

不同产地穿心莲的含量测定、化学指纹图谱及抑菌活性评价

王艳辉^{1,2}, 王伽伯^{2*}, 郝庆秀³, 张雅铭², 赵艳玲², 格小光³, 郭兰萍³, 黄璐琦³, 肖小河²
(1. 湖南中医药大学, 湖南 410007; 2. 解放军 302 医院全军中药研究所, 北京 100039;
3. 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700)

[摘要] 目的:从化学和生物两方面综合考察不同产地穿心莲药材品质差异。方法:采用微量量热法比较 13 批不同产地穿心莲药材的痢疾杆菌生物活性。同时建立穿心莲的 UPLC 指纹图谱,采用偏最小二乘法(PLS)回归分析抑菌活性与化学成分之间的相关性。结果:13 批不同产地的穿心莲药材使痢疾杆菌生长代谢的时间延长,生长速率常数减小,表明不同产地穿心莲对痢疾杆菌的生长代谢均有不同程度的抑制作用,且以西双版纳产地的穿心莲药材抑菌效果最好。此外,通过偏最小二乘法回归分析找到了四个与抑菌活性密切相关的化学成分。结论:不同产地穿心莲药材质量差异较大,云南、海南、广西和四川综合质量较好。生物活性测定结合化学指纹图谱评价药材质量的方法,可准确、可靠地评价不同产地穿心莲药材的质量,为其质量控制提供依据。

[关键词] 穿心莲;微量量热法;痢疾杆菌;化学指纹图谱;穿心莲内酯;脱水穿心莲内酯
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)09-0077-06
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014090077
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000065.html>
[网络出版时间] 2014-02-25 13:47

Evaluation of Chemical Contents, Fingerprint and Antimicrobial Activity of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees Harvested in Different Regions

WANG Yan-hui^{1,2}, WANG Jia-bo^{2*}, HAO Qing-xiu³, ZHANG Ya-ming², ZHAO Yan-ling²,
GE Xiao-guang³, GUO Lan-ping³, HUANG Lu-qi³, XIAO Xiao-he²
(1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Hunan 410007, China;
2. China Military Institute of Chinese Materia Medica, 302 Military Hospital, Beijing 100039, China;
3. National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of
Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of the study was to evaluate the quality of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees harvested in different regions of China. **Method:** The inhibitory effects of *A. paniculata* on *Shigella dysenteriae* growth were investigated by microcalorimetry. UPLC fingerprints of the *A. paniculata* samples were acquired and then analyzed the correlation with the antimicrobial activity by partial least squares (PLS) analysis. **Result:** Compared with the control group, all *A. paniculata* samples from different regions showed inhibitory effects to *S. dysenteriae* with extending of growth time and decrease of metabolism. And the samples from Yunnan Xishuangbanna had stronger antimicrobial effects than others. According to PLS analysis, there were four chemical contents correlative to the activity of antimicrobial effect. **Conclusion:** The harvest region had significant influence to the quality of *A. paniculata* and Yunnan, Hainan, Sichuang and Guangxi were the good harvest

[收稿日期] 20131006(001)
[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI29B02);国家公益性行业科研专项(201207002);中央本级课题(20603020101)
[第一作者] 王艳辉,硕士研究生,从事中药品质评价与质量控制研究,Tel/Fax:010-66933325,E-mail:huihui0152@163.com
[通讯作者] *王伽伯,助理研究员,从事中药药性与品质评价研究,Tel/Fax:010-66933325,E-mail:wjb0128@126.com

regions. The combined evaluation of biological activity and chemical fingerprint provides ability to integrally evaluate the quality of *A. paniculata*.

