

· 药学前沿 ·

多维谱效关系在中药研究中的进展

孙莉琼,戚进,余伯阳*

(中国药科大学中药复方研究室,南京 210009)

摘要 中药的质量直接关系到其临床疗效和安全性。近年来,国内外学者开展了大量的中药谱效关系的研究工作,试图将中药指纹图谱中表征的化学成分与药效活性相结合,从而建立与中药产品疗效相关且反映其内在品质的质量标准。然而,中药成分复杂,对疾病的治疗往往是多种成分通过多靶点和多环节发挥整体作用。鉴于此,本文结合作者课题组的前期研究工作,提出中药多维谱效关系这一概念,并选择与疗效密切相关的多种药效指标探讨谱效关系,为进一步完善中药质量评价体系提供新的研究思路和方法。

关键词 谱效关系;多维;质量评价;在线活性检测;中药

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2013)06-0487-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20130601

Advances of multi-dimensional spectrum-effect relationship for the research on traditional Chinese medicine

SUN Liqiong, QI Jin, YU Boyang*

Department of Complex Prescription of Traditional Chinese Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract The therapeutic effect and safety of traditional Chinese medicine (TCM) are known to directly depend on its quality. In the past decade, a lot of researchers have undertaken many researches on spectrum-effect relationship of TCM in an attempt to associate the chemical composition in fingerprint chromatograms with its pharmacodynamic activity, and to establish scientific quality standards which accord with the efficacy of Chinese medicinal products and reflect their intrinsic quality. In this paper, due to the complexity and pharmacological diversity of the constituents of TCM, a concept of the “multi-dimensional spectrum-effect relationship” was proposed, and a variety of pharmacodynamic activities referring to the clinical effects were selected to explore this new model based on the author’s own research experiences. It could provide some reference for further improvement of the quality evaluation system of TCM.

Key words spectrum-effect relationship; multi-dimensional; quality control; online activity detection; traditional Chinese medicine

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81274004, No. 30973965); the Key Projects in the National Science & Technology Support Program during the Eleventh Five-Year Plan Period (No. 2008BAI151B03); and Innovation Team of Science and Technology of Higher School in Jiangsu Province

中药历经数千年而不衰,在当今世界上越来越被重视,其疗效不但经受住了长期临床实践的检验,也得到了现代科学的研究的证实。与西药相比较,中药的特色在于其成分复杂,对疾病的治疗功

效是其所有药效物质基础协同作用的结果,因此药效温和且毒副作用小。但过于复杂的成分体系却给中药质量监控带来了极大的不便,这也直接影响了中药产品的疗效。中药指纹图谱是目前中药质

* 收稿日期 2013-10-12 * 通信作者 Tel:025-86185157 E-mail: boyangyu59@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (No. 81274004, No. 30973965);“十一五”国家科技支撑计划资助项目 (No. 2008BAI151B03);江苏省高等学校优秀科技创新团队

量控制体系中的主流模式,作为现代中药质量标准体系的核心技术和基石,其整体性、宏观性和模糊性的分析特点较符合中医药的传统理论。然而,现有的中药指纹图谱主要为化学指纹图谱,反映的是化学成分的波动,表征的信息不够全面,不能直接体现中药药理活性信息,也不能直观反映中药及中药复方具有的疗效,因此难以确认治疗效果与中药质量的相关性,这也是中药质量不能得到客观评价和控制的主要原因之一^[1]。

1 中药谱效关系的提出

在此背景下,李戎等^[2]首先较为明确地提出了“谱效关系”的概念,即将中药的化学指纹图谱与其药效活性相联系。同时,罗国安等^[3]在理论上对其展开了进一步阐述。谱效关系研究是继中药指纹图谱之后提出的一项更深层次的科学的研究,不仅可以反映指纹图谱中各化学成分对应的药效活性,还能阐明指纹图谱特征与药效的相互关系,从而更好地确定中药质量控制的指标,建立与其疗效基本一致且反映产品内在质量的中药产品质量标准。因此,发展药效指纹图谱技术已成为中药质量控制领域的前沿方向^[4]。在国内外学者的一致努力下,谱效关系的研究模式逐渐多元化,也取得了阶段性的进展,但到目前为止并没有形成一种公认或统一的研究模式。

