

基于谱-效相关分析的吴茱萸止呕药效物质的初步研究

陈洋¹, 梁健², 董伟¹, 李斐¹, 董嘉皓¹, 曹岚², 袁金斌^{1*}

(江西中医药大学 1. 现代中药制剂教育部重点实验室, 2. 中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004)

摘要: 本文基于谱-效相关分析方法, 对吴茱萸止呕活性成分进行全面筛选, 以进一步明确吴茱萸止呕药效物质基础。研究采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱 (UHPLC-Q-TOF/MS) 技术建立吴茱萸提取物的指纹谱; 以灌服硫酸铜致家鸽呕吐为模型研究其止呕作用, 采用正交偏最小二乘法 (orthogonal partial least squares, OPLS) 建立其谱-效关系, 并对主要活性成分进行解析。谱-效分析结果显示: 芦丁 (rutin)、柠檬苦素 (limonin)、金丝桃苷 (hyperoside)、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷 (narcissoside)、柯伊利素-7-*O*-芸香糖苷 (chrysoeriol-7-*O*-rutinoside)、异鼠李素-3-*O*- β -D-半乳糖苷 (isorhamnetin-3-*O*- β -D-galactoside)、1-甲基-2-正十一烷基-4(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-undecyl-4(1*H*)-quinolone)、1-甲基-2-[(*Z*)-4-壬烯基]-4(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-[(*Z*)-4-nonenyl]-4(1*H*)-quinolone) 可能为吴茱萸止呕作用的主要成分。该研究能为今后吴茱萸药材的合理利用提供实验依据, 同时为中药药效物质的基础研究提供方法和思路。

关键词: 吴茱萸; 止呕; UHPLC-Q-TOF/MS; 正交偏最小二乘法; 谱-效关系

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 11-1737-06

Preliminary study of antiemetic components in *Euodia rutaecarpa* based on spectrum-effect correlation analysis

CHEN Yang¹, LIANG Jian², DONG Wei¹, LI Fei¹, DONG Jia-hao¹, CAO Lan², YUAN Jin-bin^{1*}

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, 2. Research Center for the Resourcing of Traditional Chinese Medicine and Minority Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: This study was designed to screen the antiemetic components of *Euodia rutaecarpa*, and elucidate its material basis on the spectrum-effect correlation analysis. The UHPLC-Q-TOF/MS (UHPLC-quadrupole time-of-flight mass spectrometry) technology was used to obtain the fingerprint of *Euodia rutaecarpa* extracts. The perfusion of copper sulfate was used as a model to study the antiemetic effect by vomiting. The orthogonal partial least squares (OPLS) method was used to analyze the spectrum-effect relationship. The results indicated the following compounds were the potential antiemetic components such as rutin, limonin, narcissoside, chrysoeriol-7-*O*-rutinoside, hyperoside, isorhamnetin-3-*O*- β -D-galactoside, 1-methyl-2-undecyl-4(1*H*)-quinolone, 1-methyl-2-[(*Z*)-4-nonenyl]-4(1*H*)-quinolone. This study provides the experimental basis in use of *Euodia rutaecarpa* in the future, and provides the research methods and ideas for the similar study on the pharmacodynamic material basis of traditional Chinese medicine.

Key words: *Euodia rutaecarpa*; antiemetic effect; UHPLC-Q-TOF/MS; orthogonal partial least squares; spectrum-effect relationship

收稿日期: 2017-06-07; 修回日期: 2017-07-18.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81560648).

*通讯作者 Tel: 86-791-87118658, E-mail: kings2008@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0546

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 [*Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.]、石虎 [*E. rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang] 或疏毛吴茱萸 [*Euodia. rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinier* (Dode) Huang] 的干燥近成熟果实^[1]，主要含有生物碱、柠檬苦素、萜类、黄酮、香豆精、甾体、挥发油、木脂素、多糖等化学成分^[2, 3]。吴茱萸具有明确的镇痛止呕功效，常用于眩晕、头痛、肋痛、呕吐、腹泻、痛经、脑震荡后遗症等多种疾病的治疗。目前，对吴茱萸药理作用研究大多集中在其镇痛、抗炎、保护心脏、降血压等方面^[4, 5]，有关吴茱萸止呕作用研究则相对较少。已有研究表明，吴茱萸 50% 醇洗脱液、70% 醇洗脱液、生物碱组分和水煎液具有止呕作用^[6, 7]，但吴茱萸具体的止呕成分尚不清楚。基于此，有必要对吴茱萸止呕药效物质基础做进一步研究。