[**Key words**] *Andrographis paniculata*; microcalorimetry; *Shigella dysenteriae*; chemical fingerprint; andrographolide; dehydroandrographolide

穿心莲为爵床科一年生草本植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的干燥地上部分,原产于印度、斯里兰卡、泰国、越南等国,我国于 20 世纪 50 年代引种栽培,主要分布于广东、广西、海南、云南等地^[1-2]。穿心莲功效清热解毒、凉血、消肿,在临床上主要用于治疗呼吸道感染、急性菌痢、肠胃炎等疾病^[3-5],还具有防治心血管疾病、抗肿瘤、保肝利胆、免疫调节等多重功效^[6-8]。国内外学者对穿心莲的药理作用及化学成分已进行了深入的研究,然而该药在我国引种 60 余年来,其资源分布和种植情况尚缺少系统研究。为此,在第四次全国中药资源普查中^[9-11],将穿心莲作为重要品种调查研究,以期了解该药的药材质量情况,明确该药的生长适宜环境,为更好地发展和利用该药提供基础数据。

穿心莲的主要药用部位为地上部分,其中二萜内酯类成分穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯是穿心莲的主要活性成分和质量控制指标^[12]。为此,本文针对全国资源普查采集的标本,采用生物活性评价方法^[13-15]检测不同产地采集穿心莲的抑菌活性差异,测定指标成分含量和化学指纹图谱,综合评价不同产地采集穿心莲药材的品质,探讨优质药材适宜产地;结合“谱-效”^[16-17]相关研究初步探讨穿心莲抑菌活性的主要药效物质,为后续穿心莲品质评价提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters Acquity UPLC 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), Waters BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm),Mettler Toledo AL204 型微量分析天平, Thermometric 3114 TAM Air Isothermal Calorimeter 微量量热仪(Thermometric AB, Sweden), THZ-22 型台式恒温振荡器, SW-CJ-2F 型双人单面净化工作台, Milli-Q 型超纯水处理系统(美国 Millipore)。

1.2 试药 痢疾杆菌(*Shigella dysenteriae*, CMCC B 51252),由中国药品和生物制品检定所提供。Luria broth (LB) 液体培养基:取 5 g NaCl、5 g 酵母膏、10 g 蛋白胨,溶解于 1 000 mL 去离子水中,调 pH 7.0~7.2 后分装,121 ℃ 高压蒸气灭菌 30 min,冷却后置 4 ℃ 冰箱,备用。

甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司),其他试剂均为分析纯,水为去离子水。穿心莲内酯对照品(批号 110797-201108)购自于中国药品生物制品检定所,脱水穿心莲内酯对照品(批号 134418-28-3)购自于成都曼斯特生物科技有限公司,穿心莲药材由中国中医科学院中药研究所郝庆秀副研究员采集,经中国人民解放军第三〇二医院全军中医药研究所肖小河研究员鉴定均为爵床科植物穿心莲 *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees 的全草或叶,见表 1。

表 1 收集的穿心莲药材来源及其内酯成分含量 %

No.	来源	采集(或购买)地	部位	穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯
1	西双版纳	云南昆明菊花药市	地上部分	0.52	1.83
2	海南洋浦	海南洋浦开发区咸塘社区千年古盐田	地上部分	0.44	2.31
3	四川广元	四川成都荷花池药市	地上部分	0.48	1.03
4	广西贵港	广西南宁贵港神农药业	地上部分	0.32	1.08
5	广西贵港	海南海口药店	地上部分	0.35	1.60
6	广西贵港	安徽亳州药市	地上部分	0.28	0.85
7	安徽临泉	安徽亳州药市	叶	0.32	0.94
8	广西贵港	安徽亳州药市	茎	0.16	1.40
9	广西贵港	广西横县校椅镇校椅村	地上部分	0.31	3.34
10	广西贵港	广西贵港市桥圩镇桥圩村	地上部分	0.34	1.25
11	安徽临泉	安徽亳州药市	茎	0.06	0.80
12	安徽临泉	安徽阜阳市临泉县牛庄乡	地上部分	0.26	2.52
13	安徽临泉	安徽阜阳市临泉县谭鹏乡	地上部分	0.29	2.42

2 方法

2.1 抑菌活性测定 称取不同产地穿心莲药材粗粉适量,10 倍量去离子水浸泡 30 min,回流提取 2 次(10 倍量水 2 h,8 倍量水 1.5 h),合并提取液,浓缩,真空减压干燥得干浸膏备用。分别取不同产地穿心莲干浸膏适量,以 LB 培养基为溶剂,配制成药液(相当于生药量 25 mg),0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌。