目前最常见的研究方法主要是通过一些数学处理方法,例如主成分分析法、相关分析、聚类分析、灰色关联度分析、回归分析、图谱比对等^[5-12],将中药材的化学指纹图谱与药效数据进行相关分析,求得各指纹峰所表征成分的活度系数,从而确定总效应与单个成分浓度的量效关系。肖小河研究团队^[13]与李萍研究团队^[14]也分别提出“基于成分敲除/敲入的中药药效物质辨识与质量控制模式”和“化学成分(群)缺失/捕获-谱效集成表征”的研究模式,在遵循中药或复方多成分整体综合作用的基础上,对比目标成分缺失前后整体活性的差异,从而确定各有效成分对中药整体药效的贡献度。另外,本课题组牟玲丽和林以宁等^[15-16]在研究过程中也先后采用缺失峰的方式先制备得到缺失某指纹峰(群)的化学成分集合进行体外药效试验,推测出对药效起主要贡献的活性峰(群),并采用人工神经网络(BP-ANN)的方法建立中药相关

药效的谱效关系模型。

本世纪初,本课题组率先提出了“生物活性指纹图谱”的研究模式^[17],以抗氧化研究作为研究切入点,试图将生物活性评价引入中药质量评价体系。本课题组刘荣华等^[18]采用收集捕获的方式得到不同种山楂叶HPLC指纹谱的各指纹峰,然后进行大鼠PMN呼吸爆发药效实验,从而建立各指纹峰的峰面积与药效之间关系的数学模型,通过数学、化学计量学、计算机编程与模拟等手段将山楂叶的HPLC指纹图谱翻译成生物活性指纹图谱,包括药效指纹图谱和效价指纹图谱。本课题组丁晓萍等设计并构建了HPLC-DAD-CL联用仪器系统,分别建立了检测过氧化氢(H_2O_2)和超氧阴离子(O_2^-)清除活性的在线分析技术平台。利用这些联用技术,本课题组先后在线测定了银杏叶、山楂叶、鬼箭羽、虎杖、葛根等中药材以及丹参注射液的色谱指纹和活性指纹,通过两种指纹图谱相关性研究,从不同角度全面直观地实现了对中药产品质量的综合评价^[19-25]。同时,本课题组吴雷等^[26]将其成功应用于知名中药复方生脉散,从化学信息和活性信息两方面证实了生脉散的合理配伍,并确定其主要药效部位。丁晓萍等^[27]进一步将所建立的HPLC-DAD-MS-CL多检测器联用的新技术平台,更是实现了紫外、质谱、化学发光检测三位一体的快速检测体系,在此基础上获得了4个不同种淫羊藿药材的指纹图谱集,对该药材中38种成分进行质谱结构鉴定及活性的在线测定,实现了“谱-效”对应表观形式的构建,提供了一种对中药质量进行综合评价的研究模式。

2 中药多维谱效关系

实践证明,中药谱效关系的研究不仅为中药材质量标准的提升提供了可行的研究思路,也为中药药效物质基础的研究提供了新的研究模式。然而,尽管许多中药有着数千年的应用历史,但其所含化学成分种类繁多,每类化学物质又常由数个乃至数十个化合物组成,不同化合物各自又可以发挥不同或相同的药理作用。因此,每一味中药都是一个化合物多样性、生物效应多样性的复杂体系,它们对疾病的治疗往往是所有化学成分的各种药效的综合体现。这就表明,采用单一的药效指标难以全面反映中药的药效信息,在进行中药谱效关系研究

时,应当结合中药药效及功能主治,尽可能多的选择与疗效密切相关的各种药效活性作为评价指标。

有鉴于此,本课题组在沿用“谱效关系”的研究基础上,进一步凝炼和提出了“多维谱效关系”。在此之前,李云飞等^[28]也已提出了“多维谱效关系”这一概念,其认为由于中药所含化学成分相当复杂,而不同化合物的理化性质又有差异,单张化学指纹图谱往往难以全面地表征中药产品的化学特征,因此,“多维”主要是指采用不同的仪器分析方法或检测条件所得到的尽可能完整地反映中药化学特性的多张化学指纹图谱,这一概念及其内在思想有其先进性。但本课题组所提出的这一概念与其并不相同,在我们的理解中,“多维”的主体应为“谱效关系”,即针对不同药效指标所反映的多种谱效关系,这种研究模式理论上更加符合中药材治疗疾病多靶点、多环节的作用特点。目前本课题组对“多维谱效关系”的研究尚属探索阶段,研究思路与方法尚需进一步完善,而其中如何建立多种药效活性评价方法,如何对多种谱效关系进行权重分析,以及如何将多种谱效关系与中药的多环节作用特点相结合,则是该研究需要解决的关键问题,这也就需要多学科技术的深度交叉,充分综合运用现代化学、仪器分析、分子生物学、药效学和数学相关的理论和技术。

