

• 药理 •

网络药理学探讨杜仲主要活性成分及药理作用机制

陈启洪¹ 李晓飞¹ 段灿灿² 晏仁义³ 张建永^{1*}

(1. 遵义医学院药学院, 贵州 遵义 563009; 2. 遵义医学院基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州 遵义 563003; 3. 天津益倍元天然产物技术有限公司, 天津 300457)

摘要 目的: 从网络药理学角度研究杜仲的主要活性成分及多维药理作用机制。方法: 从 TCMSP 数据库中提取杜仲的化学成分, 以口服生物利用度(OB) $\geq 20\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.1 筛选活性成分, 通过该数据库提取活性成分作用靶点, 以 CTD 在线分析平台挖掘靶点相关疾病, 最后采用 DAVID 分析靶点关联的主要生物通路, 获取杜仲的多维药理机制。结果: 通过筛选获得绿原酸甲酯、原儿茶酸、桃叶珊瑚苷、槲皮素、羟基亚甲基丹参酮、表奎尼丁、 β -谷甾醇、松脂醇二葡萄糖苷等 22 个主要活性成分; 这些成分可作用于靶点 219 个, 其中核心靶点有 ESR1、CA2、DDP4 等; 这些成分可治疗乳腺肿瘤、高血压、炎症等相关疾病 454 种, 涵盖恶性肿瘤、心血管疾病、神经系统疾病等 11 大类疾病; 这些成分可作用 Pathways in cancer、Calcium signaling、Hepatitis B 等 30 条通路。进一步发现杜仲中主要活性成分可通过“多成分-多靶点-多通路”来发挥治疗恶性肿瘤、心血管疾病、免疫系统疾病的作用。结论: 本研究从网络药理学角度预测了杜仲的主要活性成分和 multidimensional pharmacology 作用机制, 为进一步探讨其作用机制奠定了基础。

关键词 网络药理学; 杜仲; 活性成分; 作用机制

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2018)02-0419-08

DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2018.02.039

Study on the Main Active Components and Mechanism of Eucommiae Cortex by Network Pharmacology

CHEN Qi-hong¹ LI Xiao-fei¹ DUAN Can-can² YAN Ren-yi³ ZHANG Jian-yong¹

(1. School of Pharmacy Zunyi Medical University Zunyi 563009, China; 2. Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education Zunyi Medical University Zunyi 563003, China; 3. Tianjin Ubasic-Ingredient Natural Products Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

Abstract Objective: To investigate the main active components and pharmacological mechanism of Eucommiae Cortex by network pharmacology. Methods: All the chemical components related to Eucommiae Cortex from the TCMSP Database were collected, the oral bioavailability(OB) $\geq 20\%$ and drug likeness(DL) ≥ 0.1 were used as the screening conditions for obtaining active molecular compounds. The targets related to the active compounds were found through the TCMSP database, the diseases related to targets were found through CTD online analysis platform. Finally, the targets were introduced into the DAVID to analyze main biological pathways for obtaining the deep mechanism of Eucommiae Cortex. Results: 22 main active compounds were obtained through network pharmacology screening, such as chlorogenic acid methyl ester, protocatechuic acid, aucubin, quercetin, 3- β -hydroxymethyl tanshinone, epiquinidine, β -sitosterol, (+)-pinoselinol-di-O- β -D-glucoside, 219 corresponding targets were acted, such as ESR1, CA2, DDP4; these targets could joint in 30 pathways, such as pathways in cancer, calcium signaling, hepatitis B. And these compounds may play a role in breast neoplasms, hypertension and inflammation etc 454 diseases, these diseases belonged to eleven categories of diseases such as cancer, cardiovascular disease and immune system disease. It was found that the components in Eucommiae Cortex may mainly treat cancer, cardiovascular disease and immune system, and system disease by the unique model(multi-compounds, multi-targets and multi-pathways). Conclusion: The results preliminarily verify the main activity components and multidimensional pharmacology mechanism in Eucommiae Cortex, and provides a good foundation for further study on the mechanism of action.