在无菌条件下,精密加入 5 mL 接种了痢疾杆菌的 LB 培养基至 20 mL 玻璃瓶中,接种量为 2×10^6 (CFU)/mL。再加入 5 mL 用 LB 培养基配制的各样品药液,加盖瓶塞,密封,放入微量量热仪中,跟踪记录痢疾杆菌生长代谢的热谱曲线。控温于 37 $^{\circ}\text{C}$,当曲线再次回归到基线时,结束实验。

2.2 穿心莲指纹图谱建立

2.2.1 色谱条件 Waters BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm,1.7 μm),柱温 25 $^{\circ}\text{C}$,流动相乙腈(A)-0.05% 磷酸水(B)梯度洗脱(0 min,10% A;4 min,17% A;7 min,27% A;14 min,32% A;18 min,80% A),流速 0.3 mL $\cdot$ min $^{-1}$,检测波长 250 nm,进样量 5 μL 。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品适量,分别置于 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇 10 mL 超声溶解,放冷,补加甲醇至刻度,摇匀,0.22 μm 滤膜过滤即得标准品溶液。

2.2.3 供试品溶液的配制 取 13 批不同产地穿心莲样品干浸膏适量,精密称定,分别置于 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇 10 mL,超声溶解,放冷,补加甲醇至刻度,摇匀,0.22 μm 滤膜过滤,配制成 10 g $\cdot$ L $^{-1}$ (以生药量计)的供试品溶液。

2.2.4 UPLC 指纹图谱的建立 分别取穿心莲供试品溶液、对照品溶液 5 μL ,注入超高效液相色谱仪,记录 18 min 内色谱图。

2.3 相关分析 采用 SIMCA-P + 12.0.1 统计软件进行偏最小二乘法(PLS)回归分析,通过比较各色谱峰的标准化回归系数的大小与正负分析指纹图谱色谱峰与抑制率的相互关系,VIP > 1 为有统计学意义^[18]。

3 结果

3.1 生物热活性检测

3.1.1 痢疾杆菌的生长代谢热谱曲线 图 2 是在恒温 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,痢疾杆菌在空白培养基中的生长代谢的热谱曲线。根据热谱曲线,痢疾杆菌的生长代谢过程可分为 4 个时期:第一指数生长期(A-B)、

停滞期(B-C)、第二指数生长期(C-D)和衰亡期(D-E)^[19-20]。通过热谱曲线,得到一个关于指数增长期的 $\ln P_t$ 与 t 的线性方程、第一、二指数生长速率常数 k_1, k_2 ,最大发热功率 P_1, P_2 ,达峰时间 t_1, t_2 及总的产热量 Q ^[21-22]。

$$P_t = P_0 \exp(kt) \text{ 或 } \ln P_t = \ln P_0 + kt \quad (1)$$

方程(1)中, P_0, P_t 分别是细菌在指数生长的起始点和 t 时的热功率。将图谱的两个指数生长期 P, t 值代入公式进行线性拟合,可得到痢疾杆菌的第一、第二指数生长期生长速率常数 k_1, k_2 值。

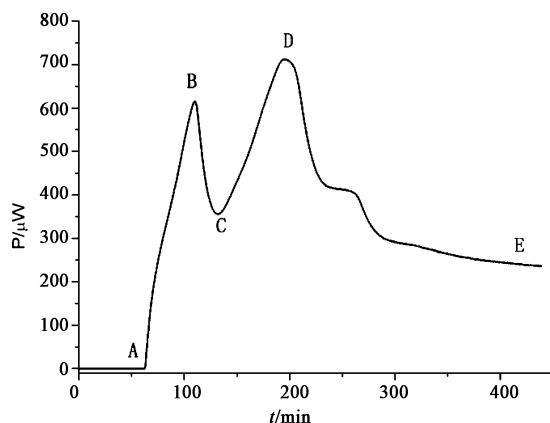


图 1 痢疾杆菌的生长代谢的热谱曲线(37 $^{\circ}\text{C}$)

