

利胆合剂君臣组分的药效物质基础研究

丘燕燕^{1,2} 鄢素琪² 周俪珊² 熊小丽² 江治霞² 易巍^{1,2} 秦欢³

¹湖北中医药大学中医临床学院, 湖北武汉 430065; 华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院² 中西医结合科, ³ 检验科, 湖北武汉 430016

通信作者: 秦欢, Email: 313995940@qq.com

【摘要】 目的 建立利胆合剂君臣组分指纹图谱, 鉴定其主要活性物质, 研究利胆合剂君臣组分的药效物质基础。方法 制备利胆合剂君臣组分基准溶液, 采用超高效液相色谱法(UPLC)测定利胆合剂君臣组分的指纹图谱, 并开展方法学研究。使用 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(粒径 1.8 μm, 100 mm×2.1 mm), 以乙腈、1% 磷酸-水溶液为流动相进行梯度洗脱, 柱温 35 °C, 进样量 1 μL, 流速 0.3 mL/min, 检测波长 210~600 nm 全扫描。结果 建立的利胆合剂君臣组分 UPLC 指纹图谱分析显示, 各供试液样品指纹图谱峰型一致, 可判断茵陈、连翘、熟大黄的药材饮片、提取物和颗粒剂 3 种样品的药材质量相当; 鉴定了绿原酸、连翘苷、连翘脂苷 A、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 8 种主要活性物质。10 个批次的利胆合剂君臣组分颗粒剂成分稳定, 绿原酸和连翘苷在相应浓度范围内与峰面积的线性关系良好, 线性回归方程分别为 $y = 3\,954.10x + 4\,362.00$ ($R^2 = 0.999\,5$) 和 $y = 2\,097.70x + 349.75$ ($R^2 = 0.999\,9$); 加样回收率为 99.30%~102.11%, 相对标准偏差(RSD)为 0.05%~0.23%。结论 利胆合剂君臣组分的 UPLC 指纹图谱和主要活性物质鉴定表征了利胆合剂整体与部分的差异, 为利胆合剂组方的成药制剂开发及药物作用机制研究提供实验依据, 也为中药复方制剂的质量控制提供方法学借鉴。

【关键词】 利胆合剂; 超高效液相色谱; 指纹图谱; 活性物质

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81574024); 湖北省卫生和计划生育委员会中医药中西医结合科研项目(2017HZ-Y35)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2021.05.019

Study on medicinal effective material base of monarch and minister components in Li-Dan-He-Ji Qiu Yanyan^{1,2}, Yan Suqi², Zhou Lishan², Xiong Xiaoli², Jiang Zhixia², Yi Wei^{1,2}, Qin Huan³

¹Clinical College of Traditional Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei, China;

²Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Wuhan Children's Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430016, Hubei, China; ³Department of Laboratory, Wuhan Children's Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430016, Hubei, China

