谱数据进行预处理,并将峰面积 > 1 万的质谱峰导出,形成保留时间和峰面积的数据集。

3.3 虎杖抗炎活性成分辨识 将虎杖醇提物及其大孔树脂洗脱部位 UPLC-MS 的质谱峰面积及其对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞一氧化氮生成量的抑制率分别作为自变量 (X) 和因变量 (Y),导入 SIMCA-P 软件中进行 PLS 回归分析,根据 VIP 信息来判断 X 对 Y 的贡献大小,一般认为 VIP 值越大的变量贡献也越大。结果见图 2 的 VIP 图 (选取 VIP > 1 且误差线不过原点的变量) 所示,对一氧化氮生成的抑制率有较大贡献的变量依次为 $X_{20} > X_{19} > X_{13}$ 。通过查阅文献并与对照品比对,鉴定其分别为大黄素-1- O - β - D -葡萄糖苷,E-8-G 和大黄素-8- O -(6'- O -丙二

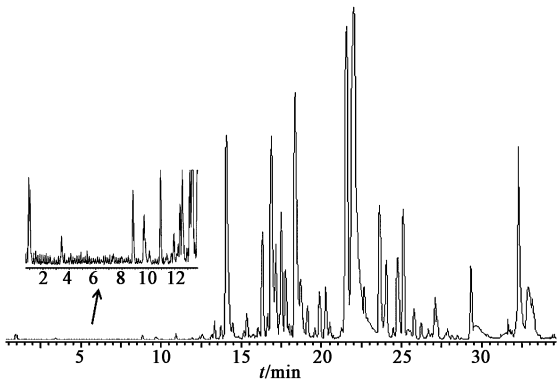


图 1 虎杖醇提取物大孔树脂 60% 乙醇洗脱部位的质谱 BPI
Fig. 1 Base peak intensity of macroporous resin 60% ethanol elution site of Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix ethanol extract

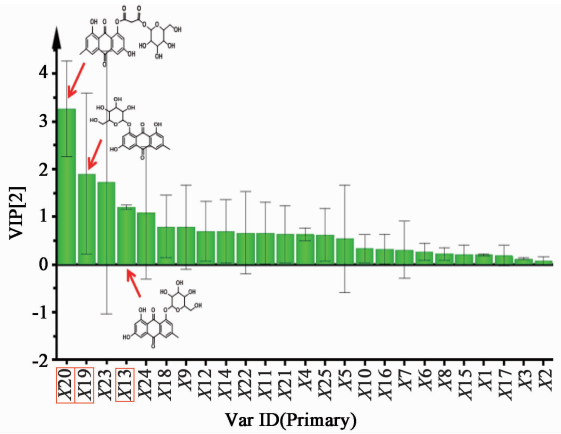


图 2 VIP 值直方
Fig. 2 VIP value histogram

表 1 E-8-G 对细胞上清中的 NO, IL-6, IL-1 β 和 MCP-1 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of E-8-G on NO, IL-6, IL-1 β and MCP-1 in cell supernatant ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{NO}_2/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-1 $\beta/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-6/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	MCP-1/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
空白	-	0.63 \pm 0.44	1.72 \pm 0.13	1.62 \pm 0.41	2.09 \pm 0.27
LPS	-	21.92 \pm 0.46 ¹⁾	16.22 \pm 0.48 ¹⁾	24.69 \pm 1.11 ¹⁾	68.00 \pm 2.64 ¹⁾
E-8-G	50	18.50 \pm 0.63 ²⁾	9.52 \pm 0.28 ³⁾	22.55 \pm 0.84	72.09 \pm 9.41
	100	15.76 \pm 0.29 ³⁾	4.73 \pm 0.41 ³⁾	16.47 \pm 3.35 ²⁾	54.97 \pm 2.45 ²⁾
	200	6.92 \pm 0.34 ³⁾	1.53 \pm 0.28 ³⁾	3.56 \pm 1.21 ³⁾	26.03 \pm 6.88 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$;与 LPS 组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

60% 乙醇洗脱部位的抗炎活性最为显著。在谱效关系研究中,笔者分别建立了虎杖醇提取物及大孔树脂洗脱部位的 UPLC 指纹图谱和质谱指纹图谱,结果发现各部位 UPLC 指纹图谱中具有紫外吸收物质不多,而质谱基峰色谱图中各组分响应强度高,分离效果好(图 1),更能整体表征其所含成分。为了能够筛选出与抗炎作用密切相关的活性成分,本研究选择质谱所得指纹图谱各成分谱峰面积与抗炎活性指

酰基)-葡萄糖苷。

3.4 基于细胞水平的抗炎活性验证结果 通过测定 E-8-G 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 生成的抑制率来评价其抗炎活性,与空白组比较,LPS 组 NO_2^- , IL-1 β , IL-6, MCP-1 含量明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,给予不同浓度 E-8-G (50, 100, 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)后,可抑制 IL-6, IL-1 β 和 MCP-1 的生成,且呈一定的剂量依赖关系($P < 0.05, P < 0.01$)(表 1)。