3.1.2 穿心莲作用于痢疾杆菌的热谱曲线 在 37 $^{\circ}\text{C}$,采用安瓿法测定了痢疾杆菌生长代谢热谱曲线以及 3 g $\cdot$ L $^{-1}$ 不同产地穿心莲提取物作用下的生长代谢热谱曲线见图 2。从图中可以看出,13 批不同产地穿心莲药材细菌生长代谢两个最高峰的峰高及出峰时间明显发生了改变,并且其上升段的斜率也不同,表明细菌的生长代谢受到了影响,具体表现为达峰时间 t 的延长,生长速率常数 k 也降低,总产热量 Q 减小。体现在表 2,给药组与空白组比较,在不同产地穿心莲作用下痢疾杆菌生长代谢的 k_2, P_2 减小, t_2 增大,表明痢疾杆菌的生长受到抑制。

3.1.3 热力学参数的主成分分析 不同产地的穿心莲抑制痢疾杆菌作用的生物热动力学特征信息可由生物热活性参数($k_1, t_1, P_1, k_2, t_2, P_2, Q_1$)进行表征。为了判断影响生物热活性的主要因素,以穿心莲对痢疾杆菌作用的生物热活性的热力学参数作为因子进行主成分分析,各热动力学参数依次用 $X_1(k_1), X_2(k_2), X_3(t_1), X_4(P_1), X_5(t_2), X_6(P_2), X_7(Q_1)$ 表示,以 SPSS 13.0 统计分析软件进行主成分分析。

由相关矩阵的特征值可知,前两个主成分的贡献率分别为 59.276% 和 20.054%,累计贡献率为 79.33%。由特征向量得到前两个主成分的关系式:

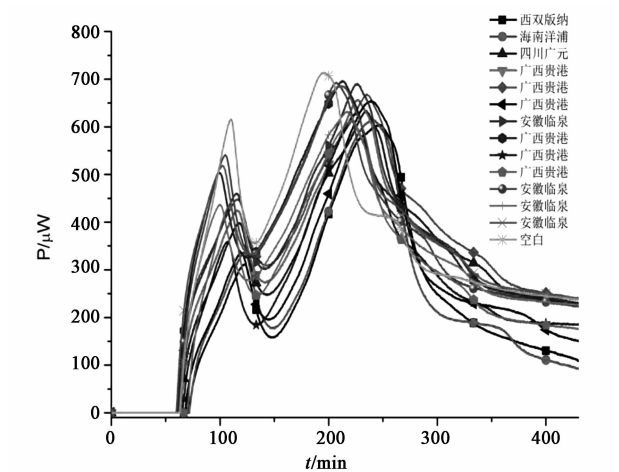


图 2 不同产地穿心莲作用于痢疾杆菌的热谱曲线

$$F_1 = 0.493X_1 + 0.026X_2 - 0.806X_3 + 0.905X_4 - 0.959X_5 + 0.867X_6 + 0.883X_7$$
$$F_2 = 0.592X_1 + 0.849X_2 - 0.017X_3 + 0.004X_4 - 0.191X_5 - 0.148X_6 - 0.407X_7$$

系数的绝对值越大,说明该主成分受指标的影响越大,因此决定第一主成分和第二主成分大小的主要为 X_5 和 X_2 ,即第二指数生长期的达峰时间 t_2 和第二生长速率常数 k_2 可较大程度的表征穿心莲

热谱曲线的整体信息。
3.1.4 穿心莲作用于痢疾杆菌的热动力学参数
根据主成分分析的结果,在整个热力学参数中 t_1, k_2 为主要的 影响因子,即 t_2 和 k_2 在一定程度上可以表达整个生物动力学参数的信息,反应为痢疾杆菌代谢的主要指标,由于第二指数生长期的达峰时间 t_2 贡献率 (59.276%) 高于第二指数阶段生长速率常数 k_2 (20.054%),因此本文选择 t_2 计算抑菌率 ($I\%$) 为穿心莲作用于痢疾杆菌生长代谢量效关系的评价指标,按公式(2)进行计算。
$$I/\% = (t_2 - t_0) / t_0 \times 100\% \tag{2}$$