近年来，谱-效关系已广泛应用于中药物质基础的研究^[8, 9]和质量控制^[10, 11]等领域。谱-效关系是通过指纹图谱和药效作用进行分析，进而阐明指纹图谱特征与药效的相互关系，确定相应的药效物质基础^[12]。构建中药谱-效关系需借助复杂系统建模的方法，正交偏最小二乘法 (OPLS) 是一种改进的偏最小二乘法，能有效去除预测矩阵中与因变量 Y 无关的信息，改善模型的解释性和真实性^[12]，能够较为准确地给出色谱峰与药效的相关性以及贡献大小，从而找出发挥药效的活性物质。

本文首先建立了吴茱萸药材的超高效液相色谱-质谱联用 (UHPLC-MS) 指纹图谱，然后采用经典的呕吐研究方法—灌服硫酸铜致家鸽呕吐来研究吴茱萸不同部位的止呕效应，最后以正交偏最小二乘 (OPLS) 法进行谱-效分析，初步探索吴茱萸发挥呕吐作用的主要药效成分，为进一步明确吴茱萸止呕作用的物质基础提供实验依据。

材料与方法

实验动物 健康家鸽 170 只，体重 (350 ± 50) g，雌雄各半，由南昌市湾里区市售。

药物与试剂 吴茱萸药材采集于江西新干县淦川镇，经江西中医药大学曹岚副教授鉴定为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实。盐酸昂丹司琼 (福安药业集团宁波天衡制药有限公司，批号: 160101011); 硫酸铜 (天津市福晨化学试剂厂); 石油醚 (60~90 °C)、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇均为分析醇 (西陇化工股份有限公司); 色谱纯甲醇、乙腈 (TEDIA 公司, 美国); 水为超纯水。

仪器 Nexera X2 高效液相色谱仪 (岛津公司, 日本), 包括 DGU-20A5R 脱气器, SIL-30AC 自动进样器, SPD-M20A 二极管阵列检测器, CTO-30A 柱温箱, LC-30AD 二元泵; AB SCIEX Triple TOF 5600 质谱仪 (AB SCIEX, 美国); 数据采集软件: Analyst TF 1.6 software (AB SCIEX, 美国); 数据处理软件: Marker View 1.2.1/PeakView 2.0 software (AB SCIEX, 美国); SIMCA-P+14.1 (MKS Umetrics, Umea, 瑞典); 电子分析天平 (AE-240, 北京赛多利斯仪器有限公司, 中国)。

药材样品制备 采用醇水双提法以使吴茱萸提取完全。精密称取吴茱萸药材 2.5 kg, 加入 8 倍量 75% 乙醇, 回流提取 2 次, 时间分别为 1.5、1.0 h, 合并滤液得醇提液。药渣加入 10 倍量水煎煮 2 次, 时间分别为 1.0、0.5 h, 合并滤液得水提液。醇提液减压回收乙醇至无醇味, 与水提液合并, 浓缩得到药液浸膏, 加水稀释浸膏, 依次用石油醚 (60~90 °C)、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇和水萃取, 重复 3~5 次, 合并, 得到 5 个不同提取部位的浸出物, 分别挥干有机溶剂, 冷冻干燥, 得石油醚萃取物、氯仿萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物及水相部分浸膏, 密封置冰箱中冷藏, 临用前加入 5% 聚山梨酯-80 助溶配成一定浓度的溶液即得吴茱萸不同提取部位的供试液, 以备不同提取部位的药效实验用。

分析溶液的制备 精密称取浸膏 1.0 g, 以甲醇定容至 25.0 mL, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液, 以备建立不同提取部位 UHPLC 指纹图谱用。

色谱条件 采用 ZORBAX Eclipse plus C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm); 流动相: A: 0.2% 甲酸水, B: 0.2% 甲酸乙腈; 流速: 0.3 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C, 进样量: 2.0 μL。进样梯度如下: 0~20 min, 5% B→62% B; 20~40 min, 62% B→95% B; 40~42 min, 95% B→5% B; 42~45 min, 5% B。