Corresponding author: Qin Huan, Email: 313995940@qq.com

【Abstract】 **Objective** To establish the fingerprints of monarch and minister components in Li-Dan-He-Ji (LDHJ) in order to identify their main active substances and study medicinal effective material basis of LDHJ monarch and minister components. **Methods** The standardized solutions of monarch and minister components in LDHJ were prepared. The fingerprints of monarch and minister components in LDHJ were determined by ultra performance liquid chromatography (UPLC) and the methodology was studied. Waters Acquity UPLC HSS T3 (particle size of 1.8 μm, 100 mm×2.1 mm) chromatographic column was used to separate the components, and the mobile phase of acetonitrile-1% phosphoric acid liquid solution was applied to carry out gradient elution; the flow rate 0.3 mL/min, the column temperature of 35 °C, the sample size of 1 μL and the detection wavelength ranging from 210-600 nm were set up for full scanning. **Results** The UPLC fingerprints of monarch and minister components in LDHJ were established, the fingerprint peak types of the sample solutions provided for testing were consistent, which could judge that the medicinal material qualities of the three samples of Yinchen, *Forsythia suspensa* and cooked rhubarb prepared as medicinal piece, extract or granule types were equivalent; 8 main active substances, including chlorogenic acid, forsythoside-A, forsythidin, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, and physcion were identified. The compositions of monarch and minister components in LDHJ in 10 different granule batches were stable, under corresponding concentration range, the linear relationships of chlorogenic acid and forsythidin with peak areas were good, and the linear regression equations were $y = 3\,954.10x + 4\,362.00$ ($R^2 = 0.999\,5$) and $y = 2\,097.70x + 349.75$ ($R^2 = 0.999\,9$), respectively. The average recovery rate range of added sample was 99.30%-102.11% and relative standard deviation (RSD) range was 0.05%-0.23%. **Conclusion** The UPLC fingerprints of LDHJ monarch and minister components and the identification of the main active substances in LDHJ characterize the overall and partial differences in LDHJ, which provides experimental basis for the development of patent medicine of LDHJ prescription and the study of drug mechanism, and also provides methodology reference for the quality control of Chinese herbal compound preparation.

【Key words】 Li-Dan-He-Ji; Ultra performance liquid chromatography; Fingerprints; Active substance

Fund program: Project of National Natural Science Foundation of China (81574024); Science and Research Project of Integrated Chinese and Western Medicine of Hubei Provincial Health and Family Planning Commission (2017HZ-Y35)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2021.05.019

婴儿胆汁淤积性肝病(ICH)是儿科常见病和疑难病,也是儿童肝病就诊及住院的首位病因,是婴儿期致死或致残的重要原因之一^[1]。该病如得不到及时有效的治疗,可能进展为胆汁性肝硬化或终末期肝病,导致患儿死亡或需要肝移植^[2]。目前用于 ICH 治疗的药物非常有限,迄今为止,有且只有熊去氧胆酸(UDCA)经过美国食品和药物管理局(FDA)批准用于 ICH 的治疗^[3]。然而,UDCA 的疗效远不如人意,约 1/3 的患儿应答不佳,且由于疾病谱系适应证的限制,UDCA 在婴儿中的临床应用范围较窄^[4]。因此,研发安全有效的 ICH 治疗药物迫在眉睫。

利胆合剂是华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院中西医结合科总结 30 余年治疗 ICH 用药经验筛定的中药复方^[5-6]。该复方的君臣组分由茵陈、连翘、熟大黄 3 味中药组成,具有清利中焦湿热、散上焦热毒、解下焦热毒的功效。本课题组在前期研究中根据利胆合剂组方采用中药配方颗粒剂对胆汁淤积的婴儿和幼龄大鼠进行干预治疗,均显示能有效改善胆汁淤积症状^[7-11]。然而,利胆合剂的药效物质基础尚不清楚。

中药复方体系复杂,其综合药效的发挥是药效物质基础中多个活性成分、多个靶点、多种信号转导通路共同调节的结果^[12]。通过中药的药效物质基础研究,能够明确中药的有效成分,研究多种药效物质之间的关系,解释其作用机制,有利于揭示中药发挥临床疗效的科学内涵,为诠释中医配伍理论提供科学依据^[13]。同时,通过阐明中药的药效物质基础,能够确保中药安全、有效且质量可控,实现以药效物质为导向的质控标准的制定^[14]。本课题组前期研究在君臣组方的药物机制研究中已获得突破,为进一步研究君臣组方,本研究应用现代工艺制备利胆合剂君臣组分基准溶液,采用超高效液相色谱(UPLC)技术建立了利胆合剂君臣组分的指纹图谱,鉴定了其中 8 个主要活性物质,旨在为利胆合剂质量标准的制定及成药的研发奠定基础,也为课题组后续研究提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器与试剂:UPLC 仪由美国 Waters 公司提供。绿原酸、连翘酯苷 A、连翘苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚均采购于中国食品药品检定研究院;乙腈(色谱纯)购自天津恒兴化学试剂制造有限公司,其他试剂为分析纯,使用纯净水。