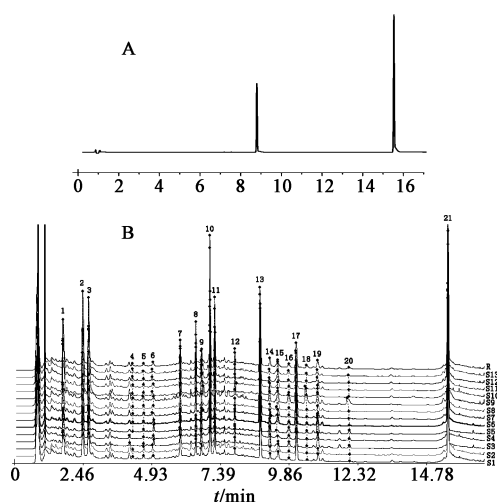
式中 t_0 为未经药物干预时痢疾杆菌生长代谢的第二指数生长期的达峰时间, t_2 为痢疾杆菌在不同产地穿心莲作用下的第二指数生长期的达峰时间。
由图 2 热谱曲线和表 2 的热力学参数可知,产于西双版纳地区的穿心莲药材作用于痢疾杆菌生长代谢过程的出峰时间延长最显著,抑制率 I 最高,表明产自西双版纳的穿心莲药材的抑菌作用最强。产自海南、广西、四川、安徽地区的穿心莲药材抑菌作用相对较差。

表 2 不同产地穿心莲作用于痢疾杆菌的热动力学参数

样品	r_1	k_1/min^{-1}	r_2	k_2/min^{-1}	t_1/min	$P_1/\mu\text{W}$	t_2/min	$P_2/\mu\text{W}$	Q_i/J	$I_i/\%$
空白	0.996 0	0.027 0	0.999 0	0.012 9	110.0	615.8	194.7	712.6	8.41	0
1	0.997 3	0.017 0	0.998 9	0.011 7	122.3	311.2	247.0	604.1	5.84	26.88
2	0.998 0	0.014 3	0.998 1	0.009 6	122.7	336.4	239.7	614.9	5.81	23.12
3	0.998 3	0.020 5	0.997 2	0.006 9	118.0	398.0	238.0	633.3	7.66	22.26
4	0.998 1	0.018 0	0.999 2	0.009 7	115.7	424.4	226.0	655.9	7.78	16.10
5	0.998 4	0.014 2	0.997 0	0.006 4	116.7	448.4	229.0	667.9	8.47	17.64
6	0.998 6	0.019 5	0.998 3	0.010 5	119.7	336.2	230.0	654.8	6.61	18.15
7	0.999 6	0.017 0	0.999 3	0.008 7	115.0	459.6	214.7	690.3	8.23	10.27
8	0.995 9	0.020 9	0.999 1	0.006 4	99.3	502.9	212.7	696.2	8.60	9.25
9	0.998 4	0.024 1	0.995 4	0.010 2	107.3	359.3	225.3	627.6	6.64	15.75
10	0.993 0	0.024 2	0.994 5	0.008 0	108.7	433.8	226.3	613.3	6.98	16.27
11	0.998 7	0.022 5	0.999 4	0.010 6	105.0	540.8	206.7	692.5	8.36	6.16
12	0.992 4	0.026 8	0.997 2	0.007 9	110.7	436.5	213.0	631.9	7.78	9.42
13	0.995 4	0.018 0	0.999 0	0.010 1	102.0	518.3	210.7	685.4	8.72	8.22

3.2 穿心莲的指纹图谱分析 对该 UPLC 实验条件进行方法学考察,结果表明仪器的精密度、稳定性和方法的重复性良好,RSD 均 <3.0%。
根据色谱条件,建立 13 批不同产地穿心莲样品的指纹图谱,采用药典委员会推荐的《中药色谱指

纹图谱相似度评价系统 2004 1.0A 版》软件进行分析,确定了 21 个共有峰,其中 13 号峰为穿心莲内酯,21 号峰为脱水穿心莲内酯。见图 3。
3.3 穿心莲指纹图谱与抑菌活性的相关性分析
采用 PLS 法对 13 批穿心莲的抑菌作用与其对应的