Key words Network pharmacology; Eucommiae Cortex; Active components; Mechanism

杜仲为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的干燥树皮, 在《神农本草经》中就有记载, 具有补益肝肾的功效。研究发现其所含化学成分主要有木脂素类、环烯醚萜类、黄酮类、苯丙素类、萜类

等, 上述成分具有防三高、抗肿瘤、抗骨质疏松等药理活性^[1]。由于所含成分复杂, 其主要活性成分和药理机制尚不明确。系统梳理杜仲的主要成分及药理作用机制具有重要意义。

收稿日期: 2017-10-21

基金项目: 国家自然科学基金(81560736); 贵州省科技重大专项(黔科合重大专项字[2015]6010-1)

(作者简介: 陈启洪(1994-) 男, 在读硕士研究生, 专业方向: 中药学; Tel: 18300916029; E-mail: 18300916029@qq.com)

* 通讯作者: 张建永, Tel: 15120273389, E-mail: zhangjianyong2006@126.com。

http://www.cnki.net

2007 年 Hopkins^[2] 提出网络药理学 (network pharmacology) 强调药物也可以是“多成分-多靶标-多疾病”的作用方式。目前已有学者将网络药理学用于预测和辨识中药活性成分群、作用靶点及阐明作用机制^[3]。网络药理学已形成一系列数据库和平台。其中 TCMSP (<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>) 是传统中药的系统药理学数据库^[4], 其通过评价成分的体内过程、用口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) 和类药性 (drug-like, DL) 来筛选中药的活性成分。其中 OB 是评价药物能否发挥药效的一个重要指标^[5], DL 代表成分与已知西药的相似性, 对确定中药中成分是否在机体产生活性具有重要参考价值。本研究通过 TCMSP 数据库, 运用网络药理学方法对杜仲的主要活性成分进行虚拟筛选, 并对活性成分的作用靶点、相关疾病以及生物通路等进行综合分析, 以期揭示杜仲的主要活性成分及其多维药理作用机制。

1 方法

1.1 化学成分收集与活性成分筛选 采用 TCMSP 数据库, 提取出杜仲的化学成分, 获得杜仲中化学成分共 147 个。在此基础上以 $OB \geq 20\%$ 和 $DL \geq 0.1$ 作为活性成分筛选条件, 同时结合文献报道的杜仲中主要化学成分, 共获得 47 个活性成分。

1.2 活性成分作用靶点打靶 活性成分的作用靶点通过 TCMSP 数据库打靶提取, 将靶点数据进一步通过 UniProt 数据库、TTD、drugbank 数据库进一步确认。原则为: 物种为人 (Human)。最终得到杜仲活性成分的作用靶点 231 个。

1.3 网络构建及分析

表 1

杜仲中的 47 个活性成分

	molecule_name	OB/%	DL	Degree	Betweenness	Structure type
C1	chlorogenic acid methyl ester	10.0	0.36	1	0	苯丙素类
C2	protocatechuic acid	25.4	0.04	1	0.04333	酚类
C3	dunnisinin	30.7	0.13	7	0.00255	环烯醚萜类
C4	harpagide-7-acetate	102.1	0.12	2	0.00054	环烯醚萜类
C5	reptoside	118.9	0.10	1	0.01501	环烯醚萜类
C6	harpagoside	21.7	0.32	9	0.00096	环烯醚萜类
C7	aucubin	4.2	0.33	1	0.01219	环烯醚萜类
C8	geniposidic acid	19.6	0.41	2	0.00002	环烯醚萜类
C9	eucommiol	40.2	0.05	6	0.00919	环烯醚萜类
C10	kaempferol	41.9	0.24	4	0.05756	黄酮类
C11	isomangiferin	29.4	0.74	6	0.00184	黄酮类
C12	ent-Epicatechin	49.0	0.24	2	0.00484	黄酮类
C13	hirsutin	49.8	0.37	3	0.01615	黄酮类
C14	quercetin	46.4	0.28	1	0.59224	黄酮类
C15	rutin	3.2	0.68	2	0.05464	黄酮类

1.3.1 活性成分-靶点网络构建及分析: 利用 Cytoscape (版本 3.4.0) 软件绘制杜仲的活性成分-靶点的 (Components-Targets, C-T) 网络图, 网络拓扑学分析网络特征, 分析活性成分与靶点之间的相互作用关系, 确定其主要活性成分及其结构类型, 以主要活性成分作进一步分析。

1.3.2 主要活性成分对应的疾病网络分析: 将主要活性成分的靶点数据导入 CTD 在线分析平台 (<http://ctdbase.org/>) 得到靶点的相关疾病, 对疾病及其种类进行筛选, 绘制靶点-疾病的 (Targets-Diseases, T-D) 网络图和主要活性成分-疾病 (Components-Diseases, C-D) 网络图。对其潜在治疗疾病进行分析, 研究其治疗的主要疾病。