1.2 分析样品:茵陈、连翘、熟大黄药材饮片、提取物、颗粒剂均采购于华润三九医药股份有限公司,

符合《中国药典》标准。颗粒剂检测 10 个批次。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备:① 绿原酸:称取绿原酸对照品加入 50% 甲醇制成 40 mg/L 绿原酸对照品溶液。② 连翘酯苷 A 和连翘苷:称取连翘酯苷 A、连翘苷对照品加入甲醇分别制成 100 mg/L 连翘酯苷 A 和 200 mg/L 连翘苷对照品溶液。③ 游离蒽醌混合对照品溶液:称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚对照品加入甲醇分别制成芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚 80 mg/L 溶液和大黄素甲醚 40 mg/L 溶液;量取上述溶液各 2 mL 混匀,得到每 1 mL 含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚各 16 μg,含大黄素甲醚 8 μg 的游离蒽醌混合对照品溶液。④ 混合对照品溶液:称取绿原酸对照品溶液 300 μL、连翘酯苷 A 和连翘苷对照品溶液各 150 μL、游离蒽醌混合对照品溶液 400 μL,混匀。

2.2 单方供试品溶液的制备:称取茵陈、连翘、熟大黄药材饮片粉末、提取物和颗粒剂适量,分别置于容量瓶中,加入热水和氨水,于涡旋仪上混匀,再加入甲醇,涡旋混匀,超声 10 min 使其溶解,然后用甲醇稀释至刻度,摇匀、滤过,取续滤液,得到茵陈、连翘、熟大黄的粉末、提取物和颗粒剂供试品溶液。

2.3 复方供试品溶液的制备

2.3.1 利胆合剂君臣组分原药材水提取液的制备:按处方比例称取茵陈、连翘药材饮片粉末各 3 g 和熟大黄药材饮片粉末 1 g,置于 25 mL 容量瓶中,加入热水 20 mL,氨水 0.2 mL,旋转震荡,超声 10 min 使其溶解,用水稀释至刻度,摇匀、滤过,取续滤液。

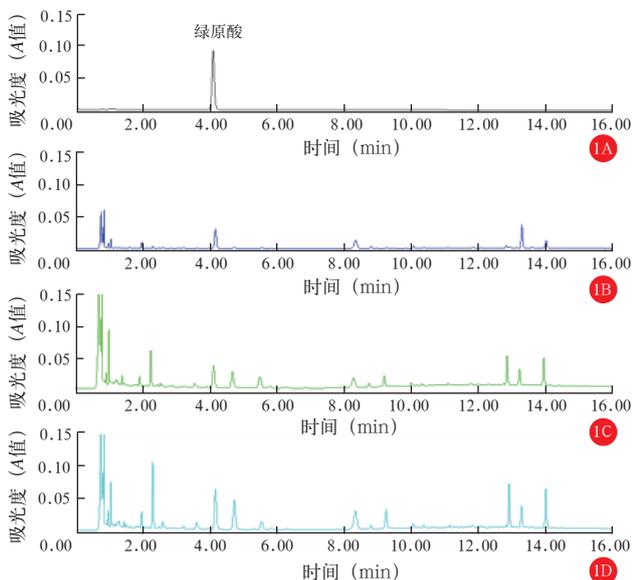
2.3.2 利胆合剂君臣组分原药材醇提取液的制备:按处方比例称取茵陈、连翘药材饮片粉末各 3 g 和熟大黄药材饮片粉末 1 g,置于 25 mL 容量瓶中,加入甲醇 20 mL、氨水 0.2 mL,旋转震荡,超声 10 min 使其溶解,用甲醇稀释至刻度,摇匀、滤过,取续滤液。

