

生物效价检测在天然药物国际化发展中的应用

尹卫平,吕碧玉,刘华清,杨强强

(河南科技大学 化工与制药学院,河南 洛阳 471023)

摘要:基于生物效价检测在生化药物、化学药物和中药领域中的应用,重点阐述了生物效价检测在药物活性评价中所具有的独特优势,进一步探讨生物效价检测在天然药物国际化发展中的应用前景。

关键词:生物效价;检测评价;应用领域;药物研究;效价计量

中图分类号:0629.5

文献标志码:A

0 引言

生物效价检测法又称为生物效应评价法,最初主要应用于生化药物,建立相关成分的定量测定方法和定性鉴别方法^[1-3]。临床上常见的以效价计量的生化药物有激素类^[4-5]、维生素类^[6-7]、抗生素类及抗毒素类等^[8-12]。显然,这类药品通常因化学成分不恒定或者因为其中部分药物的结构复杂,导致运用理化方法不能准确检定药物的质量规格,因此,采用生物效价检测法作为评估这类药物活性的手段,具有独特的优势^[13]。目前,生物效价不仅应用于生物制品、生化药物的检测,基于疗效评价的效价检测方法还被广泛应用到中药品质与药性研究^[14-17]以及天然药物国际化发展中^[18]。

1 生物学效价概念及表征

生物学效价,具体是指某一物质能够引起生物效应的功效单位,常用于衡量生物物质的效能^[3,19]。以抗生素类药物为例,其纯品的质量与标准品效价单位的折算比率被定义为效价,又称为理论效价。即某些药物原料由于本身可能含有一些杂质,或生产工艺中产生的杂质等原因导致纯度不够,以药物的常用质量及容量单位不能表示其药理效价,则以药理作用效价单位表示剂量^[20]。依照多国药典,一些生物药物均可以其特有的理论效价表示剂量^[1]。因而,药物的活性可以通过效价强度和效能/效力、效价计量单位、效价判定和效价测定等相关参数来表征。

1.1 效价强度和效能/效力

效价强度是指药物达到预期作用的相对浓度或者剂量。药理学定义为产生等效反应(一般采用质量分数为 50% 的效应量)时所需药物剂量的大小,药物的剂量越小,其效价强度越大。效价强度也反映了药物与受体的亲和力大小,两者成反比关系。例如,强的松(泼尼松)与可的松在产生相同的抗炎作用时,后者的使用剂量是前者的 4 倍,因而强的松的效价强度更大^[21]。因此,效价强度是药物剂量使用的重要判断依据。

效能指的是药物的最大效应。在量效曲线上,药物的药理作用随着剂量的增大而增加,当药物剂量达到一定值后,药理作用将不再变化或产生毒性反应。效能反映了药物的内在活性,是指该药物最大效应的水平高低。例如,吗啡与阿司匹林均具有镇痛作用,但前者可以治疗剧痛,而后者只能缓解中等程度的疼痛,因而吗啡的效能高于阿司匹林。就临床而言,与药物的效价强度相比,其效能水平更有价值^[22-23]。

药物的最大效能与效价强度含义完全不同,两者并不平行。例如,抗菌药物的效价和效能,是指抗菌药物中具有抗菌活性的部分,可用于作用性质相同的药物之间的等效剂量的比较。

基金项目:国家自然科学基金项目(21472035)

作者简介:尹卫平(1956-),女,河南郑州人,教授,博士,博士生导师,主要从事天然产物和创新药物方面的研究。

收稿日期:2017-09-05

1.2 效价的计量单位

临床上,激素类、维生素类及部分抗生素类等生物制剂的药物,通常使用效价单位来计量活性,又称“药物效价单位”。《中华人民共和国药典》2015年版规定,这些药物均以其特有的药理效价来表示剂量^[24],针对药物代谢动力学,把最小有效量作为计量单位,即为效价。药物产生同等药效的剂量大小,就反映了该药物的效价高低。

临床上,通常将药物有效部分的一定质量(多为1 μg)作为一些半合成或合成的抗生素类药物的一个单位(U),如链霉素、土霉素、红霉素等均以1 μg 纯游离碱作为一个单位。少数抗生素类药物则以其1 μg 或一定质量某一特定的盐作为一个单位,例如金霉素和四环素均以其1 μg 盐酸盐纯品为一个单位,青霉素则以0.6 μg 国际标准品青霉素G钠盐为一个单位。综上,把抗生素纯品的质量(一般是mg)作为抗生素固定的理论效价,根据标准的实际质量计算出效价单位。效价单位是以抗生素中所含的特定的抗菌活性部分(纯游离碱或游离酸)的质量表示的。虽然青霉素G钠盐制品现已完全可用化学或物理方法检验其质量,但临床上仍广泛使用效价单位的表示方法^[25-26]。