1.3.3 生物通路分析: 利用 DAVID 数据库进行生物通路分析, 选择 TOP30 和 $P < 0.05$ 的生物通路, 绘制靶点生物通路 (Targets-Pathways, T-P) 的网络图, 分析靶点与生物通路的关系。整合 C-T 和 T-P 数据, 构建主要活性成分-生物通路 (C-P) 作用网络, 利用 Network Analyzer 插件对所构建 C-P 网络进行分析, 发现成分和通路的关系。

2 结果

2.1 活性化学成分的筛选 如表 1 所示, 以 $OB \geq 20\%$ 且 $DL \geq 0.1$ 作为筛选条件得到 39 个活性成分。有些成分不符合筛选要求, 如松脂醇二葡萄糖苷、芦丁、桃叶珊瑚苷、黄芩苷、京尼平苷酸、原儿茶酸、杜仲醇、绿原酸甲脂, 但文献报道其具有药理活性^[6-11], 故本研究将这些成分也纳入活性成分进行下一步分析。

续表 1

	molecule_name	OB/%	DL	Degree	Betweenness	Structure type
C16	astragalin	14.0	0.74	2	0.00824	黄酮类
C17	(E)-3-[4-[(1R,2R)-2-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-1-methylol-ethoxy]-3-methoxy-phenyl]acrolein	56.3	0.36	2	0.00502	其他(丙烯醛衍生物)
C18	3-β-Hydroxymethyllenetanshinone	32.2	0.41	3	0.02266	其他(菲醌)
C19	linolenic acid	45.0	0.15	3	0.07174	其他(脂肪酸)
C20	(E,7R,11S)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-en-1-ol	33.8	0.13	3	0.00022	其他(脂肪酸)
C21	linoleic Acid	41.9	0.14	2	0.02807	其他(脂肪酸)
C22	erythraline	49.2	0.55	3	0.01583	生物碱
C23	(-)-Tabernemontanine	58.7	0.61	5	0.06575	生物碱
C24	epiquinidine	68.2	0.40	6	0.09982	生物碱
C25	liriodendrin_qt	53.1	0.80	7	0.00061	生物碱
C26	mairin	55.4	0.78	4	0.00084	萜类
C27	β-sitosterol	36.9	0.75	5	0.13618	萜类
C28	vulgarin	29.2	0.20	3	0.00010	萜类
C29	cyclopamine	55.4	0.82	4	0.00765	萜类
C30	helenalin	77.0	0.19	1	0	萜类
C31	β-carotene	37.2	0.58	2	0.04059	萜类
C32	(-)-medioresinol	57.2	0.62	3	0.01488	木脂素类
C33	acanthoside B	43.4	0.77	1	0	木脂素类
C34	8-Hydroxypinoresinol-4-glucoside	28.5	0.86	2	0.00030	木脂素类
C35	8-hydroxypinoresinol	92.4	0.55	2	0.00555	木脂素类
C36	(+)-Cycloolivil	24.5	0.42	1	0.00783	木脂素类
C37	yangambin	57.5	0.81	2	0.02100	木脂素类
C38	8-Hydroxypinoresinol 4'-glucoside	29.0	0.86	2	0.00030	木脂素类
C39	eucommin A	30.5	0.85	1	0	木脂素类
C40	(+)-medioresinol	87.2	0.62	2	0.01453	木脂素类
C41	(+)-Pinoresinol-β-D-glucoside	25.6	0.89	1	0	木脂素类
C42	dehydrodiconiferyl alcohol 4,γ-di-O-β-D-glucopyranoside_qt	51.4	0.40	2	0.00806	木脂素类
C43	Threo-dihydroxydehydrodiconiferyl alcohol	27.9	0.47	2	0.01435	木脂素类
C44	(+)-Eudesmin	33.3	0.62	2	0.00823	木脂素类
C45	(+)-Dehydrodiconiferyl alcohol	50.8	0.39	2	0.00703	木脂素类
C46	olivil	62.2	0.41	2	0.00467	木脂素类
C47	(+)-Pinoresinol-di-O-β-D-glucoside	3.1	0.34	0	0	木脂素类

2.2 活性成分-靶点网络分析及主要活性成分确定

将筛选出 47 个活性成分和靶点相连构建(C-T)网络图(如图 1),其中包含 278 个节点 nodes(47 个活性成分和 231 个靶点);V 形节点代表活性成分,圆形节点代表靶点,而边则表示活性成分与靶点的相互作用关系。在网络中,高度值(degree)和介数值的节点(betweenness)可反映节点的重要性^[12]。本图中节点的大小表示度的大小,其中 C14(槲皮素,quercetin)度最大(126 个靶点),为网络的中心节点;由此可发现这个分子以及靶点相互作用在网络中起到关键的作用。其次是生物碱类成分 C24