2.1 多指标药效检测分析

多维谱效关系的研究主要是选择多种活性指标,探讨各化学成分针对不同的药效靶标所发挥的作用,综合分析中药治疗疾病的物质基础。然而,目前较为普遍的研究方法仍然是采用将色谱峰与不同的药效活性数据进行数学处理分析。泻白散是治疗咳嗽的经典名方,林立等^[29]将方中各药进行正交组合,分别测定其HPLC图谱及评价祛痰、抗感染作用,运用回归分析和相关分析法将两种药理数据和HPLC图谱中各色谱峰面积相关联,最终确定桑白皮中有两个峰显示与祛痰作用和抗感染作用呈正相关,为该方剂发挥疗效的主要物质基础。宁黎丽等^[30]通过对吴茱萸汤进行组方药量变化,在原方基础上按正交试验法组成9个不同配比的处方,同时对其进行HPLC分析和镇痛与止呕两个指标的药理实验,对所得化学数据和药理数据进行逐步回归分析。综合结果表明,其中的4个色谱峰所表征的化学成分为该方主要药效物质基础。

廖婉等^[31]采用灰色关联度分析法,将已建立的10个批次醋莪术HPLC指纹图谱的16个共有峰分别与其血液流变学改善作用的5个药效指标(全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数、血沉和血细胞压积)相关联,构建醋莪术“谱-效”模型。结果表明,针对不同血液流变学指标,贡献作用关联度较大的色谱峰群也有所变化,最终综合确定了7个色谱峰为体现醋莪术破血功效的生物信息峰簇。同时霍仕霞等^[32]也采用类似的方法从B16细胞增殖和酪氨酸酶活性两个方面,确定高良姜素是高良姜治疗白癜风的有效物质之一,并通过对照品试验对该结果进行验证。

本课题组的林以宁^[16]以川麦冬为研究对象,选择中性粒细胞呼吸爆发模型,以该反应生成的H₂O₂和羟自由基(·OH)为药效指标,借鉴中药复方的拆方研究思路,以指纹图谱为导向,制备缺失其中某色谱峰或峰群的样品液,并测定其药效活性,以活性峰(群)为输入点,以其各自相应的活性为输出点,根据输入点、输出点的对应关系,模拟其内在隐含关系构建BP神经网络模型,最终达到可根据指纹信息分别预测川麦冬清除自由基、抑制中性粒细胞呼吸爆发的活性。

以上所述均是采用数学处理法,将中药以及复方的指纹图谱与多种药效指标结合建立数学模型,确定谱效关系。这些研究模式综合考虑中药中各成分的相互作用,较符合中药的整体性和复杂性特点,为药效物质基础的研究以及质量控制指标的确立提供了可行的思路,但是由于这些数学处理方法较多,而每种方法都有其优点和不足,如何选择合适的处理方法还需进一步研究和探讨。

2.2 在线活性检测分析

当前,结合现代仪器分析与生物活性检测而发展起来的生物活性指纹图谱检测技术已成中药质量分析技术领域的前沿研究方向。近年来,在线活性分析技术发展非常迅速,可以实现HPLC色谱分离和活性检测几乎同时完成,既可以得到中药材提取物的化学指纹图谱信息,亦可同时对色谱分离后的成分进行活性分析,直观地生成相关生物活性指纹图谱,且方法快速、操作简便、自动化程度高,适宜推广^[17]。这些检测体系主要包括HPLC-CL体系^[19-25,33]、HPLC-DPPH体系^[34-35]、HPLC-ABTS体系^[36-37]、以及部分酶^[38-40]、受体^[41]以及DNA^[42]

活性的在线测定体系,但除了 HPLC-CL 体系,其余体系目前主要用于活性物质的快速筛选鉴定,鲜有应用于中药质量评价和谱效研究的相关报道。本课题组常艳旭等^[25]利用 HPLC-DAD-CL 联用技术,建立了丹参注射液的 H_2O_2 清除活性指纹图谱,并进一步模拟阳性药物峰效关系模型,成功构建了丹参注射液的效价指纹图谱,从化学信息和活性信息的多个角度评价了不同产地、不同品种、不同栽培方式的丹参药材,通过建立不同批次丹参注射液中各色谱峰面积的贡献度以及各成分活性贡献度的图表进一步直观地量化丹参注射液的“谱效”关系。为进一步证明该体系的科学性与可行性,本课题组孙莉琼等^[43]以不同产地的山楂叶为研究对象,基于该研究模式对药物体外生物活性与体内活性进行了生物等效性研究,结果表明 HPLC-DAD-CL 体系测定的体外清除 H_2O_2 的总活性与其体内活性结果基本一致,具有较强的相关性。