2.3.3 利胆合剂君臣组分颗粒剂溶液的制备:按处方比例称取茵陈、连翘颗粒剂各 0.3 g 和熟大黄颗粒剂 0.17 g,置于 25 mL 容量瓶中,加入 10 mL 水、0.2 mL 氨水混匀,再加 10 mL 甲醇混匀,超声 10 min 使其溶解,用甲醇稀释至刻度,摇匀、滤过,取续滤液。

2.4 色谱条件:选用 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(粒径 1.8 μm,100 mm×2.1 mm),柱温 35 ℃,进样量为 1 μL,以乙腈为流动相 A、1% 磷酸-水溶液为流动相 B,流速为 0.3 mL/min,进行梯度洗脱,30 min 可洗脱完毕,检测波长 210~600 nm 全扫描,理论塔板数按各成分计均大于 8000。

2.5 UPLC 指纹图谱

2.5.1 茵陈 UPLC 指纹图谱(图 1):各供试液样品与绿原酸对照品均有共同峰,且指纹图谱的基本峰型一致,可判断茵陈的药材饮片、提取物和颗粒剂 3 种样品均含绿原酸,且药材质量相当。



注:1A 为绿原酸对照品,1B 为茵陈药材饮片,1C 为茵陈提取物,1D 为茵陈颗粒剂;UPLC 为超高效液相色谱

图 1 茵陈不同样品 UPLC 指纹图谱

2.5.2 连翘 UPLC 指纹图谱(图 2):各供试液样品与连翘苷、连翘酯苷 A 对照品均有共同峰,且指纹图谱的基本峰型一致,可判断连翘的药材饮片、提取物和颗粒剂 3 种样品均含连翘苷、连翘酯苷 A,且药材质量相当。

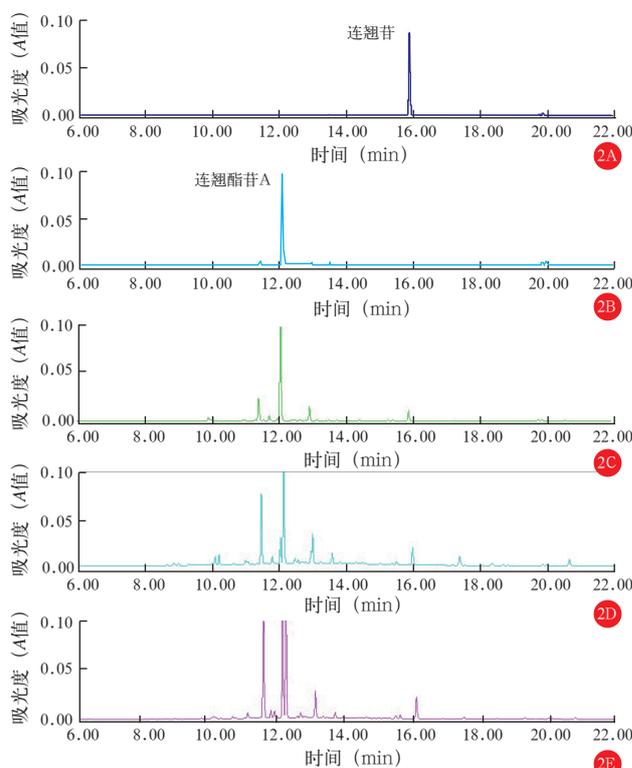
2.5.3 熟大黄 UPLC 指纹图谱(图 3):各供试液样品与游离蒽醌混合对照品均有共同峰,且指纹图谱的基本峰型一致,可判断熟大黄的药材、提取物和颗粒剂 3 种样品均含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚,且药材质量相当。

2.5.4 利胆合剂君臣组分 UPLC 指纹图谱(图 4):各供试液样品与 8 个混合对照品(绿原酸、连翘苷、连翘酯苷 A、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚)均有共同峰,说明均含上述 8 种物质;但利胆合剂君臣组分各供试液样品指纹图谱的基本峰型有所差异,与利胆合剂君臣组分药材饮片水提取液和醇提取液相比,颗粒剂中的 8 个活性成分更容易析出。