(表奎尼丁,epiquinidine)有 56 个靶点,萜类成分 C27(β-谷甾醇 β-sitosterol)有 53 个靶点。靶点较多的成分可能在杜仲发挥药理功能中起重要作用。实验报道也验证了预测结果,槲皮素具有降压、降血脂作用^[13];杜仲雄花中的生物碱类成分有具有镇静催眠等作用^[14];β-谷甾醇能促进和加强大鼠成骨细胞成骨作用^[15]。此外,其他类型成分中 C₁₈有 31 个靶点,木脂素类成分 C32 有 26 个靶点,环烯醚萜类成分 C5 有 13 个靶点,酚类活性成分 C2 有 12 个靶点,苯丙素类成分 C1 仅有 1 个靶点。以上可以看出不同类型成分的作用靶点数目和种类不同,其作用靶

点的多少和差异体现了其发挥药效的特点不一致。

在靶点上,前列腺素 G/H 合成酶 2(PTGS2)、雌激素受体蛋白(ESR1)、碳酸酐酶 II(CA2) 度值较高,分别为 28、26、26,表明活性成分在靶点上具有协同性。其中 PTGS2 是经典炎症靶点,与 8 个结构类型的活性成分相互作用,表明其是杜仲中发挥整体药效作用的关键靶标。此外近一半的靶点至少与 2 个活性成分相连,充分说明了杜仲具有多靶点协同作用。进一步分析可知木脂素类成分活性成分数

量最多,表明该类成分在杜仲药效作用中有着主要地位。在靶点数目上,以黄酮类活性成分靶点最多(167 个),且存在独立靶点;其次是萜类(69 个)、生物碱(64 个)、其他类(54 个)、木脂素类(36 个)、环烯醚萜类(27 个)、酚类(12 个)、苯丙素类(1 个),其中木脂素类、生物碱、其他类和萜类之间存在较多的共同靶点,说明这些成分之间有着较强的协同作用,故而贡献多维药理活性。

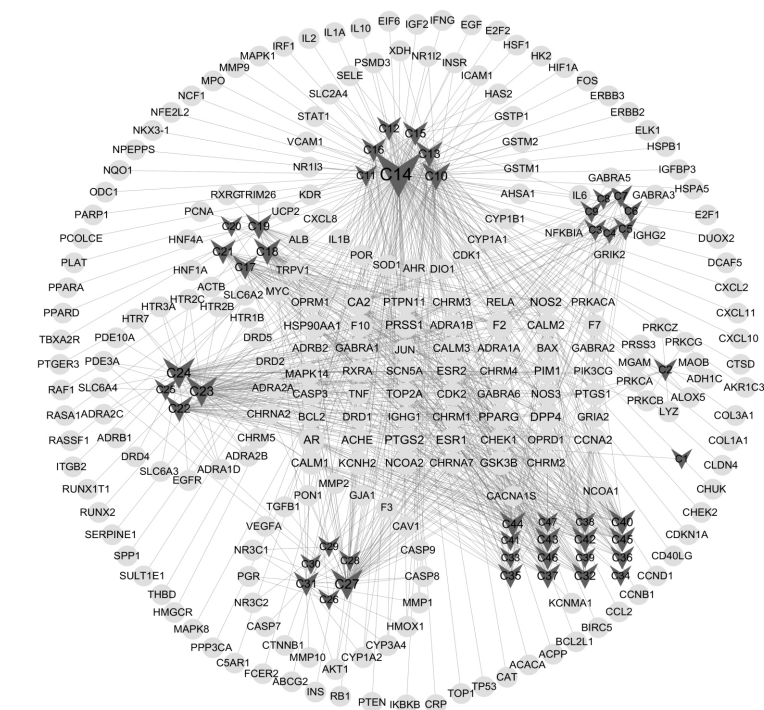


图1 成分-靶点(C-T)网络图

为获取更具有代表性的主要活性成分深入分析,本研究取度值前十五的活性成分及有文献报道的主要活性成分与靶点重新构建主要活性成分-靶点网络,并进行下一步的分析。这些主要活性成分分别是:苯丙素类(C1)、酚类(C2)、环烯醚萜类(C7、C8、C9)、黄酮类(C10、C13、C14、C16)、其他(C18、C19)、生物碱(C22、C23、C24)、萜类(C27)、木脂素类(C32、C37、C40、C42、C44、C45、C47)。如图2所示,该网络包括241个节点(22个主要活性成分和219个靶点),靶点数目占原活性成分靶点94.8%以上,进一步表明筛选具有代表性。