中草药中因含有丰富的自由基清除剂,具有来源广、抗氧化活性大、与机体亲和力强和安全性高等优点,是很有潜力的天然抗氧化剂资源,其抗氧化活性一直是当前研究热点之一。研究结果显示很多中药的疗效与其抗氧化作用密切相关^[44]。生物体内的自由基种类繁多,药物对不同自由基表现出不同的亲和力,因此中药在发挥抗氧化疗效时,具有多组分、多元化、多靶点以及非线性的特点。 O_2^- 、 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 是生物体内最重要的3种自由基^[45],由于三者本身的性质不同,对机体的损伤程度和作用途径也有不同^[46-48]。为阐明中药的整体作用特点,本课题组以抗氧化为主要生物活性,先后建立了在线清除 O_2^- 、 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 的 HPLC-DAD-pyrogallol-luminol-CL, HPLC-DAD- H_2O_2 -luminol-CL 和 HPLC-DAD- Cu^{2+} -Vc- H_2O_2 -phenanthroline-CL^[49] 稳定检测体系,建立中药基于不同自由基体系的生物活性指纹图谱,从化学信息和多种生物活性信息等多个角度全面真实地评价中药质量,为完善当今中药质量评价体系提供一定的研究思路。丁晓萍等^[22]采用 HPLC-DAD-pyrogallol-luminol-CL 和 HPLC-DAD- H_2O_2 -luminol-CL,对不同产地鬼箭羽的化学指纹信息、清除 O_2^- 和 H_2O_2 的活性指纹信息进行了表征,并对其质量进行了综合分析评价。

在前人研究的基础上,本课题组以国内广泛使用的绿茶和乌龙茶为研究对象,运用3种自由基的

在线检测体系,分别建立了12批商品茶叶清除 O_2^- 、 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 的生物活性指纹图谱,并结合 HPLC-ESI-MSⁿ 得到由5组不同检测指标的指纹图谱集。该指纹图谱集是由多张互补的子指纹图谱构成的一个巨大信息库,在继承传统 HPLC 化学指纹图谱模糊性和复杂性特征的同时,增强其专属性,从 HPLC 化学指纹信息、MS 结构特征信息、以及清除 O_2^- 、 H_2O_2 和 $\cdot OH$ 的3种药效活性信息多个角度,尽可能全面地表征茶叶样品的特征信息^[49]。采用常规统计学方法处理这些信息,如相似度分析和聚类分析等,对茶叶的质量实现了较为满意的综合评价。判别式分析结果表明,相比单一维度的指纹图谱,多维指纹图谱集表征的样品特征性更为全面,样品间差异性表现的更为明显,其优越性显而易见。当然,这些表征茶叶不同信息特征的指纹图谱相互之间又是独立的,每个单一维度的指纹图谱都可以单独作为一种质量评价方式。例如,如果仅需要对不同品牌的茶叶进行化学成分的比较,只采用 HPLC 化学指纹图谱分析,就可以反映化学成分整体波动情况。而如果仅需要评价不同样品清除某一自由基(如 O_2^-)的能力,可单独通过清除 O_2^- 的活性指纹图谱分析。对这些信息数据进一步深层次的挖掘可以获得更多的潜在有用的信息,真正把握中药的整体性,进而建立更具有综合性的质量控制模式。例如,本课题组根据阳性对照白藜芦醇清除 H_2O_2 、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 的量效数学模型,以效价的方式计算出茶叶样品的总抗氧化活性,从药效上评价样品的整体质量。研究发现,所有绿茶样品清除3种活性氧自由基(OFR)的活性基本都强于乌龙茶,这可能是由于部分活性物质在乌龙茶半发酵制备过程中减少或丢失了。通过计算茶叶中各色谱峰对总活性的贡献值,可以确定抗氧化的主要活性物质,结合 H_2O_2 、 O_2^- 和 $\cdot OH$ 的生理机制,探讨绿茶与乌龙茶分别在自由基代谢通路上从多个靶点发挥抗氧化作用的主要物质基础。结合模糊数学运算,将茶叶色谱峰的不同活性效价进行整合,计算综合效价,筛选出6个主要抗氧化活性成分,分别为没食子酰奎尼酸、表没食子儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、1,2,6-三没食子酰葡萄糖和表儿茶素-3-没食子酸酯。由于这几个活性成分是通过将物质与药效结合而设定的,将其作为茶叶的质量评价指标,可以满足茶叶真伪性与有效

