

雪灵芝不同提取物的生物活性*

刘笑笑¹ 万振江¹ 邓小波² 石林¹ 卢晓霞^{1**}

(¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

(²四川博力科技药业有限公司 成都 610036)

摘要 采用蛋白酪氨酸磷酸酯酶(PTP1B)、二肽基肽酶(DPP-IV)、 α -葡萄糖苷酶-rat(α -glucosidase-rat)、MCF-7/ADR肿瘤耐药细胞增敏、肿瘤细胞毒活性(HepG2肝癌细胞)、骨髓有核细胞增殖等模型,对雪灵芝水提物、醇提物和市售的雪灵芝营养口服液分别进行体外免疫调节、抗肿瘤、糖尿病等活性筛选。结果表明:雪灵芝水提物、醇提物和营养口服液均对蛋白酪氨酸磷酸酯酶/PTP1B模型呈阳性,对其余5种模型呈阴性,说明蛋白酪氨酸磷酸酯酶(PTP1B)模型可以作为雪灵芝有效部位的活性跟踪模型。表6 参16

关键词 雪灵芝;水提物;醇提物;口服液;生物活性

CLC R965.1

*In Vitro Bioactivity of Different Extracts from Arenaria kansuensis Maxim**

LIU Xiaoxiao¹, WAN Zhenjiang¹, DENG Xiaobo², SHI Lin¹ & LU Xiaoxia^{1**}

(¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

(²Sichuan Boli Science & Technology Pharmaceutical Co. Ltd., Chengdu 610036, China)

Abstract Biological activities of aqueous extract and ethanol extract from *Arenaria kansuensis* Maxim, as well as the commercial available oral nutritional liquid, were screened by a variety of *in vitro* models including proliferative effects on protein tyrosine phosphatase, dipeptidyl peptidase IV, inhibition of α -glucosidase, enhancement of sensitivity of drug-resistant MCF-7/ADR tumor cells, anti-tumor cytotoxic activities on HepG2 liver carcinoma cells and marrow cells were evaluated. The results indicate that all the samples tested exhibit inhibition on protein tyrosine phosphatase, whereas no obvious effects were observed on the other models. In conclusion, the active components of *A. kansuensis* can be traced by the protein tyrosine phosphatase model. Tab 6, Ref 16

Keywords *Arenaria kansuensis* Maxim; aqueous extract; alcohol extract; biological activities

CLC R965.1

雪灵芝是石竹科蚤缀属甘肃蚤缀植物,生长在青藏高原海拔约4 000~5 000 m左右的高山草甸和石缝中,是一种珍贵的野生藏药资源,具有清热、解毒、止咳、降血压和抗缺氧的功效,能治疗各种肺炎和肺病,被广泛记载于多部医学典籍中^[1~4]。雪灵芝化学成分的研究表明其含有苯丙素、生物碱、香豆素、甾体类、三萜及三萜皂苷、黄酮、糖类、环肽、氨基酸和维生素A、D、E等多种化学成分^[5~11]。近年来,已有一定的药理实验研究表明雪灵芝具有多种生物活性,主要包括免疫调节、促进消化、抗肿瘤、抗自由基、抗菌等生物学活性^[12~15]。但遗憾的是,具体是哪些成分有效,哪些无效,对于雪灵芝来说都还不明确。此外研究方法多集中在体内生物活性筛选,而对体外生物活性筛选关注较少。为有针对性地找出有效部位,须确定每种病症筛选模型,进行有效部位的活性跟踪。我们选用蛋白酪氨酸磷酸酯酶(PTP1B)、二肽基肽酶(DPP-IV)、 α -葡萄糖苷酶-rat(α -glucosidase-rat)、MCF-7/ADR肿瘤耐药细胞增敏、肿瘤细胞毒活性(HepG2肝癌细胞)、骨髓有核细胞增殖等靶点或者模型,对雪灵芝水提液、醇提液和市售的雪灵芝营养口服液进行免疫调节、抗肿瘤、糖尿病等活性筛选,以便确定有效部位活性跟踪的筛