2.3 靶点-疾病及主要活性成分-疾病网络分析

通过CTD在线分析平台及文献筛选构建杜仲(T-D)网络图。如图3所示,网络中包含节点646个(192个靶点和454种相关疾病)。454种相关疾病包括恶性肿瘤(Cancer,155种)、心血管疾病(Cardiovascular disease,101种)、神经系统疾病(Nervous

system disease,40种)、消化系统疾病(Digestive system disease,36种)、免疫系统疾病(Immune system disease,32种)等共11大类。进一步分析发现,度值前15的疾病主要有乳腺肿瘤、高血压、炎症等分别属于恶性肿瘤、心血管疾病、免疫系统疾病。以上充分的体现了杜仲治疗疾病的广泛性和整体性。

为直观反映主要活性成分与疾病之间的关系,本研究建立活性成分-疾病(C-D)网络图,如图4所示,网络中包含节点476个(22个主要活性成分和454种相关疾病)。其中度值较高节点C14(槲皮素)与397种疾病相关,萜类成分C27(β -谷甾醇)与222种疾病相关,生物碱类成分C24(表奎尼丁)与190种疾病相关,环烯醚萜类成分C7(桃叶珊瑚苷)与171种疾病相关,木脂素类成分C40(皮树脂醇)与163种疾病相关,酚类成分C2(原儿茶酸)与88种疾病相关,苯丙素类成分C1(绿原酸甲脂)与66种疾病相关。体现了杜仲中不同类型成分可通过作

用于多靶点发挥治疗多类型疾病的药理作用。

2.4 靶点-生物通路及主要活性成分-生物通路互作分析 药物可通过靶点及所在的生物通路发挥作用。将 219 个靶点导入 DAVID 中,取 P 值前 30 个 (P 值均小于 0.01,具有显著性)的通路,如表 2 所

示。绘制靶点-生物通路(T-P)网络图。如图 5 所示,总共 176 个节点(30 个生物通路和 146 个靶点)。其中度值前三的靶点 AKT1(外消旋 α -丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶),MAPK1(丝裂原活化蛋白激酶 1),PIK 3CG(磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸激酶催化亚基 γ