当质量单位不能准确表示药品的有效含量时,多采用生物检定法的“国际单位”(international unit, IU)来表示^[27]。

1.3 效价判定

一般药物的质量以克为基本单位,体积以毫升为基本单位。通过计量单位与效能的换算可以直观地反映药物的药理作用,然而某些药物,尤其是生物制剂,因受其纯度的限制,用质量或体积分数来作为单位表示并不合理,只能以效价单位来表示剂量。许多激素、维生素类等,在物质的结构未确定或不易得到纯结晶的情况下,则以特定方法得到一定量物质的生物学活性或免疫学活性为基准,来表示其有效成分的质量。还有一些生物药物制剂,粗提物或粗制品与纯品在颜色、气味、形状和硬度等方面各不相同(如粗品肝素钠与纯品)^[6]时,会导致药物的质量与其效价出现很大差异,无法一一对应,进一步造成药物粗制品的质量监控以及效价测定困难重重。因此,寻找出有效判定质量和测定效价的方法是很有必要的。在实际工作中多积累经验,灵活运用效价测定方法,合理掌握药物效价范围,正确进行效价判定,就可较准确地判断药品质量和效价,鉴定样品质量的优劣程度。从这点意义上讲,效价的判定问题主要与有效地解决产品的质量问题的紧密相关。

1.4 效价的测定与评价

1.4.1 化学及物理化学法

化学及物理化学法简称为理化方法。它是根据特定的抗生素分子结构,通过其专属的化学或物理化学反应来进行测定。常见的理化方法有光谱法和色谱法^[26,28-29]。理化方法对于某些具有明确化学结构的生物活性物质,如抗生素或维生素类,可以直接而有效地测定效力,具有较高的专属性。这类方法的优点是准确度高,操作简便和快速。但这类方法也有不足,如不适用于含有杂质的供试品,或所测结果往往只代表药物的总含量,并不一定代表药物,如抗生素的生物效价等。

1.4.2 生物学法

目前,抗生素效价测定所通用的方法为微生物检定法^[30-31],这种方法需要使用的供试品量较少,灵敏度高,既适用于精制品,也适用于纯度较差的制品,能够更准确地判断抗生素的医疗价值。除此之外,此方法对同一类型药物如抗生素无需再次分离,是一种可一次测量总效价的生物学方法,包括最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)的测定及药敏试验法。

最小抑菌浓度,即抑制细菌生长的抗菌液的最低浓度值(MIC值)。一般来说,MIC值越低,说明该物质抗病原菌的作用越强。最小抑菌浓度的测定与药敏检测联系紧密,细菌对抗菌药的敏感度通常以敏感(S)或耐药(R)来表示^[29]。药敏试验结果除了包含敏感和耐药信息外,还可以定量测定抗菌药对细菌的MIC值。MIC值的测定也可用于判断和了解菌株的具体耐药程度,进一步合理可靠地指导临床治疗用药。目前,最小抑菌浓度的测定方法针对不同的药物,可采用不同的药敏试验方法,主要包括微量肉汤稀释法、琼脂扩散法和纸片扩散法。其中,肉汤稀释法和琼脂扩散法属于标准方法。其他任何方法的可靠性必须通过与标准方法比较来实现。对于耐药菌株,被评价方法与标准方法的误差称为极

重要误差,不得大于3%;对于敏感菌株,两者的误差则称为重要误差,不得大于7%^[32]。通过体外MIC值的测定,可筛选得到一个具有应用前景的药物先导化合物。

微生物效价检测法包括稀释法、比浊法和渗透法^[33-35]。微生物效价检测法常被应用于整个药品的生产过程中。

2 生物效价检测应用领域和研究进展

大量文献报道,生物效应测定技术作为一类应用广泛、结果真实有效的半定量、定量检测方法,近年来在医药领域得到迅速发展^[1-2,30]。生物效价检测法不仅在化学药物与抗生素类药物研究方面,而且在中药研究和生化药物领域为研究者们提供了新的思路和分析手段。本文基于国内外文献资料,对生物效价在新的应用领域做简单概述。