质谱条件 离子源: 电子喷雾离子源 (ESI); 离子化方式: 正离子扫描; TOF-MS 质量扫描范围 (m/z): 100~2000 Da; TOF-MS/MS 质量扫描范围 (m/z) 50~2000 Da; GS1: 60 psi (1 psi ≈ 6.9 kPa); GS2: 60 psi; 气帘气压力 (CUR): 35 psi; 离子源温度 (TEM): 500 °C; 离子喷雾电压 (ISVF): 5000 V; 去簇电压 (DP): 100 V, 母离子碰撞能量 (CE): 10 V, 子离子碰撞能量 (CE): 35 V, 子离子碰撞能量差 (CES): 15 V。

动物实验^[6] 健康家鸽 170 只, 雌雄各半, 按性别、体重随机分为 17 组, 每组 10 只, 编号。即正常组、盐酸昂丹司琼组、石油醚部位、氯仿部位、乙酸

乙酯部位、正丁醇部位及水部位的高、中、低剂量组,以吴茱萸临床常用剂量为依据,按成人(60 kg)处方日用量(10 g)的临床等效量的1、2、4倍设计,设定高、中、低剂量分别为1.40、0.70和0.35 g·kg⁻¹,阳性药组2 mg·kg⁻¹,给药组按10 mL·kg⁻¹每天灌服样品一次,对照组给予等量蒸馏水,连续给药7天。末次给药1 h后,每鸽灌服3%硫酸铜溶液10 mL·kg⁻¹。完毕立即观察并记录各鸽出现第1次呕吐的时间(呕吐潜伏期)和给硫酸铜后1 h内呕吐的次数(呕吐频率)。

统计学方法 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 17.0统计软件对各组参数进行单因素方差分析,进行组间比较, $P < 0.05$ 为数据统计有显著性差异。

质谱数据处理 将采集到的原始质谱数据利用MarkerView 1.2.1软件进行峰提取、峰匹配、峰对齐、峰识别以及归一化等预处理,导出由样品名称、保留时间、质荷比、以及对应的离子强度组成的数据集。

多元统计分析 将导出的质谱数据和药效数据导入SIMCA-P软件中,采用自适换算(Unit Variance Scaling)进行标准化。通过变量权重重要性排序(variable importance in the projection, VIP)值筛选贡献大的药效成分。

结果

1 UHPLC 指纹图谱的建立

经过色谱条件和质谱条件的优化,选择正离子模式下,取供试品溶液进行分析,建立吴茱萸不同提取部位的UHPLC-MS指纹图谱,见图1。

2 吴茱萸不同提取部位对硫酸铜诱导家鸽呕吐的影响

与模型组比较,盐酸昂丹司琼阳性药组能显著地延长家鸽呕吐潜伏周期,呈现显著性差异,显示出较好的止呕效果。实验组除乙酸乙酯部位外,吴茱萸不同提取部位各剂量组均能减少家鸽的呕吐次数($P < 0.05$, $P < 0.01$),5个不同提取部位对家鸽止呕作用大小为:水部位>氯仿部位>正丁醇部位>石油醚部位>乙酸乙酯部位,说明水部位止呕效果最好,见表1。

3 谱-效关系分析

对由色谱峰变量(X)和药效数据变量(Y)构成的矩阵采用SIMCA软件进行OPLS分析,结果见图2。

图2A为Score Scatter Plot,5个不同提取部位分布在不同的区域。 X 轴由左至右,呕吐次数从小变大,即止呕作用由大变小。从图中可以观察到:从左至右依次为水部位、氯仿部位、正丁醇部位、石油醚部位、

乙酸乙酯部位,表明不同部位提取物对家鸽止呕作用存在差异,且水部位止呕作用效果最好。

图2B (loading scatter plot)表征了所有 X 变量对于 Y 变量的影响作用。在本研究中,揭示的是各色谱峰所代表的化合物如何影响呕吐次数的大小。在