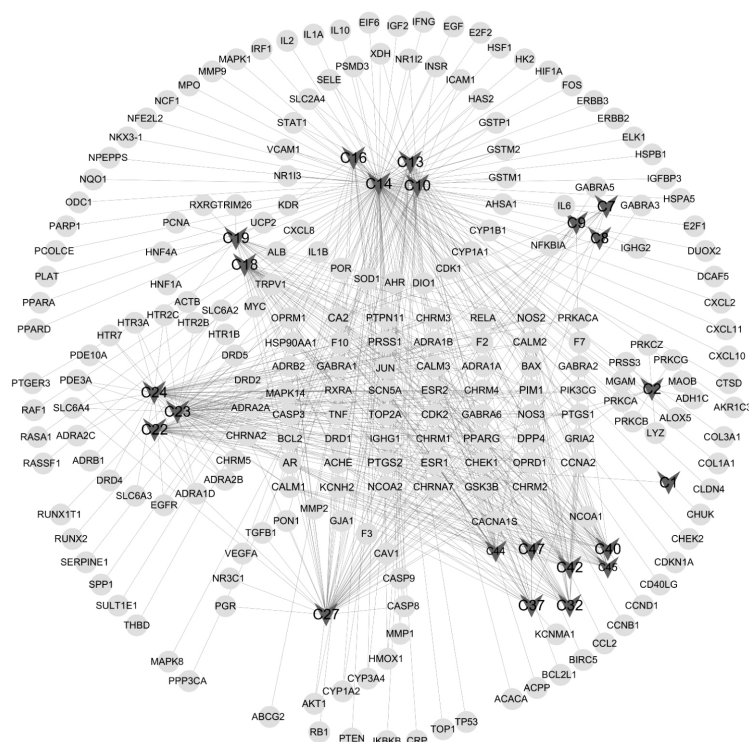


图 2 主要活性成分-靶点(C-T)网络图

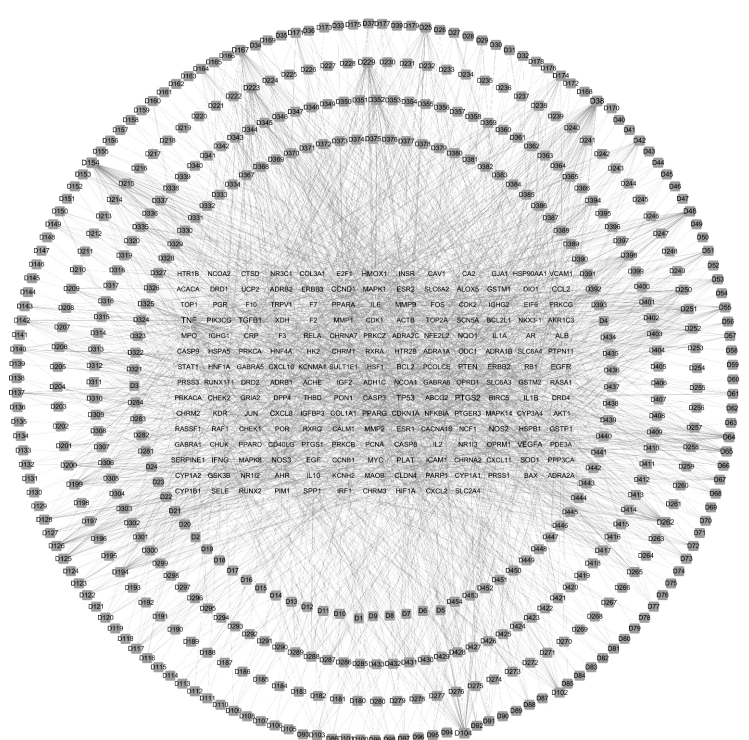


图 3 靶点-疾病(T-D)网络图

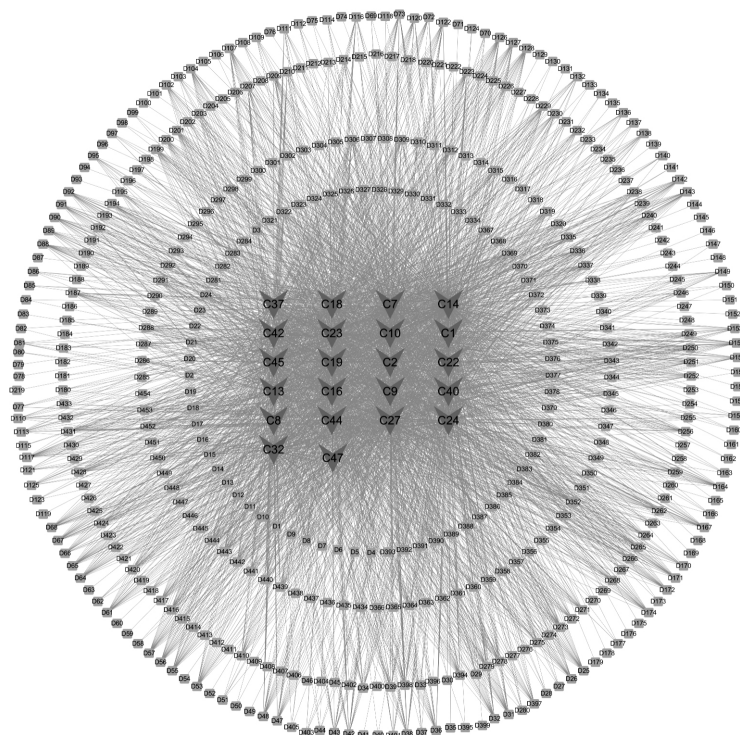


图 4 主要活性成分-疾病(C-D)网络图

亚型) 均与 24 条生物通路相关,说明这些靶点在杜仲发挥药效作用的生物通路中有着重要作用。据此可推测杜仲可能通过多个靶点多条生物通路发挥药效作用,此外 Pathways in cancer、Calcium signaling、Hepatitis B 等是其发挥治疗肿瘤、心血管疾病、免疫系统疾病药效作用的关键生物通路。与此同时,通路富集中 P 值前 30 的通路中有 Pathways in cancer、Proteoglycans in cancer、Prostate cancer 等 12 条生物通路与肿瘤相关,表明杜仲作用靶点的通路可能在

治疗肿瘤上更具优势。

整合 C-T 和 T-P 数据 构建主要活性成分-生物通路(C-P)网络图,如图 6 所示,包含 52 个节点(22 个活性成分和 30 条生物通路),主要活性成分分布于不同的生物通路。如黄酮类成分 C14(槲皮素)与 30 条生物通路相关,蒽类成分 C27(β -谷甾醇)与 29 条生物通路相关,生物碱类成分 C24(表奎尼丁)与 29 条生物通路相关,其他类成分 C19(亚麻酸)与 25 条生物通路相关,环烯醚萜类成分 C7(桃叶珊瑚