2.1 中药研究中生物效价的应用

生物效价测定方法在中草药领域的应用研究,可以较好地反映中药材和中药的整体活性及功效,并有效地保障产品的安全质量和临床应用。近年来,中药研究中发展的生物热动力学分析方法^[2,8],可以微量、实时、在线、高效地测定不同中药与机体相互作用时产生的能量转移和热变化,同时可将中药的活性表达为特征指纹谱,又称为生物热活性谱线图(简称“热谱图”或“生物效应谱”)^[2,36]。在测定过程中建立的一系列热动力学参数和特定的数学模型,可以定性、定量地分析生物体在生长代谢过程中的相关信息。而且该方法具有专属性、灵敏性和重现性较高的特点,在一定范围内测定结果具有较强规律性,符合一定的数学模式,反映中药药量,满足生物效价检测的基本要求^[36-37]。

关于中药生物效价的检测,国内外均建立有法规。《中华人民共和国药典》2015年版新增《中药生物活性测定指导原则》^[24],为规范中药生物活性的测定和方法学建立提供了一定指导。但由于中药及其制剂成分复杂、种类繁多,目前的研究手段局限于少数成分的研究,尚不能完全控制药物质量或反映其疗效。因此,建立一个行之有效的生物学标准(评价方法与指标)是非常有必要的。对于多组分多靶点的天然药物,可以找出一个或几个主要作用靶点,在这些已知的主要靶点的基础上建立药物模型^[38-39]。在传统中药领域,部分抑菌制剂如板蓝根类、金银花类等的生物效价测定方法的建立,可得到对敏感菌株的剂量效应曲线,通过该量效关系来测定不同企业的中药效价,从而建立规范的中药品种质量标准^[36-37,40]。

2.2 生化药物中生物效价的应用

基因芯片/蛋白质芯片技术可以瞬时、快速识别药物相应的靶序列或靶蛋白,监视药物治疗反应中的基因或蛋白表达的改变,并观察药效。如文献[20]揭示的酶联免疫测定和类毒素抑制测定,是多克隆人体破伤风免疫球蛋白检测的可靠方法,这一方法与生物毒素的毒性效价检测类似。文献[8]建立了金黄色葡萄球菌噬菌体效价的测定方法,为噬菌体制剂的质量控制奠定了基础^[8]。

2.3 化学药物与抗生素类药物研究中生物效价的应用

部分化学药物与抗生素类药物,可运用理化方法和生物效价检测方法测定其效价^[41-43]。生物效价检测方法选取“相关性、重复性、灵敏性、适用性和定性定量”的原则^[44]。一般来说,用体外检测方法来鉴定化学药物与抗生素类药物较为适宜,如体外抑菌实验、体外血小板聚集实验等。如文献[45]报道的化学药物手性化合物生物效价的分析方法和对中药板蓝根进行药材品质评价方法的研究,采用的是体外定量检测方法。

在天然抗生素的发现和研究中,遵循天然药物国际化发展中应用规律,当发现天然抗菌新化合物的MIC值达到10 μg/mL或以下时,通常即可推测该类成分具有与抗生素样相同的抑菌或杀菌作用。因此,对这些抗菌活性十分强的物质进行类比于抗生素的效价测定,从而对天然产物中发现并分离的物质进行效力评价,寻找新的抗生素先导化合物,一直是学者探索研究的主要内容^[45],其对新药的研究具有重要指导意义。以《中华人民共和国药典》2015年版规定的管碟法条件为基础,从中国油用牡丹的籽饼粕中分离得到一组抗生素样物质共有几十种^[46-47],研究该芪类化合物的构效关系发现^[48],其中只有*trans-ε-Viniferin*和*Gentin H*两个化合物的反式异构体,对抗耐药菌MRSA具有强的抑菌和杀菌作用。

研究测定了两个化合物的最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)。其中,*trans-ε*-Viniferin的MIC = 8 μg/mL, Gentin H的MIC = 16 μg/mL,两者最小杀菌浓度分别为MBC < 25.6 μg/mL和MBC = 25.6 μg/mL。作为天然抗生素分子的先导化合物,对样品*trans-ε*-Viniferin和Gentin H进行检测,采用欧洲药典和美国药典所规定的方法,取万古霉素作为标准品,通过管碟法进行抗生素先导化合物*trans-ε*-Viniferin和Gentin H的生物效价定性检测。具体测算如下:

取万古霉素标品(EP)效价1 064 IU/mg作标准品,分别稀释至2 mg/mL和1 mg/mL。对应浓度的抑菌圈直径分别为12 mm和9 mm。

取供试品化合物*trans-ε*-Viniferin同样稀释至2 mg/mL和1 mg/mL。对应浓度的抑菌圈直径分别为7 mm和5 mm。

根据测量出的4点的抑菌圈直径,按下列步骤计算出检品的效价:

(I) 高低剂量的样品抑菌圈直径关系为:

$$W = (SH + UH) - (SL + UL); \quad (1)$$

$$V = (UH + UL) - (SH + SL)。 \quad (2)$$

(II) 供试品和标准品的效价比为:

$$\theta = D \times \text{anti lg} \frac{IV}{W}。 \quad (3)$$

(III) 供试品与标准品效价关系为:

$$Pr = Ar \times \theta, \quad (4)$$

式(1)~式(4)中:*SH*与*SL*分别为标准品高、低剂量的抑菌圈直径,mm;*UH*与*UL*分别为供试品高、低剂量的抑菌圈直径,mm;*D*为标准品高剂量与供试品高剂量之比,一般为1;*I*为高低剂量之比的对数,即lg 2或lg 4;*Pr*为供试品实际单位数,IU/mg;*Ar*为供试品标示量或估计单位,IU/mg。

根据式(1)~式(4)的计算,可求得化合物*trans-ε*-Viniferin的生物效价为576.58 IU/mg,化合物Gentin H的生物效价为818.54 IU/mg。

当分离的化合物*trans-ε*-Viniferin和Gentin H产生相同抗生素样效应时,通过管碟法进行了抗生素先导化合物*trans-ε*-Viniferin和Gentin H的生物效价检验,比较两个抗菌化合物效价强度可知,化合物*trans-ε*-Viniferin的效价强度应大于化合物Gentin H。该研究用管碟法进行天然抗生素新化合物效价测量的测算^[49-50],是以抗生素对微生物的抗菌效力作为效价的衡量标准,因此具有与基本原理一致、药品用量少、灵敏度高、基本操作和设计适用于各种抗生素的优点。鉴于该方法试验结果较稳定,可据此形成天然抗菌药物及抗生素先导化合物生物效价分析测定的方法。

3 结论和展望

随着现代科学技术的发展,从发现新药、新药研究,到生产中试、工艺验证和终产品的质量控制,效价检测已成为一种极其重要的手段而应用于整个药品生产过程中,从而提升药品的质量标准。例如,类似中药的质量控制和评价,一个药物品种就是一个复杂的生物体系。总之,生物效价分析方法不仅应用广泛,还可为天然生物活性物质效力测定提供接近临床疗效一致的信息。抗生素研究在初步筛选时,通过琼脂扩散法即对效能进行测定,可得到对于特定细菌具有抑制生长作用的抗菌活性物质,之后再进一步对此物质进行效力评价。据报道,国内外也有大量类似于这一方面的研究,而对于天然产物抗菌素先导物的效价强度测定,至今未见文献报道。随着高效液相色谱法等化学分析技术的应用发展,部分抗生素类药物的效价测定可通过化学分析法来实现。生物检定法能够更直观、特异性地反映出抗生素类药物的抗菌活性。由于某些抗生素类药物制剂组分复杂多样,其分子结构与生物活性组分之间存在差异,化学分析方法难以准确地表征其组分、含量和生物活性间的关系。目前新发现的许多抗生素品种,没有适当的化学分析方法可以表征其活性。鉴于以上常见情况,生物检定法测定效价仍然是不可取代的。

本文通过对生物效价检测方法综述并分析应用发展趋势,提出生物效价检测在天然药物国际化发展中应用的新思路,以期建立符合天然药物特点的评价指标技术体系。

参考文献:

- [1] ZHANG H, LIU D, ZHANG D, et al. Quality assessment of panax notoginseng from different regions through the analysis of marker chemicals, biological potency and ecological factors[J]. PLoS one, 2016, 11(10): e0164384.
- [2] 孙婷婷, 马晓慧, 李欣欣, 等. 中药生物效价研究现状及开发思路探讨[J]. 中草药, 2017, 48(9): 1906 - 1911.
- [3] 郑敏霞, 沈洁, 丰素娟. 生物效价检测研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(6): 511 - 514.
- [4] 魏东, 谢安平, 陈成, 等. 金黄色葡萄球菌噬菌体效价测定方法的建立[J]. 中国医药生物技术, 2017, 12(3): 277 - 279.
- [5] QIAN Z Z, YANG D, LIU Y Z, et al. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2010 edition): a milestone in development of China's healthcare[J]. Chinese herbal medicines, 2010, 2(2): 157 - 160.
- [6] 江燕, 张力跃, 杨高潮, 等. 粗品肝素钠质量情况和效价范围的判断[J]. 氨基酸和生物资源, 2000, 22(2): 16 - 18.
- [7] 韩宁宁, 徐娜, 于丽娜, 等. 盐霉素效价测定的方法优化[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(2): 93 - 95.
- [8] 樊金, 刘雪慧, 郭梦娇, 等. C型产气荚膜梭菌类毒素疫苗的制备及抗体效价研究[J]. 山东农业科学, 2015, 47(10): 95 - 98, 101.
- [9] 尧荣凤, 李智, 薛龙, 等. 综合性医院金黄色葡萄球菌的分布及耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(9): 695 - 699.
- [10] 黄维, 朱红萍, 王彪, 等. 广藿香酮衍生物的合成以及抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(5): 353 - 359.
- [11] 杨海智, 马海霞, 杨信东. 国内关于半数致死量及类似生物效应指标测算方法研究进展[J]. 国外医药(抗生素分册), 2012, 33(2): 62 - 66.
- [12] ARASU M V, DURAI PANDIYAN V, IGNACIMUTHU S. Antibacterial and antifungal activities of polyketide metabolite from marine *Streptomyces* sp. AP-123 and its cytotoxic effect[J]. Chemosphere, 2013, 90(2): 479 - 487.
- [13] LIU Z, SHI Z, TU C, et al. An activity-calibrated chemical standardization approach for quality evaluation of *Salvia miltiorrhiza* Bge. [J]. RSC advances, 2017, 7(9): 5331 - 5339.
- [14] 王建权, 徐建中, 俞旭平, 等. 基于生物效价检测和高效液相色谱法的中药莪术及其炮制品品质评价的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(3): 176 - 179.
- [15] 刘书显. 基于生物效价检测和化学成分分析的人面子叶质量评控研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2014.
- [16] 谭鹏, 张海珠, 张定堃, 等. 基于化学表征和生物效价检测的大黄配方颗粒质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(14): 2683 - 2690.
- [17] 张海珠, 谭鹏, 刘振杰, 等. 基于活血生物效价和化学指纹图谱的大黄品质评价研究[J]. 药学学报, 2017, 52(3): 436 - 442.
- [18] MOLONEY M G. Natural products as a source for novel antibiotics[J]. Trends in pharmacological sciences, 2016, 37(8): 689 - 701.
- [19] GROSS S, JANSSEN S W, DE V B, et al. Collaborative study for the validation of alternative in vitro potency assays for human tetanus immunoglobulin[J]. Biologicals, 2010, 38(4): 501 - 510.
- [20] 李德培. 抗生素的效价剂量标示量及其相互关系[J]. 兽药与饲料添加剂, 2001, 6(2): 9 - 10.
- [21] 王家葵, 李傲, 王慧, 等. 正品大黄不同品种间泻下效价强度比较研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1987 - 1991.
- [22] 戴体俊. 麻醉用药的效能和效价强度[J]. 临床麻醉学杂志, 1995, 23(2): 85 - 86.
- [23] 苏冰, 耿穗娜, 杜本军. 10种抗菌药物对2种产ESBLs的肠杆菌科细菌效价分析比较[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(7): 711, 727.
- [24] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 二部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 附录 93 - 98.
- [25] COS P, VLIETINCK A J, BERGHE D V, et al. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept' [J]. Journal of ethnopharmacology, 2006, 106(3): 290 - 302.
- [26] WAGATE C G, MBARIA J M, GAKUYA D W, et al. Screening of some kenyan medicinal plants for antibacterial activity [J]. Phytotherapy research, 2009, 24(1): 150 - 153.
- [27] KLANCNIK A, PISKERNIK S, JERSEK B, et al. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts[J]. Journal of microbiological methods, 2010, 81(2): 121 - 126.
- [28] MOTHANA R A, LINDEQUIST U, GRUENERT R, et al. Studies of the in vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant potentials of selected Yemeni medicinal plants from the island Soqatra[J]. Bmc complementary & alternative medicine,