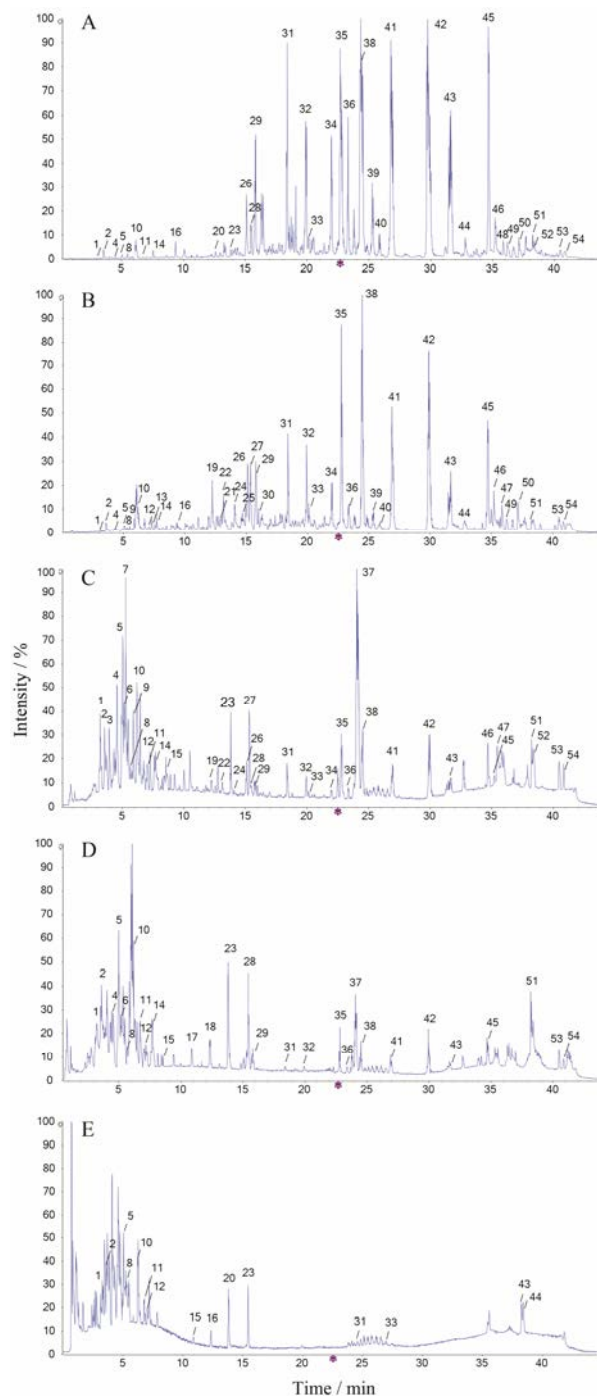


Figure 1 UHPLC fingerprints of different fractions of *Euodiae Fructus*. About 54 chromatographic peaks were numbered by Arabic numerals from 1 to 54. These peaks were used for the subsequent spectrum-effect analysis, and their numbers are consistent. A: Petroleum ether Fr (fraction); B: Chloroform Fr; C: Ethyl acetate Fr; D: *n*-Butanol Fr; E: Water Fr

Table 1 The influence of different fraction of *Euodiae Fructus* on pigeon vomiting induced by copper sulfate. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

Group	Dosage /g·kg ⁻¹	Frequency of vomiting in 1 h	Vomiting latency/min
Control	—	5.5 ± 2.6	16.3 ± 12.9
Ondansetron hydrochloride	2×10 ⁻³	1.4 ± 1.2**	54.1 ± 13.7**
Petroleum ether fraction	1.40	1.8 ± 1.0**	45.4 ± 16.7**
	0.70	2.1 ± 1.4**	42.1 ± 21.4**
	0.35	2.3 ± 1.2**	36.4 ± 24.1**
Chloroform fraction	1.40	1.3 ± 1.2**	40.9 ± 19.2**
	0.70	1.6 ± 1.3**	39.0 ± 20.2**
	0.35	2.3 ± 1.6**	38.1 ± 22.3**
Ethyl acetate fraction	1.40	3.9 ± 3.2	27.3 ± 21.5
	0.70	4.5 ± 2.2	22.9 ± 18.8
	0.35	4.6 ± 2.8	21.4 ± 14.9
<i>n</i> -butanol fraction	1.40	1.5 ± 1.8**	45.9 ± 21.4**
	0.70	2.0 ± 1.5**	39.4 ± 20.5**
	0.35	2.9 ± 2.1**	37.5 ± 20.3**
Water fraction	1.40	1.1 ± 1.0**	47.1 ± 17.9**
	0.70	2.0 ± 1.9**	45.8 ± 18.6**
	0.35	3.1 ± 2.2*	42.9 ± 17.4**

Loading Scatter Plot 上, 若 X 变量与 Y 变量在相同象限, 则该部分 X 变量与 Y 变量成正相关; 若 X 变量与 Y 变量在相对象限, 则成负相关。同时, X 变量的分布