选模型,同时为雪灵芝的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

药品和试剂:谷胱甘肽Sepharese 4B购自Pharmacia公司;对-硝基苯基磷酸二钠(pNPP)为Sigma产品;pGEXPTP1B表达质粒(地奥集团药物筛选中心);胰蛋白酶、四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)为Amresco公司产品;葡萄糖苷酶(Sigma, G-0660);阿霉素(Adriamycin, ADM)为浙江海正药业产品;葡萄糖检测试剂(南京建成公司);二肽基肽酶DPP-IV(Sigma);HBsAg、HBeAg、ELISA检测试剂盒为上海荣盛生物技术有限公司,批号分别为20070202和20070407;拉米呋啶片(国药试字2000004,葛兰素史克制药有限公司,中国苏州,批号03010041);HepG2肝癌细胞,购自北京大学医学院第一附属医院病毒研究所;细胞培养基RPMI1640为Gibco BRL产品;胎牛血清(FBS)购自杭州四季青生物工程材料有限公司;其它试剂均为国产分析纯试剂。仪器及耗材:酶标仪(Beckmark, BIORAD公司生产);高速冷冻离心机(Allegra64R, Beckman公司产品);智能双臂系统自动工作台(Biomek FX, Beckman公司)以及操作软件(Biomek FX),SEPBOX light制备色谱自动工作台(MERCK HITACHI),96孔样品储存盒及96孔微量板(Beckman产品)。二氧化碳培养箱(MCO3/15AC,日本三洋);倒置显微镜

收稿日期:2010-01-06 接受日期:2010-03-01

*中国科学院知识创新工程项目资助 Supported by the Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: luxx@cib.ac.cn)

(XSB3/IA, 上海); 超净工作台(天津尘埃净化设备厂). 雪灵芝和市售的雪灵芝营养口服液由四川博力科技药业有限公司提供.

1.2 方法

1.2.1 雪灵芝水提法 去土称取阴干雪灵芝全草50 g剪碎, 以6倍量蒸馏水浸泡30 min后加热回流提取1 h, 过滤得第一次水提取物, 将滤渣用同样方法得第二次、第三次水提取物, 合并3次滤液, 浓缩干燥得雪灵芝水提取物.

1.2.2 雪灵芝乙醇提法 去土称取阴干雪灵芝全草50 g剪碎, 以6倍量的70%乙醇加热回流提取1 h, 过滤得第一次乙醇提取物, 将滤渣用同样方法回流得第二次、第三次乙醇提取物, 合并3次滤液, 减压蒸馏除去乙醇, 得到雪灵芝醇提取物.

1.2.3 蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制剂筛选实验 200 μ L反应体系中含PTP-1B(重组表达)、100 mmol/L醋酸钠缓冲液(含1 mmol/L EDTA, 0.1% Triton-X-100, 15 mmol/L β -巯基乙醇, pH 6.0)和样品, 同时设立空白对照(不含酶和样品)和阴性对照(不含样品), 37 $^{\circ}$ C反应10 min, 加入蛋白质酪氨酸磷酸酶底物pNPP, 37 $^{\circ}$ C再反应30 min, 加入1 mol/L NaOH终止反应, 405 nm测定OD值. 根据OD值计算抑制率, 抑制率 = $[1 - (\text{OD样品} - \text{OD正常}) / (\text{OD模型} - \text{OD正常})] \times 100$. 初筛时每个样品单浓度设双复孔, 抑制率大于70%的样品测定IC₅₀值, 每个样品梯度稀释6个浓度, 每个浓度设双复孔. 根据抑制率, 应用Xlfit软件中的4 Parameter Logistic Model计算IC₅₀.

1.2.4 二肽基肽酶(DPP-IV)抑制剂筛选实验 200 μ L反应体系中含二肽基肽酶DPP-IV(Sigma)、25 mmol/L HEPES缓冲液(含140 mmol/L NaCl, 1% BSA, 80 mmol/L MgCl_2)和样品, 同时设立空白对照(不含酶和样品)和阴性对照(不含样品), 室温反应10 min, 加入二肽基肽酶底物GLY-PRO-GLY-GLY, 室温反应25~40 min, 测定荧光强度 F , 激发波长355 nm, 发射波长460 nm. 根据荧光强度 F 值计算抑制率, 抑制率 = $[1 - (F\text{样品} - F\text{空白}) / (F\text{阴性} - F\text{空白})] \times 100$. 初筛时每个样品单浓度设双复孔, 抑制率大于50%的样品进行假阳性排除实验, 确证为阳性的测定IC₅₀值, 测定时每个样品梯度稀释6个浓度, 每个浓度设双复孔. 根据抑制率, 应用Xlfit软件中的4 Parameter Logistic Model计算IC₅₀.