2.6 方法学考察

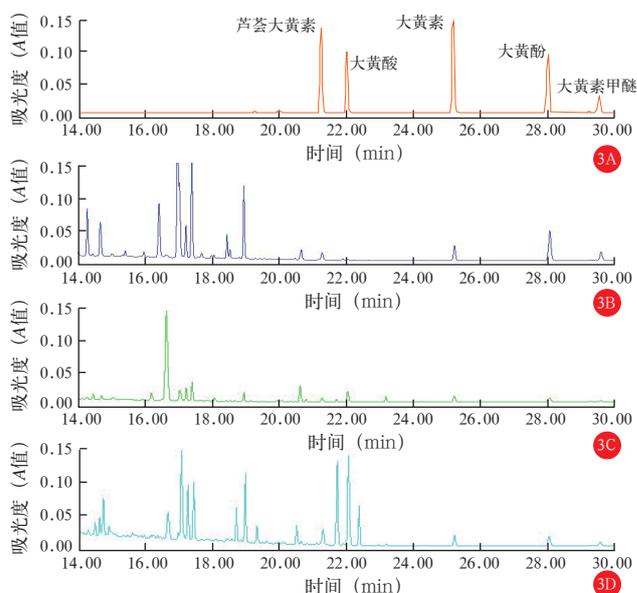
2.6.1 线性关系:分别精密量取绿原酸和连翘苷对照品溶液各 1 mL,置于棕色量瓶中混匀,加入甲醇

稀释至刻度,得到线性浓度对照品溶液,按色谱条件进行测定。以进样量为横坐标(x),峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,计算回归方程(表 1)。各活性成分的峰面积与质量浓度间线性关系较好($r > 0.999 0$),满足定量检测要求。



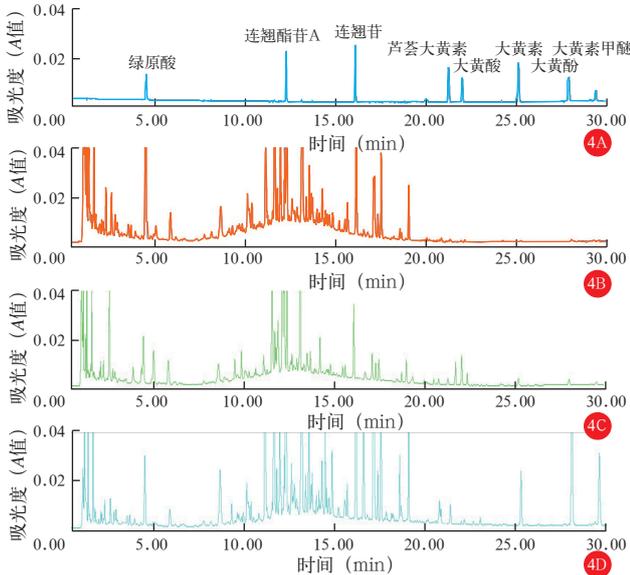
注:2A 为连翘苷对照品,2B 为连翘酯苷 A 对照品,2C 为连翘药材饮片,2D 为连翘提取物,2E 为连翘颗粒剂;UPLC 为超高效液相色谱

图 2 连翘不同样品 UPLC 指纹图谱



注:3A 为游离蒽醌混合对照品,3B 为熟大黄药材饮片,3C 为熟大黄提取物,3D 为熟大黄颗粒剂;UPLC 为超高效液相色谱

图 3 熟大黄不同样品 UPLC 指纹图谱



注：4A 为 8 种成分混合对照品，4B 为利胆合剂君臣组分药材饮片水提取物，4C 为利胆合剂君臣组分醇提取物，4D 为利胆合剂君臣组分颗粒剂；UPLC 为超高效液相色谱
图 4 利胆合剂君臣组分不同样品 UPLC 指纹图谱