位置离原点越远, 则相关性越大。基于此, 可以初步选取和呕吐次数大小成正相关的数 10 个变量。

图 2C (coefficient pverview plot) 直观展示了高、中、低 3 个剂量组中各化合物对呕吐次数的影响, 其柱高代表的是相关系数, 相关系数越大, 影响越大。分布在 X 轴的上方的化合物是正影响 (正相关); 位于 X 轴下方的化合物为负影响 (负相关)。

图 2D 为 VIP 值图, VIP 值是 OPLS 中评价变量贡献大小最常用的方法, 一般认为 $VIP > 1$ 的 X 变量对于 Y 变量的影响是显著性的, 因此具有统计学意义。图中所有 $VIP > 1$ 的色谱峰中, 7、22 以及 37 号色谱峰对止呕药效的贡献最为显著, 其次为 35、4、3、47、6、8、9 和 5 号色谱峰。除 17、18 号色谱峰与止呕活性呈负相关外, 其余色谱峰对止呕活性影响均为正相关, 这些呈正相关的变量能够较为明显地减少呕吐次数, 其表征的化学成分很有可能是吴茱萸的止呕成分。

4 吴茱萸止呕作用活性化合物的鉴定

基于先前的 UHPLC-Q-TOF-MS 分析方法^[13], 对吴茱萸提取物中的化学成分进行了结构解析, 鉴定了吴茱萸提取物中 47 个主要化学成分 (另文发表)。