- 2009,9(1):7-10.
- [29] 樊梦霖,余伯阳,顾觉奋.海洋微生物抗菌活性物质研究进展[J].国外医药(抗生素分册),2014,35(4):145-148.
- [30] PATRA J K,MOHANTA Y K. Antimicrobial compounds from mangrove plants;a pharmaceutical prospective[J]. Chinese journal of integrative medicine,2014,20(4):311-320.
- [31] LIU Y,LI J,DU J,et al. Accurate assessment of antibiotic susceptibility and screening resistant strains of a bacterial population by linear gradient plate[J]. Science China(life sciences),2011,54(10):953-960.
- [32] 布红丽,杨顺利,智霞萍,等.分枝杆菌微量药敏测定与罗氏绝对浓度法药敏测定的比较研究[J].山西医药杂志,2011,40(9):855-856.
- [33] SILVA O,DUARTE A,CABRITA J,et al. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies[J]. Journal of ethnopharmacology,1996,50(1):55-59.
- [34] 沈涛.三种没药中次生代谢产物的分离鉴定、活性评价及微生物转化[D].济南:山东大学,2009.
- [35] 佟斌,吴兆亮,殷昊,等.比浊法快速测定硫酸多黏菌素E效价[J].中国抗生素杂志,2007,32(5):300-302.
- [36] 肖小河,金城,赵中振,等.论中药质量控制和评价模式的创新与发展[C]//第三届世界中西医结合大会.第三届世界中西医结合大会论文摘要集,2007.
- [37] 李寒冰.板蓝根质量生物评价与控制方法的研究及应用[D].成都:成都中医药大学,2009.
- [38] 钟灵允,王兰,单体江,等.多孔板-MTT比色法评价植物和微生物代谢产物的抗真菌活性[J].天然产物研究与开发,2012,24(1):20-24.
- [39] GERTSCH J. How scientific is the science in ethnopharmacology historical perspectives and epistemological problems[J]. Journal of ethnopharmacology,2009,122(2):177-183.
- [40] 赵云生,谢丽霞,毛福英,等.基于平喘生物效价的麻黄品质评价研究[J].中草药,2015,46(24):3695-3703.
- [41] 金杰,郝燕,何建勇. BP神经网络在抗生素效价测定中的应用[J].哈尔滨工程大学学报,2006,27(s1):567-569.
- [42] LOKE M L,INGERSLEV F,HALLINGS-SØRENSEN B,et al. Stability of Tylosin A in manure containing test systems determined by high performance liquid chromatography[J]. Chemosphere,2000,40(7):759-765.
- [43] YFF B T S,LINDSEY K L,TAYLOR M B,et al. The pharmacological screening of *Pentanisia prunelloides*, and the isolation of the antibacterial compound palmitic acid[J]. Journal of ethnopharmacology,2001,79(1):101-107.
- [44] 魏丽,李远,李寒冰,等.基于抗菌效价检测的板蓝根药材品质评价方法的研究[J].世界科学技术(中医药现代化),2008(2):33-36.
- [45] MULLER P Y,NETSCHER T,FRANK J,et al. Comparative quantification of pharmacodynamic parameters of chiral compounds (RRR-vs. all-rac-alpha tocopherol) by global gene expression profiling[J]. Journal of plant physiology,2005,162(7):811-817.
- [46] LIU P,WANG Y,GAO J,et al. Resveratrol trimers from seed cake of *Paeonia rockii*[J]. Molecules,2014,19(12):19549-19556.
- [47] 刘普,牛亚琪,邓瑞雪,等.紫斑牡丹籽饼粕低聚芪类成分研究[J].中国药学杂志,2014,49(12):1018-1021.
- [48] LI H,YIN W,LIU P,et al. Oligostilbenoids investigation of structure-activity relationship with chemical biology information [C]//Seventh International Conference on Measuring Technology and Mechatronics Automation. IEEE,2015:716-718.
- [49] 李文渊,姜亚玲,邓瑞雪,等.昆虫提取物的抗菌活性研究[J].国外医药(抗生素分册),2012,33(1):30-33.
- [50] LAN L N,JIA Y G,HAI D L,et al. Novel skeleton compound *Allomyrinanoid A* and two purine alkaloids from the adult of *Allomyrina dichotoma* L. [J]. Bioorganic & medicinal chemistry letters,2016,26(2):366-369.