表 1 绿原酸和连翘苷对照品的线性回归方程及线性范围

对照品	线性回归方程	线性范围 (mg/L)	R ²
绿原酸	y=3 954.10 x+4 362.00	6.24 ~ 187.20	0.999 5
连翘苷	y=2 097.70 x+349.75	6.76 ~ 202.80	0.999 9

注：R² 为决定系数，检测波长为 277 nm

2.6.2 精密度：精密量取绿原酸和连翘苷对照品混合溶液，按色谱条件进行测定，连续进样 6 次，绿原酸和连翘苷的平均色谱峰面积分别为 254 616.17、35 870.42，相对标准偏差 (RSD) 为 0.10% 和 0.90%，表明检测方法的精密度良好。

2.6.3 重复性：取同一组样品制备供试品溶液，重复测定 6 次，绿原酸和连翘苷平均含量分别为 25.535 mg、35.870 mg，RSD 分别为 0.20%、0.30%，表明检测方法的重复性良好。

2.6.4 稳定性：分别使用 10 个不同批次的茵陈、连翘、熟大黄颗粒剂制备相关供试品溶液和鉴定标准对照品溶液，上机检测。结果表明 10 个批次混合的利胆合剂君臣组分颗粒剂在绿原酸、连翘苷、连翘酯苷 A、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 8 个成分的出峰处高度吻合，可见颗粒剂不同批次之间质量稳定。

2.6.5 加样回收率：精密量取利胆合剂君臣组分颗粒剂溶液适量，分别加入相当于含量 50%、100%、200% 的绿原酸和连翘苷对照品溶液，制备得到低、中、高不同浓度的供试溶液，进样测定绿原酸和连翘苷的含量，并计算其加样回收率。结果表明，绿原酸和连翘苷加样后的平均回收率都较高，RSD < 2.00%，该方法准确度较好 (表 2)。

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

3.1.1 色谱柱的选择：为提升中药复杂体系的分离效果，本研究根据中药成分包含的极性与非极性物质多溶于水的原理，选择不同颗粒键合技术的色谱柱，进行反向色谱分析，实验结果表明，能完全耐水的高强度硅胶颗粒为填料的 C₁₈ 色谱柱能更好地分离极性和非极性中药成分。

3.1.2 洗脱系统的选择：本研究对甲醇-水和乙腈-水 2 个洗脱系统进行了考察，结果显示，甲醇-水体系分离的峰型较宽，分离度不够好，全部洗脱时间也较长；乙腈-水体系分离的峰型较窄，柱效较高，洗脱时间较短，故选择乙腈-水体系。

3.1.3 检测波长的选择：利胆合剂君臣组分的成分较复杂，很难通过单一波长对所有物质进行检测。本研究采用二极管阵列检测器进行 210 ~ 600 nm 全波长扫描，经分析，277 nm 波长下标定的 8 个主要活性成分检测信号最强，故采集 277 nm 的指纹图谱。

表 2 利胆合剂君臣组分颗粒剂加样回收率

编号	样品含量 (mg)	加标 [mg(%)]	加标后 测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	编号	样品含量 (mg)	加标 [mg(%)]	加标后 测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
绿原酸							连翘苷						
1	25.54	12.48 (50)	38.47	101.18			1	35.87	13.52 (50)	49.04	99.29		
2			38.34	100.84	100.92	0.23	2			49.02	99.25	99.30	0.05
3			38.30	100.74			3			49.07	99.35		
4		24.96 (100)	51.67	102.32			4		27.04 (100)	62.72	99.70		
5			51.49	101.96	102.11	0.18	5			62.67	99.62	99.53	0.22
6			51.54	102.06			6			62.46	99.28		
7		49.92 (200)	75.71	100.33			7		54.08 (200)	89.71	99.73		
8			75.60	100.19	100.14	0.21	8			89.68	99.70	99.59	0.22
9			75.39	99.91			9			89.36	99.34		