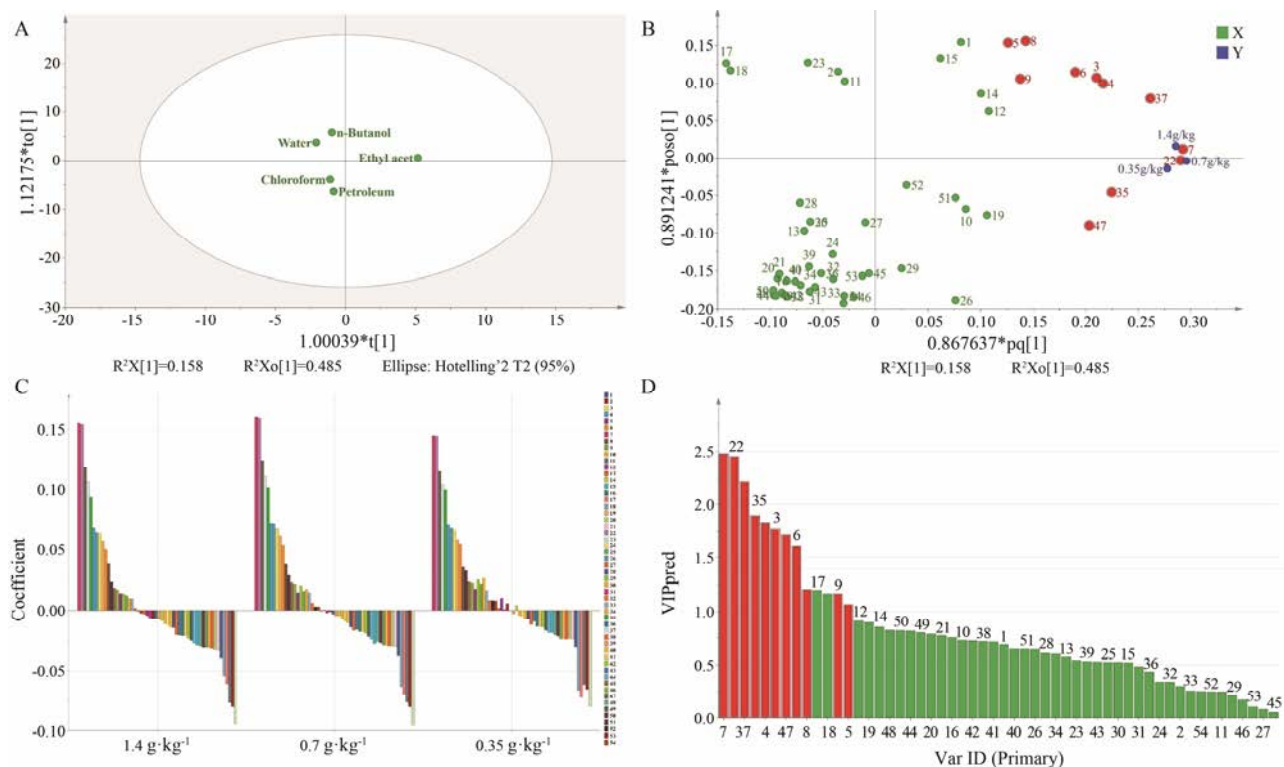


Figure 2 OPLS results of the five *Euodiae Fructus* fractions on pigeon vomiting induced by copper sulfate. A: Score scatter plot of different fractures; B: Loading scatter plot of the variants (compounds corresponding to the chromatography peaks. Blue dots, the Y variants; red dots, significant X variants; and green dots, insignificant X variants); C: Coefficient overview plot of different compounds in three doses (the compounds are marked in the right bar with the same colors); D: VIP values of different compounds

Table 2 MS/MS data from (+/-) ESI-MS of antiemetic active compounds in ER

Peak No.	Name	RT/min	Formula	Ion mode	Mass to charge (m/z)	Error (ppm)	Produce ions (m/z)
3	Unknown	3.94	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	391.036 6	-1.1	373.031 4; 215.029 0
4	Hyperoside	4.57	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	465.022 0	-3.32	303.007 2; 285.001 5
5	Narcissoside	5.02	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	[M+H] ⁺	625.060 0	0.85	625.102 2; 317.020 0
6	Chrysoeriol-7- <i>O</i> -rutinoside	5.16	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	[M+H] ⁺	609.068 9	0.31	463.048 3; 301.028 5
7	Isorhamnetin-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactoside	5.28	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	[M+H] ⁺	479.033 5	-1.16	317.019 0; 302.000 1
8	Rutin	5.50	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	611.083 5	0.24	465.045 7; 303.043 7
9	Unknown	5.86	C ₃₅ H ₃₄ N ₂ O ₄	[M+H] ⁺	547.258 6	-4.50	502.213 6; 114.123 8
22	Limonin	13.14	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	[M+H] ⁺	471.126 3	-2.03	453.112 3; 425.125 2; 339.144 5; 161.044 5
35	1-Methyl-2-undecyl-4(1 <i>H</i>)-quinolone	22.80	C ₂₁ H ₃₁ NO	[M+H] ⁺	314.198 5	0.63	186.070 1; 173.064 3; 144.068 1; 132.048 2
37	Unknown	24.10	C ₁₉ H ₁₂ N ₂ O	[M+H] ⁺	301.096 2	-3.55	149.010 3
47	1-Methyl-2-[(<i>Z</i>)-4-nonenyl]-4(1 <i>H</i>)-quinolone	35.46	C ₁₉ H ₂₆ NO	[M+H] ⁺	284.257 0	-2.31	284.256 5; 200.174 5; 186.164 4

与本文相关的化合物的 Q-TOF/MS 数据及鉴定结果见表 2, 共鉴定了 11 个止呕活性成分, 3 个化合物尚需进一步确证。

讨论

本研究建立了吴茱萸不同提取部位的 UHPLC-MS 指纹图谱, 采用的超高压液相色谱-质谱联用 (UHPLC-MS) 技术能够快速、准确的指认出特征峰所表征的化学成分。

止呕实验结果表明, 与对照组比较, 吴茱萸不同部位提取物除乙酸乙酯部位外, 均具有止呕作用, 能显著减少家鸽的呕吐次数 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 各部位高剂量组止呕效应最为突出, 强于中、低剂量组, 随着给药剂量的增加, 家鸽呕吐的次数逐渐减少, 呕吐潜伏期逐渐延长, 呈现一定的剂量依赖关系。不同提取部位对家鸽止呕作用强度为: 水部位 > 氯仿部位 > 正丁醇部位 > 石油醚部位, 说明水部位止呕作用最强, 极性大的组分止呕效果最好, 与文献结果^[6, 7]基本一致。

本研究采用 OPLS 方法, 使用 SIMCA 软件分析, 使用散点图、得分图等可以使分析结果图形化, 从而更直观准确地筛选出吴茱萸止呕活性物质。OPLS 结果显示, 色谱峰变量 (X) 对药效数据变量 (Y) 呈现正相关和负相关。正相关表明色谱峰变量 (X) 表征的化合物能显著减少呕吐次数, 具有明显得止呕效果, 其可能为吴茱萸止呕活性成分; 负相关则表示色谱峰变量 (X) 无止呕效应。在止呕实验中, 11 个色谱峰与镇痛的药效作用呈正相关, 其中 7、22、37 号色谱峰对止呕的药效作用有显著贡献, 这些与止呕药