性的双向评价,为建立更为科学合理的质量控制体系提供了新的方法借鉴。

3 总结与展望

中药“多维谱效关系”的研究是在“谱效关系”的基础上衍生出来的,是对其的一个补充和完善。现阶段,尽管许多学者对其研究的意义已经达成共识,但中药谱效关系的研究思路和模式尚未得到统一,且各有其优点与缺陷。在今后的方法研究中,除了在化学指纹图谱方面需要综合各种现代仪器分析技术,从“多元”和“多源”上建立尽可能全面表征化学成分的多维指纹图谱;在药效活性检测方面,需要尽可能符合中药材的临床作用特点,将药效数据拓展到多层次、多指标的范围,同时可以充分开发与分离技术相结合的在线联用技术,缩短实验时间的同时获取完整而有价值的数据;在数据的处理上,需要注重多学科的交叉应用,使中药指纹图谱与其药效实现真正的相关,同时将不同药效指标的谱效关系进行综合分析,剔除其中的冗余信息,不断发掘有价值信息,最终实现从多个角度尽可能地全面评价中药材的内在质量,以及有效地对中药产品进行全过程的质量控制,从而推动我国中医药事业现代化和国际化。

参 考 文 献

- Xie PS, Leung AY. Understanding the traditional aspect of Chinese medicine in order to achieve meaningful quality control of Chinese materia medica[J]. *J Chromatogr A*, 2009, **1 216**(11): 1 933 – 1 940.
- Li R, Yan ZY, Li WJ, et al. Establishment of spectrum-effect relationship for Chinese medicine[J]. *Edu Chin Med* (中医教育), 2002, **21**(2): 62.
- Luo GA, Wang YM, Cao J, et al. Studies on establishment of modern quality standards system of traditional Chinese medicine in China[J]. *World Sci Technol / Moder Tradit Chin Med* (世界科学技术-中医药现代化), 2002, **4**(4): 5 – 11.
- Chen HY. The research idea and methodology of spectrum-effect relationship of traditional Chinese medicine[J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2010, **8**(3): 161.
- Deng SH, Lie L. The analysis method and data processing technology of chromatographic pharmacodynamics of traditional Chinese medicine[J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2010, **33**(11): 1 819 – 1 823.
- Meng QG, Wang W, Li Q, et al. Spectrum-effect relationship in antipyretic effect of Huangqin (*Radix Scutellariae*) [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2011, **34**(6): 379 – 383.
- Li ZJ, Zhou L, Gu D, et al. Grey relational analysis on fingerprint characteristics of different eluted parts of *Euphorbia humifusa* and antifungal effect[J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2012, **37**(5): 580 – 584.
- Sun LQ, Ding XP, Qi J, et al. Antioxidant anthocyanins screening through spectrum-effect relationships and DPPH-HPLC-DAD analysis on nine cultivars of introduced rabbit eye blueberry in China[J]. *Food Chem*, 2012, **132**(2): 759 – 765.
- Kong WJ, Wang JB, Zang QC, et al. Fingerprint-efficacy study of artificial calculus bovis in quality control of Chinese materia medica[J]. *Food Chem*, 2011, **127**(3): 1 342 – 1 347.
- Kong WJ, Zhao LZ, Xiao XH, et al. Spectrum-effect relationships between ultra performance liquid chromatography fingerprints and anti-bacterial activities of *Rhizoma coptidis*[J]. *Anal Chim Acta*, 2009, **634**(2): 279 – 285.
- Zhao G, Peng LX, Wang S, et al. HPLC fingerprint-antioxidant properties study of buckwheat[J]. *J Integr Agric*, 2012, **11**(7): 1 111 – 1 118.
- Guo YS, Hua YL, Deng HJ, et al. Relationship between HPLC fingerprint chromatogram and scavenging free radicals of different processed products of *Radix Angelicae sinensis*[J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2010, **32**(12): 2 107 – 2 111.
- Xiao XH, Yan D, Yuan HL, et al. Novel patterns of efficient components recognition and quality control for Chinese materia medica based on constituent knock-out /knock-in[J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2009(9): 1 345 – 1 348.
- Liu Y, Zhou JL, Liu P, et al. Chemical markers' fishing and knockout for holistic activity and interaction evaluation of the components in herbal medicines[J]. *J Chromatogr A*, 2010, **1 217**(32): 5 239 – 5 245.
- Mou LL. *Study on the Quality Control of Ginkgo Biloba Leaves and the Correlation of Fingerprint-activity* (银杏叶质量评价方法学-谱效相关性研究) [D]. Nanjing: China Pharmaceutical University, 2007.
- Lin YN. *Methodology Research on the Quality Control of Various Maidong* (麦冬类药材质量评价的方法学研究) [D]. Nanjing: China Pharmaceutical University, 2007.
- Qi J, Yu BY. A new methodology for the quality evaluation of traditional Chinese medicine-integrated spectrum-effect fingerprint research[J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2010, **8**(3): 172 – 176.
- Liu RH, Yu BY, Chen LY, et al. Relationship between HPLC fingerprint chromatogram and inhibitory effect on respiratory burst of rat PMN of leaves of *Crataegus*[J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, **33**(15): 1 884 – 1 889.
- Ding XP, Wang XT, Chen LL, et al. Quality and antioxidant activity detection of *Crataegus* leaves using on-line high-performance liquid chromatography with diode array detector coupled to chemiluminescence detection[J]. *Food Chem*, 2010, **120**(3): 929 – 933.
- Ding XP, Qi J, Chang YX, et al. Quality control of flavonoids in *Ginkgo biloba* leaves by high-performance liquid chromatography