注：RSD 为相对标准偏差

3.2 指纹图谱的建立:中药指纹图谱是目前国内外广泛接受的中药质量评价模式^[15]。本研究考察了利胆合剂君臣组分供试品在波长 277 nm 的分离情况,建立了茵陈、连翘、熟大黄和利胆合剂君臣组分的 UPLC 指纹图谱。通过比较对照品、单味药材以及利胆合剂君臣组分的出峰位置,结果显示标定的 8 个主要活性物质共有峰均一致,表征了利胆合剂君臣组分中化学成分的多样性及稳定性。同时,本研究结果也表明,利胆合剂君臣组分颗粒剂质量稳定,不同批次间差异较小,该方法能对利胆合剂颗粒剂进行有效的质量评价。

3.3 主要活性物质的选择:根据 2015 年版《中国药典》,本研究利胆合剂君臣组分中,君药茵陈质控的指标成分为绿原酸;臣药连翘质控的指标成分为连翘苷和连翘酯苷 A;臣药熟大黄质控的指标成分为游离蒽醌类物质(包括芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 5 种成分)。现代药理学研究表明,绿原酸具有抗炎、抗氧化应激、保肝等作用^[16-18];连翘苷和连翘酯苷 A 具有抗菌、抗炎、抗氧化、保肝等药理作用^[19-22];游离蒽醌类物质具有抗菌、抗炎、抗氧化应激等药理作用^[23-26]。选择的 8 种成分均与肝细胞损伤的病理过程有密切关系,故作为利胆合剂君臣组分的主要活性物质进行鉴定,科学评价利胆合剂的内在质量。

综上,本研究建立利胆合剂君臣组分的 UPLC 指纹图谱及其主要活性物质的鉴定方法,表征了利胆合剂整体与部分的差异,为利胆合剂组方的成药制剂开发及药物机制研究提供实验依据,为中药复方制剂的质控提供了方法学借鉴。同时,本研究表明,利胆合剂君臣组分中的这 8 种主要活性物质与肝细胞损伤病理过程关系密切,为本课题组后续化学单体成分研究提供思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘艳,黄志华. 婴儿胆汁淤积性肝病的诊断与治疗[J]. 临床肝病杂志, 2015, 31 (8): 1218-1220. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2015.08.009.
- [2] Goldstein J, Levy C. Novel and emerging therapies for cholestatic liver diseases [J]. Liver Int, 2018, 38 (9): 1520-1535. DOI: 10.1111/liv.13880.
- [3] Gao LX, Wang L, Woo E, et al. Clinical management of primary biliary cholangitis—strategies and evolving trends [J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2020, 59 (2): 175-194. DOI: 10.1007/s12016-019-08772-7.
- [4] Lammers WJ, Kowdley KV, van Buuren HR. Predicting outcome in primary biliary cirrhosis [J]. Ann Hepatol, 2014, 13 (4): 316-326. DOI: 10.1016/S1665-2681(19)30838-5.
- [5] 鄢素琪,邓玉萍,汤建桥,等. 利胆合剂治疗婴儿巨细胞病毒感染胆汁淤积性肝病 120 例临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32 (12): 1632-1637. DOI: CNKI:SUN:ZZXJ.0.2012-12-018.
- [6] 鄢素琪,向海鹰,熊小丽,等. 婴儿胆汁淤积性肝病病证结合

模式临床运用举隅 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20 (2): 110-111. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2013.02.016.