1.2.5 α -葡萄糖苷酶-rat(Alpha-glucosidase-rat)抑制剂筛选实验 100 μ L反应体系中含0.02 U葡萄糖苷酶(Sigma, G-0660)或适量哺乳动物来源的葡萄糖苷酶(由大鼠小肠组织中提取)、67 nmol/L磷酸钠缓冲液(pH 6.8)和样品, 同时设立空白对照(不含酶和样品)和阴性对照(不含样品), 37 $^{\circ}$ C反应10 min, 加入0.1 mol/L麦芽糖, 室温反应10 min, 再加入200 μ L的葡萄糖检测试剂, 混匀后490 nm测定OD值. 根据OD值计算抑制率, 抑制率 = $[1 - (\text{OD样品} - \text{OD空白}) / (\text{OD阴性} - \text{OD空白})] \times 100$. 初筛时每个样品单浓度设双复孔, 抑制率大于70%的样品测定IC₅₀值, 每个样品梯度稀释6个浓度, 每个浓度设双复孔. 根据抑制率, 应用Xlfit软件中的4 Parameter Logistic Model计算IC₅₀.

1.2.6 MCF7/ADR肿瘤耐药细胞增敏筛选实验 取处于对数生长期的K562/A02细胞和K562细胞, 稀释成 3×10^5 个/mL的细胞悬液. 以每孔200 μ L接种到96孔培养板, 分别加入浓度为

100、10 mg/L的ADM, 倍比稀释8个浓度, 同时设立空白(未加药)组, 置37 $^{\circ}$ C、5% CO₂的培养箱中培养48 h后, 每孔加入5g/LMTT 20 μ L, 继续培养4 h, 弃去各孔内的液体, 每孔加入DMSO 150 μ L, 振荡10 min后, 酶标仪540 nm处测定吸光度A. 按公式计算细胞增殖抑制率: 增殖抑制率 = $(1 - \text{实验A} / \text{对照孔A}) \times 100$. 初筛时每个样品单浓度设双复孔, 样品生长抑制率介于-10%~30%, 且增敏强度大于阳性对照verapamil增敏强度90%的样品复筛, 复筛为阳性测定IC₅₀值和逆转倍数.

1.2.7 肿瘤细胞毒活性(HepG2肝癌细胞)实验 HepG2肝癌细胞接种于96孔板, 培养过夜, 加入样品(T), 同时做不加样品对照(C)和加药前对照(T₀). 加药前对照(T₀)的细胞加入TCA进行固定, 留置待用. 加入样品(T)和不加样品对照(C)的细胞继续培养48 h后再固定. 所有固定好的细胞以SRB染液染色, 再用醋酸溶液洗去游离的染料, 空气干燥后加入 Tris碱, 振荡溶解混匀后490 nm测定OD值. 根据OD值计算生长率, 如果 $T \geq T_0$, 生长率 = $(T - T_0) / (C - T_0) \times 100$; 如果 $T < T_0$, $(T - T_0) / T_0 \times 100$. 初筛时每个样品单浓度设双复孔, 重复两次, 生长率小于50%的样品测定GI₅₀值, 测定时每个样品梯度稀释5个浓度, 每个浓度设双复孔.

1.2.8 骨髓有核细胞增殖实验 颈椎脱臼法处死小鼠, 取出大腿股骨, 剪去两端骨垢, 用冰预冷的1640培养基将骨髓细胞从骨髓腔完全吹出, 用400目尼龙网过滤, 加入冰预冷的红细胞裂解液, 静置8 min后离心, 1 000 g 5 min 4 $^{\circ}$ C, 用培养基重悬细胞, 再重复离心两次. 用培养基重悬细胞, 接种于24孔板, 20 $\times$ 10⁴个/孔, 接种后即加入样品, 同时做不加样品对照. 培养5 d后以MTT染色法检测 $D_{570\text{ nm}}$ 、 $D_{630\text{ nm}}$ 吸光值. 根据OD值计算药物促进细胞生长的增殖率, 增殖率 = $[(D_{570\text{ nm}} - D_{630\text{ nm}}) / (D_{570\text{ nm}} - D_{630\text{ nm}})_{\text{正常对照}} - 1] \times 100$. 初筛时每个样品单个浓度设双复孔, 增殖率大于50%的样品复筛, 复筛时每个样品梯度稀释3个浓度, 每个浓度设双复孔.

2 结果与分析

2.1 蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂筛选实验

蛋白酪氨酸磷酸酶1B是蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)家族中的一员, 在胰岛素信号转导途径中发挥重要作用. 近年来研究发现, PTP-1B与2型糖尿病的发生、发展有密切关系. 应用大肠杆菌表达系统, 采用重组表达GST-PTP1B融合蛋白, 表达得到PTP-1B重组蛋白, 以对-硝基苯基磷酸二钠(pNPP)为底物观察样品对酶的活性抑制, 以评价样品的抑制效果. 采用的阳性参照化合物为Soduim Orthorandate. 表1结果表明, 100 μ g/mL浓度下雪灵芝水提物、醇提物和口服液体外直接与蛋白酪氨酸磷酸酶1B作用, 与同等剂量对照组Soduim Orthorandate相比, 对蛋白酪氨酸磷酸酶1B具有抑制作用. 雪灵芝水提物、醇提物和口服液的IC₅₀值(μ g/mL)分别为0.94、1.35和0.56.