with diode array detection and on-line radical scavenging activity detection [J]. *J Chromatogr A*, 2009, **1216**(11): 204–210.

[21] Zhang CL, Ding XP, Hu ZF, et al. Comparative study of *Puerariae lobatae* and *Puerariae thomsonii* by HPLC-diode array detection-flow injection-chemiluminescence coupled with HPLC-electrospray ionization-MS [J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, **59**(5): 541–545.

[22] Ding XP, Wang XT, Chen LL, et al. Development of a special two-dimensional fingerprint for the quality evaluation of *Euonymus alatus* by HPLC with diode array detector coupled with chemiluminescence detection [J]. *Anal Lett*, 2011, **44**(1/2/3): 82–93.

[23] Chang YX, Ding XP, Qi J, et al. Determination of phenolic acids in danshen preparations by LC with chemiluminescence detection [J]. *Chromatographia*, 2009, **69**(3/4): 319–323.

[24] Chang YX, Ding XP, Qi J, et al. The antioxidant-activity-integrated fingerprint: an advantageous tool for the evaluation of quality of herbal medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2008, **1208**(1): 76–82.

[25] Chang YX, Yan DM, Chen LL, et al. Potency fingerprint of herbal products *Danshen* injection for their quality evaluation [J]. *Chem Pharm Bull*, 2009, **57**(6): 586–590.

[26] Wu L, Ding XP, Zhu DN. Study on the radical scavengers in the traditional Chinese medicine formula *Shengmai San* by HPLC-DAD coupled with chemiluminescence (CL) and ESI-MS/MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, **52**(4): 438–445.

[27] Ding XP, Wang XT, Chen LL, et al. On-line high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-mass spectrometry-chemiluminescence assay of radical scavengers in *Epimedium* [J]. *J Chromatogr A*, 2011, **218**(9): 1227–1235.

[28] Li YF, Cheng YY, Fan XH. A strategy for multidimensional spectrum-effect relationship of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2010, **8**(3): 167–170.

[29] Lin L, Liu XQ. Primary investigation on spectrum activity relationship of *Xiebai* powder [J]. *Modern Chin Med* (中国现代中药), 2009, **11**(8): 35–38.

[30] Ning LL, Bi KS, Wang R, et al. Methodological study on the material basis for the efficacy of the traditional Chinese medicine *Wuzhuyu* decoction [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2000, **35**(2): 131–134.

[31] Liao W, Zhang JM, Fu S, et al. Chromatography-activity relation of stagnation of vital energy and blood stasis syndrome influencing hemorheology by stir-baked *Curcumae Rhizoma* with vinegar [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2013, **35**(2): 330–334.

[32] Huo SX, Kang YT, Peng XM, et al. Spectrum-effect relationship of extract from rhizome of *Alpinia officinarum* on promotion of melanogenesis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2013, **44**(8): 995–1002.

[33] Toyo'oka T, Kashiwazaki T, Masaru K, et al. On-line screening methods for antioxidants scavenging superoxide anion radical and hydrogen peroxide by liquid chromatography with indirect chemi-

luminescence detection [J]. *Talanta*, 2003, **60**(2/3): 467–475.