A. 对照品;B. 供试品

13. 穿心莲内酯;21. 脱水穿心莲内酯

图3 不同产地穿心莲的UPLC指纹图谱

化学指纹图谱进行相关分析,发现二者有一定的相关性。根据交叉验证确定的PLS成分数为3时,模型对 X,Y 的解释能力分别为0.869和0.831,交叉有效性 Q^2 为0.547,说明模型具有良好的预测能力。其中2,6,11,13,15,16,17,18,20号色谱峰与抑菌活性的变化的相关性较强即这9个色谱峰的相对峰面积影响痢疾杆菌的生长代谢,其中2,6,11,15,17号色谱峰与抑菌活性的变化呈负相关,而13,16,18,20号色谱峰与抑菌活性的变化呈正相关,其标准化回归系数分别为0.217,0.254,0.253,0.272,说明这4个色谱峰对抑菌活性的贡献最大,可以推测,这4个色谱峰可能是穿心莲产生抑菌活性起主要作用的色谱峰,即穿心莲生物热活性的不同效能主要由13号峰(穿心莲内酯)、16,18,20号色谱峰的含量决定,其中16号峰、18号峰和20号峰均为未知峰,其具体的结构和名称需要进一步的研究。

4 讨论

本研究建立了微量量热法结合化学指纹图谱评价穿心莲药材质量的方法。生活性检测可以反映药物的整体作用;化学指纹图谱能全面、综合地反映中药所含成分的相对关系^[23-24],二者结合可准确、可靠地评价不同产地穿心莲药材的质量。

微量量热实验结果表明,给药组相对于空白组,痢疾杆菌生长代谢曲线的第一生长峰和第二生长峰的达峰时间 t_2 整体呈后延趋势,说明不同产地的穿心莲药材对痢疾杆菌的生长均有抑制作用。其中,产自云南、海南、四川、广西地区的穿心莲抑菌效果

较好;而来源于安徽地区的穿心莲抑菌效果较差。穿心莲喜温暖湿润气候,怕干旱,其最适宜温度为25~30℃和较高的湿度^[25-26]。从地理环境上看,云南、广西、海南等地抑菌效果较好的穿心莲药材,其穿心莲内酯的含量也较高。说明气候条件及地理环境对穿心莲药材的质量影响较大,穿心莲药材适宜生长在温暖湿润的热带和亚热带地区。因此引种穿心莲时,应合理选择适宜生态环境的产地,提高穿心莲药材质量。

将中药活性作用与化学成分相关联的是研究中药有效成分的方法之一^[27-28]。偏最小二乘法(PLS)回归允许在样本数少于变量数的条件下进行回归建模,因而适用于中药指纹图谱小样本分析^[29]。因此本研究将中药穿心莲化学指纹图谱中化学成分的变化与微量量热技术结合起来,进行了PLS回归分析。通过回归分析,笔者发现了4个与抑菌活性成正相关的成分,其中之一为穿心莲内酯,另外3个成分的结构有待进一步的确定。由其含量测定可知,其穿心莲内酯含量较高的样品,抑菌活性也较好。并且从其不同部位来看,地上部分及叶中的穿心莲内酯含量较高,茎中的穿心莲内酯含量较少并且其抑菌效果也较差,说明穿心莲药材适合地上部分或者叶入药。但脱水穿心莲内酯是否为有效成分,其含量高低是否影响到穿心莲药材的抑菌活性,还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 吕巧莉,涂国刚,王嘉琦,等.穿心莲内酯的研究进展及临床应用[J].南昌大学学报:医学版,2013,53(1):83.
- [2] 张涛.穿心莲的研究进展[J].中药材,2000,23(6):366.
- [3] 管晨,李敏,任庆杰,等.穿心莲内酯通过抗炎和调节免疫提高EV71感染小鼠的生存率[J].免疫学杂志,2013,29(9):737.
- [4] 官妍,刘丽,李春,等.亚抑菌浓度的穿心莲内酯及与红霉素联用影响表皮葡萄球菌生物膜形成的初步研究[J].中国微生态学杂志,2013,25(7):766.
- [5] 程惠娟,刘江,张庚.穿心莲内酯抗铜绿假单胞菌生物被膜及与阿奇霉素协同抗菌作用[J].中国微生态学杂志,2012,24(2):120.
- [6] Sheeja K, Guruvayoorappan C, Kuttan G. Antiangiogenic activity of Andrographis paniculata extract and andrographolide [J]. Int immunopharmacology, 2007, 7(2):211.
- [7] Zhao F, He E Q, Wang L, et al. Anti-tumor activities

of andrographolide, a diterpene from *Andrographis paniculata*, by inducing apoptosis and inhibiting VEGF level[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(5):467.