3.5 基于反向寻靶技术的抗炎活性验证结果 利用 DS 的反向寻靶功能,对 E-8-G 的靶点蛋白进行初步筛选,删除重复并去除假阳性,根据药效基因模型吻合度拟合分值(fit value) > 0.5 的规则,整合得到关键的靶标蛋白共 18 个(表 2)。然后基于基因本体(GO)数据库和京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库进行基因功能和通路的富集分析,涉及多个炎症相关通路。例如, TNF 信号通路(图 3),黏着连接, Toll 样受体信号通路,由趋化因子和细胞因子信号通路介导的炎症,磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt) 信号通路等。上述结果初步提示 E-8-G 具有一定的抗炎活性。

4 讨论

本研究采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症模型,对虎杖醇提取物及其大孔树脂洗脱部位的抗炎活性进行初步筛选,结果发现虎杖醇提取物大孔树脂

标进行关联分析。利用 PLS 分析方法辨识了虎杖中多个成分均与抗炎作用具有较强相关性,其中贡献较大的有 3 个成分,通过一级、二级质谱碎片信息,结合文献及对照品比对,鉴定其分别为 E-8-G, 大黄素-1-O- β -D-葡萄糖苷和大黄素-8-O-(6'-O-丙二酰基)-葡萄糖苷,且他们在虎杖醇提取物大孔树脂 60% 乙醇洗脱部位中的相对含量较高,由此提示他们可能是虎杖发挥抗炎作用的潜在活性成分。

中药谱效关系研究是一种新的科学研究方法,主要包括指纹图谱的建立、药效评价和谱效相关性分析 3 个重要部分^[15],对阐明中药药效活性成分具有重要的意义。谱效关系研究结果是基于建立的谱-效数据模型进行关联分析得到的,因此,对其结果的进一步验证是对该方法可行性、准确性的有力保障。本研究从谱效关系筛选得到的 3 个潜在抗炎活性成分中,选择 E-8-G 进行后续验证实验。采用 DS 反向寻靶分析验证发现,E-8-G 可能涉及多条炎症通路来发挥抗炎作用;此外,通过细胞实验验证发现,E-8-G 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞上清中 IL-6,IL-1 β 和 MCP-1 的过表达具有显著抑制作用。上述结果充分证明 E-8-G 具有明确的抗炎活性。由此表明,基于 LC-MS 技术表征的化学组分与抗炎活性药效进行谱效相关的研究策略是可行的,将有助于快速准确地发现中药活性成分(群),为研究中药药效物质提供重要的理论依据。

[参考文献]

[1] PENG W, QIN R, LI X, et al. Botany, phytochemistry, pharmacology, and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(3):729-745.

[2] 欧水平,任丽,王玉和,等.虎杖提取物中虎杖苷及白藜芦醇在大鼠胃肠道吸收的动力学分析[J].*中国实验方剂学杂志*,2018,24(3):30-35.

[3] 时圣明,潘明佳,王文倩,等.虎杖的化学成分及药理作用研究进展[J].*药物评价研究*,2016,39(2):313-321.

[4] 樊慧婷,丁世兰,林洪生.中药虎杖的药理研究进展[J].*中国中药杂志*,2013,38(15):2545-2548.

[5] Kim K W, Ha K T, Park C S, et al. *Polygonum cuspidatum*, compared with baicalin and berberine, inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 gene expressions in RAW 264.7

macrophages [J]. *Vascul Pharmacol*, 2007, 47(2/3):99-107.

[6] Ghanim H, Sia C L, Abuaysheh S, et al. An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(9):E1-E8.

[7] Bralley E E, Greenspan P, Hargrove J L, et al. Topical anti-inflammatory activity of *Polygonum cuspidatum* extract in the TPA model of mouse ear inflammation [J]. *J Inflamm*, 2008, 5(1):1-8.

[8] HAN J H, Koh W, Lee H J, et al. Analgesic and anti-inflammatory effects of ethyl acetate fraction of *Polygonum cuspidatum* in experimental animals [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2012, 34(2):191-195.

[9] 张青,谭鹏,罗秋月,等. UPLC 在中药及其复方分析中的应用和研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(20):22-30.

[10] 吉日木巴图,范娜,王蕊,等.基于分子对接技术探讨残黄片退黄作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(24):1-8.

[11] 董静,王弘,万乐人,等.高效液相色谱/电喷雾-离子阱-飞行时间质谱分析鉴定中药虎杖中的主要化学成分 [J]. *色谱*, 2009, 27(4):425-430.

[12] 李菁雯,陈祥龙,孟祥智.虎杖及其提取物的研究进展 [J]. *中医药学报*, 2011, 39(3):103-106.

[13] 徐新,李德明,徐佳薇,等.虎杖提取物的抗炎作用及对一氧化氮生成的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(16):1311-1315.

[14] 贾玉梅,王君明,崔瑛.基于二苯乙烯类为主要活性成分的虎杖药理作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(9):263-269.

[15] 肖遂.基于谱效关系的中药铁苋菜抑菌物质辨识方法研究 [D]. 北京:中国农业科学院,2013.

[责任编辑 周冰冰]