[34] Bartasiute A, Westerink BHC, Verpoorte E, et al. Improving the *in vivo* predictability of an on-line HPLC stable free radical decoloration assay for antioxidant activity in methanol-buffer medium [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, **42**(3): 413–423.

[35] Zhang L, Ding XP, Qi J, et al. Determination of antioxidant activity of tea by HPLC-DPPH [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2012, **43**(3): 236–240.

[36] He W, Liu X, Xu H, et al. On-line HPLC-ABTS screening and HPLC-DAD-MS/MS identification of free radical scavengers in *Gardenia* (*Gardenia jasminoides* Ellis) fruit extracts [J]. *Food Chem*, 2010, **123**(2): 521–528.

[37] Borges G, Degeneve A, Mullen W, et al. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries [J]. *Food Chem*, 2010, **58**(7): 901–909.

[38] Schenk T, Breel GJ, Koevoets P, et al. Screening of natural products extracts for the presence of phosphodiesterase inhibitors using liquid chromatography coupled online to parallel biochemical detection and chemical characterization [J]. *Biomol Screen*, 2003, **8**(4): 421–429.

[39] Li HJ, An JJ, Zhou JL, et al. Target molecule affinity coupled with mass spectrometry for the screening of bioactive compounds in complex matrices [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2009, **40**(2): 97–103.

[40] Jeurissen SMF, Claassen FW, Havlik J, et al. Development of an on-line high performance liquid chromatography detection system for human cytochrome P450 1A2 inhibitors in extracts of natural products [J]. *J Chromatogr A*, 2007, **141**(1): 81–89.

[41] de Vlieger JSB, Kolkman AJ, Ampt KAM, et al. Determination and identification of estrogenic compounds generated with biosynthetic enzymes using hyphenated screening assays, high resolution mass spectrometry and off-line NMR [J]. *J Chromatogr B*, 2010, **878**(7/8): 667–674.

[42] Song Z, Wang H, Ren B, et al. On-line study of flavonoids of *Trollius chinensis* Bunge binding to DNA with ethidium bromide using a novel combination of chromatographic, mass spectrometric and fluorescence techniques [J]. *J Chromatogr A*, 2013, **282**: 102–112.

[43] Sun LQ, Ding XP, Ma ST, et al. Studies on bioequivalence of activity based on “spectrum-effect integrated fingerprint” and activity *in vivo* [J]. *World Sci Technol / Moder Tradit Chin Med* (世界科学技术-中医药现代化), 2012, **14**(2): 1623–1629.

[44] Hou ZX. Free radicals related diseases and antioxidant Chinese medicine research [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 1996, **8**(1): 18–21.

[45] Fang YZ, Li WJ. *Free Radicals and Enzyme-basic Theory and Its Application in Biology and Medicine* (自由基与酶-基础理论及基在生物学和医学中的应用) [M]. Beijing: Science Press, 1989: 53–54.

[46] Burdon RH, Gill VM, Rice-Evans C. Oxidative stress and heat shock protein induction in human cells [J]. *Free Radic Res Commun*, 1987, 3(1/2/3/4/5): 129-135.

[47] Van der Valk P, Gille JJ, van der Plas LH, et al. Characterization of oxygen-tolerant Chinese hamster ovary cells. II. Energy metabolism and antioxidant status [J]. *Free Radic Biol Med*, 1988, 4(6): 345-356.

[48] Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1993, 300(2): 535-543.

[49] Sun LQ. The Study of MD-MI Antioxidant Activity Integrated Fingerprint and Its Application in Quality Evaluation of TCM (抗氧化多维多息整合指纹图谱的研究及其在中药质量评价中的应用) [D]. Nanjing: China Pharmaceutical University, 2013.

· 校园信息 ·

2013 年中国药科大学获得授权专利情况(1)