表 2

生物通路名对照表

ID	Pathways	Degree	ID	Pathways	Degree
hsa05200	Pathways in cancer	56	hsa05160	Hepatitis C	22
hsa05161	Hepatitis B	38	hsa05212	Pancreatic cancer	21
hsa04080	Neuroactive ligand-receptor interaction	37	hsa05222	Small cell lung cancer	21
hsa05205	Proteoglycans in cancer	30	hsa04066	HIF-1 signaling pathway	21
hsa04020	Calcium signaling pathway	30	hsa04620	Toll-like receptor signaling pathway	20
hsa05166	HTLV-I infection	30	hsa04068	FoxO signaling pathway	20
hsa05164	Influenza A	27	hsa05223	Non-small cell lung cancer	19
hsa04024	cAMP signaling pathway	26	hsa05214	Glioma	19
hsa05215	Prostate cancer	25	hsa05220	Chronic myeloid leukemia	18
hsa05152	Tuberculosis	25	hsa05133	Pertussis	18
hsa04668	TNF signaling pathway	24	hsa05146	Amoebiasis	18
hsa05169	Epstein-Barr virus infection	24	hsa05219	Bladder cancer	18
hsa05142	Chagas disease	23	hsa05210	Colorectal cancer	17
hsa05145	Toxoplasmosis	23	hsa05140	Leishmaniasis	17
hsa04919	Thyroid hormone signaling pathway	22	hsa05213	Endometrial cancer	14

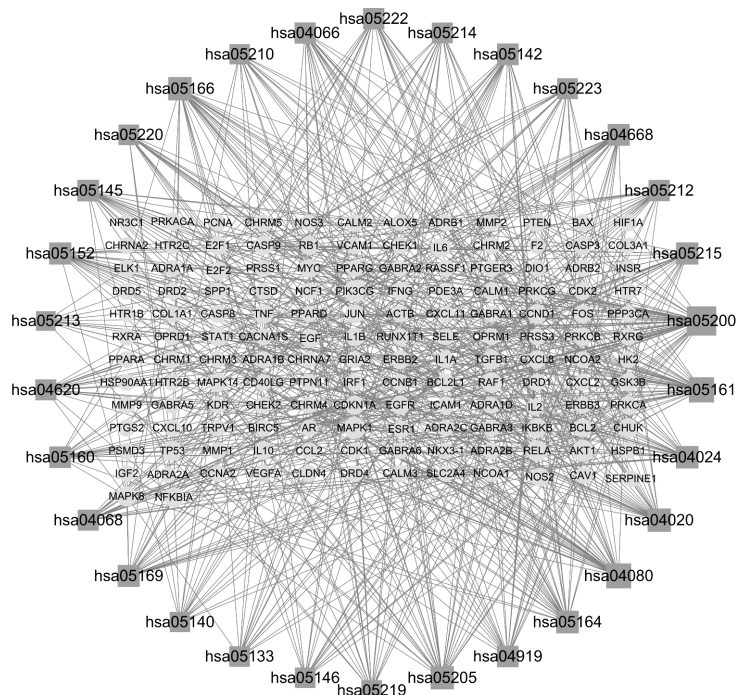


图 5 靶点生物通路(T-P)网络图

苷)与24条生物通路相关,木脂素类成分C40(皮树脂醇)与24条生物通路相关,酚类成分C2(原儿茶酸)与15条生物通路相关,苯丙素类成分C1(绿原酸甲脂)与4条相关生物通路。可见每类活性成分中与疾病相关度大的活性成分均具有较高的生物通路相关度,筛选出的不同类型主要活性成分既可通过不同靶点与同一通路相连接,也可通过同一靶点