效作用呈正相关的色谱峰表征的化合物很有可能是吴茱萸的止呕成分。此外, 研究还发现 17 号色谱峰和 18 号色谱峰与止呕的药效作用呈负相关, 能显著增加呕吐次数, 推测其表征的化合物可能为催吐成分, 尚需进一步研究。

基于谱-效相关分析方法, 本研究初步筛选出了 11 个物质, 包括芦丁 (rutin)、柠檬苦素 (limonin)、金丝桃苷 (hyperoside)、异鼠李素-3-*O*-芸香糖苷 (narcissoside)、柯伊利素-7-*O*-芸香糖苷 (chrysoeriol-7-*O*-rutinoside)、异鼠李素-3-*O*- β -*D*-半乳糖苷 (isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-galactoside)、1-甲基-2-正十一烷基-4(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-undecyl-4(1*H*)-quinolone)、1-甲基-2-[(*Z*)-4-壬烯基]-4(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-[(*Z*)-4-nonenyl]-4(1*H*)-quinolone) 等。大部分化合物为生物碱类化合物, 这与文献[7]的结果基本吻合, 表明生物碱可能是吴茱萸主要止呕活性成分。此外, 本研究还筛选到了 5 个黄酮类化合物 (芦丁、金丝桃苷等), 且这些成分在吴茱萸水溶液中含量相对较高^[5], 说明这些水溶性成分与吴茱萸的止呕药理活性相关, 可能也是吴茱萸止呕活性成分。

本研究初步探讨了吴茱萸指纹图谱与药效之间的关系, 为研究吴茱萸止呕物质基础提供更全面、可靠的实验依据, 同时为吴茱萸的质量控制和临床使用提供科学依据。

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Part 1. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 171.

- [2] Wang YX, Gong MX, Wang ZM, et al. A review of studies on chemical constituents of *Evodia rutaecarpa* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2010, 45: 641–646.
- [3] Xia MW, Pan ZH, Cheng L, et al. Chemical constituents of fruits from *Evodia delavayi* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2016, 51: 694–697.
- [4] Cai QY, Wei JJ, Li WR, et al. Comparison of analgesic effect and active ingredient content of *Evodia Fructus* extracts [J]. Tradit Chin Drug Res Pharmacol (中药新药与临床药理), 2014, 25: 179–182.
- [5] Gong MX, Wang ZM, Zhang QW, et al. Advances in pharmacological studies of *Evodia rutaecarpa* active constituents [J]. Tradit Chin Drug Res Pharmacol (中药新药与临床药理), 2009, 20: 183–187.
- [6] Zhang T, Wang MW, Chen SW. Anti-emetic effect of ethanol extract from “Wuzhuyu Broth” [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2002, 27: 862–866.
- [7] Yang ZX, Meng YH, Wang QH, et al. Pharmacological evaluation of chemical and pharmacological components of *Evodia rutaecarpa* [J]. Acta Chin Med Pharmacol (中医学报), 2011, 39: 13–16.
- [8] Hong Y, Liu XH, Chen YL, et al. Multi-index integrated evaluation of spectrum-effect relationship on immunocompetence of *Radix Astragali* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 785–789.
- [9] Fan JX, Wang X, Meng XX, et al. Study of cancer cell apoptosis induced by *Schizonepeta tenuifolia* with microfluidic chip technology [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 126–131.
- [10] Liu ZJ, Shi ZL, Tu C, et al. An activity-calibrated chemical standardization approach for quality evaluation of *Salvia miltiorrhiza* Bge [J]. RSC Adv, 2017, 7: 5331–5339.
- [11] Zhang HZ, Tan P, Liu ZJ, et al. Activating blood biological potency assay and chemical fingerprint chromatogram applied to quality evaluation of rhubarb [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 436–442.
- [12] Qin KM, Zheng LJ, Shen BJ, et al. Application of spectrum-effect relationship in Chinese medicine research and related thinking [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2013, 38: 26–31.
- [13] Yuan JB, Chen Y, Liang J, et al. Component analysis and target cell-based neuroactivity screening of *Panax ginseng* by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2016, 1038: 1–11.