序号	发明名称	发明人
1	盐酸利莫那班的合成方法	杨照;方正;王志祥;韦萍
2	全人源的抗人表皮生长因子受体的单链抗体及其应用	王旻;周雅琼;张娟
3	CA-4 衍生物、其制法及其医药用途	徐云根;吴梦茜;屠哲玮;司崇静;何书英;何广卫;孙丽;卞金磊;戴宇驰
4	四氢异喹啉衍生物、其制备方法及用途	黄文龙;邹志红;钱海;蓝晓步;唐春雷;朱孝云;刘保民
5	一种稳定的含氯沙坦钾和氢氯噻嗪的口服固体制剂	张建军;高缘;刘大鹏
6	改善基于叶酸类化合物的受体型靶向制剂靶向效果的方法	平其能;石勇平;宗莉;肖衍宇
7	高密度发酵高核热带假丝酵母生产核糖核酸的方法	曹静;林忠;周长林;邱蔚然;邱志云;陆长德
8	吡啶并[2,3-d]嘧啶酮类化合物及其在制药中的应用	李志裕;吴保祥;任晓东;张晓芸;王举波;宋丽娟
9	靶向和荧光双功能的难溶性抗肿瘤药物纳米结构脂质载体	顾月清;陈晶;邓大伟
10	4-取代-苯联芳基-羧酸酯类衍生物的制备方法及其医药用途	吴晓明;徐进宜;张艳春;姚和权;周金培;李运曼;泮卫红;白莉;任洁
11	一种含有 D 型氨基酸的双羰基还原酶的突变体的制备方法	刘智志;杨欣;陈依军
12	抗耐药性病原菌感染多肽及其用途	周长林;窦洁;王晶;郝青茹;王慧;周伟东
13	一种含贝母的中成药中川贝母的分子生物学鉴定方法	李会军;李萍;徐传林
14	金合欢昔在制备抗心肌缺血药物中的应用	尚靖;田友清;汪豪;阿布卡的
15	芫花总黄酮苷元有效部位的制备及其在抗免疫性炎症药物中的应用	张春凤;何欣;何建廷
16	苯氧烷基哌嗪类化合物、其制备方法及其医药用途	尤启冬;杨倩;郭小可;狄斌;汤依群
17	泊洛沙姆-羧酸类药物偶联物及其制备方法与应用	周建平;姚静;方正杰;任瑾;侯琳
18	苯并杂环类化合物、其制备方法及其医药用途	汪小润;尤启冬;孙丽;席眉扬;黄婧婕;付继华;尹大力
19	一种新型幽门螺旋杆菌多表位疫苗及其制备方法	奚涛;郭乐;邢莹莹;何赟绵;李小康
20	1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖及其组合物在制备镇痛药物中的医药用途	寇俊萍;朱丹妮;徐娅妮;曹旦华
21	一种基于整体观评价中药活性和作用机理的方法	李萍;周建良;刘朋;刘颖
22	芍药昔在制备防治肺纤维化药物中的应用	夏玉凤;戴岳;张皓彷
23	一种人工合成的新型抗血栓多肽及其制备方法和应用	孔毅;杨天雨;邵好;赖伊丽
24	具有溶酶体逃逸能力的功能性纳米载体及其制备方法	平其能;李赛;张灿;肖衍宇;苏志桂
25	一种药物微丸制剂及其制备方法	吴正红;陆珺珺;高义才;王柏刚;王芳;陶庆璇;张基
26	利用非水系统的活性炭柱色谱法分离纯化青蒿素的方法	孔令义;徐金娣;罗建光
27	低排放量废气处理工艺	张锋;戴琳;巫先坤;王志祥;史益强
28	基质金属蛋白酶-9 多肽抑制剂 5 及其应用	李伟光;邱郑;胡加亮
29	肉桂多酚等组成的降血糖中药组合物及其制备方法	徐开俊;翟清波;郭守河;于锋;沈梅和
30	一种丙型肝炎病毒 F 蛋白的抗原构象表位模拟肽及其应用	岳明;邓小昭;鲁卫东;孔晶;韦娟;余晓杰;徐孝东;张云;张锦海
31	胡颓子提取物及其制备方法和应用	杨中林
32	具有抗肿瘤活性的 ent-6,7-开环贝壳杉烯型冬凌草甲素衍生物、其制备方法及用途	徐进宜;王磊;张奕华;姚和权;李达翔;徐盛涛;王超磊;刘琴;李德尧;郭建曼;王国财
33	一种聚乙二醇化降糖多肽及其制法和用途	姚文兵;高明明;金宇灏;高向东;田滋
34	一种黄酮化合物预防或治疗炎症性疾病的用途	陈君;李萍;李艳静;付钰
35	58Fe 氯高铁血红素、其制备及其在药动学研究中的应用	陈西敬;张永杰;唐明清;赵娣;韩德恩;王越
36	玫瑰石斛总生物碱制备治疗急慢性炎症、急慢性关节炎或类风湿性关节炎疾病的药物	张朝凤;张勉;戴岳;王峥涛;许翔鸿;赵昕;张天竞