与不同的通路相连接,说明不同成分的作用靶点具有协同作用,充分体现了杜仲多成分、多靶点、多通路的复杂机制。

3 讨论

综上所述,本研究应用网络药理学方法初步研究了杜仲的活性成分、靶点、相关疾病及其疾病系统和作用生物通路。共发现杜仲活性成分共47个,进

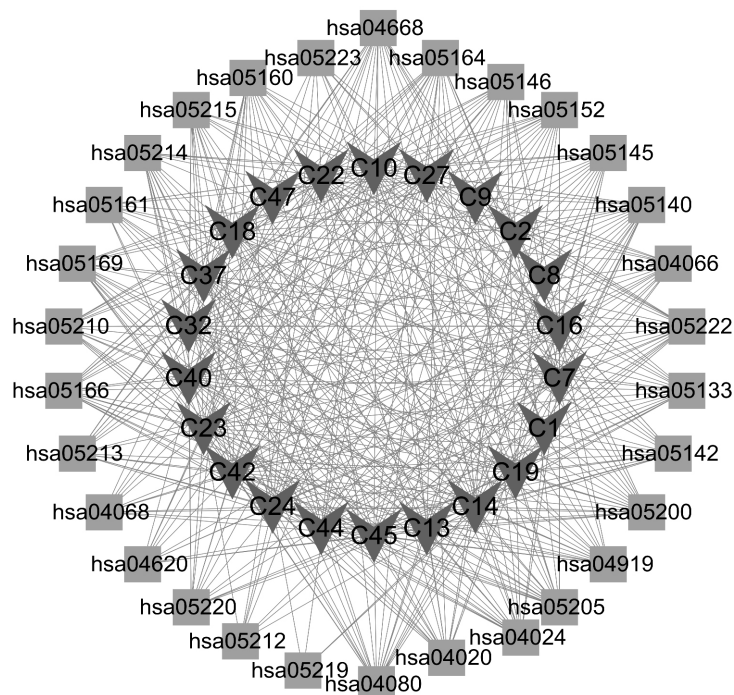


图 6 主要活性成分-生物通路(C-P)网络图

一步通过网络分析筛选,得到 22 个主要活性成分,作用靶点 219 个,关联通路 30 条,治疗疾病 454 种,由此可见杜仲治疗疾病的广泛性,具有多成分-多靶标-多通路的特点。靶点 PTGS2、ESR1、CA2 互作的相关活性成分较多,可能是杜仲活性成分发挥药效作用的关键靶标;靶点 AKT1、MAPK1、PIK3CG 关联的相关生物通路较多,提示在杜仲发挥药效作用的生物通路中起重要作用。进一步可知,杜仲对治疗恶性肿瘤、心血管疾病、免疫系统疾病等具有较好的治疗作用,其发挥药效作用的关键生物通路有 Pathways in cancer、Calcium signaling、Hepatitis B 等。研究结果从网络药理学角度揭示了杜仲的主要活性成分及其作用靶点、主要疾病类型及关键生物通路,为进一步研究其多维药理作用机制奠定了良好基础。

参 考 文 献

- [1] 梁依芳. 杜仲的现代研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2016, 14(23): 151-152.
- [2] Hopkins AL. Network pharmacology [J]. *Nat biotechnol*, 2007, 25(10): 1110-1111.
- [3] 李泮霖, 苏薇薇. 网络药理学在中药研究中的最新应用进展[J]. 中草药, 2016, 47(16): 2938-2942.
- [4] 史海龙, 赵云飞, 陈哲. 传统中药数据库中 HIV-1 蛋白酶抑制剂计算机虚拟筛选[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(10): 73-77.
- [5] 裴梦婕. 系统药理学研究补气 and 补血中药作用机理: 预测新药及新靶点[D]. 西安: 西北大学, 2014.
- [6] 李艳艳, 周光明, 辛丹敏, 等. HPLC 法测定杜仲中绿原酸和芦丁[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2010, 32(1): 59-62.
- [7] 孙佳, 陆苑, 向文英, 等. UPLC 同时测定杜仲中 6 种有效成分的含量[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(6): 874-879.
- [8] 李伟, 谢婷婷, 覃洁萍, 等. 杜仲不同采收期及不同部位中桃叶珊瑚苷的含量测定[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2): 283-285.
- [9] 贾智若, 李兵, 李耀华, 等. 反相高效液相色谱法测定杜仲中儿茶素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5): 117-119.
- [10] 巩卓, 王耀欣, 陈鑫, 等. RP-HPLC 法测定杜仲中杜仲醇的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(11): 1023-1024.
- [11] 曹旭, 谢玉敏, 朱迪, 等. 杜仲提取物中五个成分血浆蛋白结合率的测定[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(1): 131-135.
- [12] 薛潇春, 胡晋红. 网络药理学研究方法与应用进展[J]. 药学实践杂志, 2015, 33(5): 401-405.
- [13] 栾庆祥. 杜仲化学成分和药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(9): 153-156.
- [14] 刘严. 杜仲雄花功能成分的提取、分离及活性研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2012.
- [15] 曾莉萍, 徐贤柱, 饶华, 等. 杜仲叶 β -谷甾醇对成骨细胞和卵巢颗粒细胞的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1051-1053.