- [7] 王芳,鄢素琪,邓玉萍,等. 利胆合剂对肝病综合征患儿的临床疗效及其对炎症因子的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32 (6): 520-522. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2016.06.013.
- [8] 张领领,鄢素琪,周姗姗,等. Citrin 缺陷导致新生儿肝内胆汁淤积症的临床特征及中药利胆合剂治疗效果观察 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2017, 24 (2): 133-136. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.02.006.
- [9] 张林利,鄢素琪,周姗姗,等. 利胆合剂全方君臣组分对幼龄大鼠肝内胆汁淤积量效关系的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34 (7): 3012-3016. DOI: CNKI:SUN:BXYY.0.2019-07-048.
- [10] 张林利,王筱雯,鄢素琪,等. 法尼醇 X 受体在胆汁淤积幼龄大鼠模型中的表达及利胆合剂的干预作用 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30 (8): 1833-1836. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2019.08.014.
- [11] Qin H, Zhang LL, Xiong XL, et al. Li-Dan-He-Ji improves infantile cholestasis hepatopathy through inhibiting calcium-sensing receptor-mediated hepatocyte apoptosis [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 156. DOI: 10.3389/fphar.2020.00156.
- [12] 刘莉,李文兰,丁晶鑫. 基于“谱-效”相关的中药药效物质基础研究方法 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25 (3): 410-415. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6880.2013.03.029.
- [13] 毕肖林,马世堂,狄留庆,等. 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. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.22.001.
- [14] 陈君,林朝展,付剑江,等. 2013 年国家自然科学基金“中药药效物质”研究方向项目申请与资助情况述评 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16 (2): 211-215. DOI: 10.11842/wst.2014.02.001.
- [15] 张小艺,刘久石,高石曼,等. 中药谱效关系的研究方法及应用进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44 (20): 4405-4411. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20190429.201.
- [16] Shin HS, Satsu H, Bae MJ, et al. Anti-inflammatory effect of chlorogenic acid on the IL-8 production in Caco-2 cells and the dextran sulphate sodium-induced colitis symptoms in C57BL/6 mice [J]. Food Chem, 2015, 168: 167-175. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.06.100.
- [17] Budryn G, Zaczynska D, Żyżelewicz D, et al. Influence of the form of administration of chlorogenic acids on oxidative stress induced by high fat diet in rats [J]. Plant Foods Hum Nutr, 2017, 72 (2): 184-191. DOI: 10.1007/s11130-017-0608-3.
- [18] Shi AM, Shi HT, Wang Y, et al. Activation of Nrf2 pathway and inhibition of NLRP3 inflammasome activation contribute to the protective effect of chlorogenic acid on acute liver injury [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 54: 125-130. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.11.007.
- [19] Qu JL, Yan XJ, Li CY, et al. Comparative evaluation of raw and ripe fruits of *Forsythia suspensa* by HPLC-ESI-MS/MS analysis and anti-microbial assay [J]. J Chromatogr Sci, 2017, 55 (4): 451-458. DOI: 10.1093/chromsci/bmw203.
- [20] Xiang KL, Liu RX, Zhao L, et al. Labdane diterpenoids from *Forsythia suspensa* with anti-inflammatory and anti-viral activities [J]. Phytochemistry, 2020, 173: 112298. DOI: 10.1016/j.phytochem.2020.112298.
- [21] Shao SY, Yang YN, Feng ZM, et al. New iridoid glycosides from the fruits of *Forsythia suspensa* and their hepatoprotective activities [J]. Bioorg Chem, 2017, 75: 303-309. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.10.006.
- [22] Wang ZY, Xia Q, Liu X, et al. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 210: 318-339. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.040.
- [23] Friedman M, Xu A, Lee R, et al. The inhibitory activity of anthraquinones against pathogenic protozoa, bacteria, and fungi and the relationship to structure [J]. Molecules, 2020, 25 (13): 3101. DOI: 10.3390/molecules25133101.
- [24] 祁蕾,苑博,傅强. 缺氧/再复氧与脂多糖激活肠上皮细胞核转录因子- κ B 和低氧诱导因子-1 α 信号通路以及大黄素对其的干预作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (6): 409-414. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.009.
- [25] Lee EH, Baek SY, Park JY, et al. Emodin in Rheum undulatum inhibits oxidative stress in the liver via AMPK with Hippo/Yap signalling pathway [J]. Pharm Biol, 2020, 58 (1): 333-341. DOI: 10.1080/13880209.2020.1750658.
- [26] 王亦君,冯舒涵,程锦堂,等. 大黄蒽醌类化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24 (13): 227-234. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20181020.

(收稿日期: 2021-03-29)