[8] Chao W W, Kuo Y H, Lin B F. Anti-inflammatory activity of new compounds from *Andrographis paniculata* by NF- κ B transactivation inhibition[J]. *J Agricul Food Chem*, 2010, 58(4):2505.

[9] 黄璐琦,赵润怀,陈士林,等. 第四次全国中药资源普查筹备与试点工作进展[J]. *中国现代中药*, 2012, 14(1):13.

[10] 黄璐琦,陆建伟,郭兰萍,等. 第四次全国中药资源普查方案设计与实施[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(5):625.

[11] 郭兰萍,陆建伟,张小波,等. 全国中药资源普查技术规范制定[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(7):937.

[12] 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, 2010:189.

[13] 肖小河,金城,赵中振,等. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展[J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(14):1377.

[14] 鄢丹,任永申,骆骄阳,等. 中药质量生物测定的思考与实践——以板蓝根为例[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(19):2637.

[15] 李会芳,王伽伯,孙琴,等. 生物效价检测在中药品质及药性研究中的应用[J]. *中医杂志*, 2012, 53(3):190.

[16] 张丽杰,刘丽娟,齐凤琴,等. 中药谱效关系研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2010, 27(11):971.

[17] Qin-Ce Zang, Jia-Bo Wang, Wei-Jun Kong, et al. Searching for the main anti-bacterial components in artificial *Calculus bovis* using UPLC and microcalorimetry coupled with multi-linear regression analysis [J]. *Liquid Chromatography*, 2011, 23(34):3330.

[18] 贾伟. 医学代谢组学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2011:212.

[19] Wei-Jun Kong, Yan-Ling Zhao, Jia-Bo Wang, et al. Spectrum-effect relationships between ultra performance liquid chromatography fingerprints and anti-bacterial activities of *Rhizoma coptidis* [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 634(2):279.

[20] Dong-Li Fan, Xiao-He Xiao, Xiao-Jun Ma. Calorimetric study of the effect of protoberberine alkaloids in *Coptis chinensis* Franch on *Staphylococcus aureus* growth [J]. *Thermochimica acta*, 2008, 480(1/2):49.

[21] Jiao-Yang Luo, Mei-Hua Yang. Demethoxycurcumin: a potential antimicrobial agent Exposure by microcalorimetry and modified broth microdilution method [J]. *J Therm Anal Calorim*, 2013, DOI 10.1007/s10973-013-3103-6.

[22] O Braissant, G. Bonkat, Dieter Wirz, A. Bachmann. Microbial growth and isothermal microcalorimetry: Growth models and their application to microcalorimetric data [J]. *Thermochimica Acta*, 2013, 555(2013):64.

[23] Hai-Juan Dong, Zun-Jian Zhang, Jing Yu, et al. Chemical Fingerprinting of *Andrographis paniculata* (*Burm. f.*) Nees by HPLC and Hierarchical Clustering Analysis [J]. *J Chromatographic Sci*, 2009, 47(10):931.

[24] Wen-kui Li, John F. Fitzloff. HPLC-PDA Determination of Bioactive Diterpenoids from Plant Materials and Commercial Products of *Andrographis paniculata* [J]. *J Liq Chromatogra Related Technol*, 2004, 27(15):2407.

[25] 张敬君. 穿心莲栽培管理技术[J]. *现代农业科技*, 2007, (17):45.

[26] 朱玉宝. 药用植物穿心莲栽培技术[J]. *中国林副特产*, 2012(3):60.

[27] 张磊,聂磊,王唯红. 黄芪注射液色谱指纹图谱与抗氧化作用的相关分析 [J]. *中药材*, 2009, 32(11):1757.

[28] 陈晓萌,陈畅,李德凤,等. 中药有效成分辨识的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(12):249.

[29] 王惠文. 偏最小二乘回归方法及其应用[M]. 北京:国防工业出版社, 1999:200.

[责任编辑 顾雪竹]