2.2 二肽基肽酶(DPP-IV)抑制剂筛选实验

由Sigma购买二肽基肽酶(DPP-IV), 以GLY-PRO-GLY-GLY为底物检测DPP-IV活性. 观察样品对酶的活性抑制, 以评价样品的抑制效果. 采用的阳性参照化合物为KR-62436. 表2结果表明, 100 μ g/mL浓度下的雪灵芝水提物、醇提物和口服液体外直接与二肽基肽酶作用, 与0.3 μ g/mL浓度下的对

表1 雪灵芝水提物、醇提物和口服液对蛋白质酪氨酸磷酸酶抑制活性的影响

Table 1 Inhibitory effects of aqueous extract, alcohol extract from *A. kansuensis* and the commercial available oral nutritional liquid on protein tyrosine phosphatase

模型名称 Model	样品名称 Sample	抑制率(<i>r</i> /%) Inhibition	最大抑制率(<i>r</i> /%) Maximum Inhibition	IC50 ($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$)	浓度($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$) Concentration
M-PTP1B	水提物 Aqueous extract	110.68	103.64	0.94	100.00
	醇提物 Alcohol extract	94.99	90.87	1.35	100.00
	口服液 Oral nutritional liquid	98.70	97.07	0.56	100.00
	Soduim Orthorandate	101.00	96.38	9.10	100.00

表2 雪灵芝水提物、醇提物和口服液对二肽基肽酶 (DPP-IV) 抑制活性的影响

Table 2 Inhibitory effects of aqueous extract, alcohol extract from *A. kansuensis* and the commercial available oral nutritional liquid on dipeptidyl peptidase IV

模型名称 Model	样品名称 Sample	抑制率(<i>r</i> /%) Inhibition	浓度($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$) Concentration
M-DPPIV	水提物 Aqueous extract	20.52	100.00
	醇提物 Alcohol extract	15.81	100.00
	口服液 Oral nutritional liquid	34.49	100.00
	KR-62436	72.25	0.3

表3 雪灵芝水提物、醇提物和口服液对 α -葡萄糖苷酶-rat (Alpha-glucosidase-rat) 抑制活性的影响

Table 3 Inhibitory effects of aqueous extract, alcohol extract from *A. kansuensis* and the commercial available oral nutritional liquid on α -glucosidase-rat

模型名称 Model	样品名称 Sample	抑制率(<i>r</i> /%) Inhibition	浓度($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$) Concentration
M- α -Glucosidase-rat	水提物 Aqueous extract	17.43	100.00
	醇提物 Alcohol extract	18.41	100.00
	口服液 Oral nutritional liquid	16.38	100.00
	Voglibose	101.87	100.00

照组KR-62436相比,对二肽基肽酶具有一定的抑制作用,但其抑制作用远远小于阳性参照化合物KR-62436.

2.3 α -葡萄糖苷酶-rat (Alpha-glucosidase-rat) 抑制剂筛选实验

由大鼠小肠组织中提取 α -葡萄糖苷酶,以麦芽糖为底物检测 α -葡萄糖苷酶活性.观察样品对酶的活性抑制,以评价样品的抑制效果.采用的阳性参照化合物为Voglibose.表3结果表明,100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下的Voglibose与同等剂量雪灵芝水提物、醇提物和口服液对 α -葡萄糖苷酶抑制率比较,雪灵芝水提物、醇提物和口服液对 α -葡萄糖苷酶具有一定的抑制作用,但是其抑制作用远远小于阳性参照化合物Voglibose.

2.4 MCF7/ADR肿瘤耐药细胞增敏筛选实验

采用无毒剂量阿霉素培养MCF7/ADR细胞,以SRB染色法检测细胞活力,观察细胞增殖抑制的程度,评价样品对阿霉素处理耐药细胞株的增敏效果.采用的阳性参照化合物为维拉帕米 (Verapamil).表4结果表明,100.00 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下的雪灵芝水提物、醇提物和口服液体外直接与MCF7/ADR肿瘤耐药细胞作用,与2.45 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下的对照组Voglibose相比,雪灵芝水提物、醇提物和口服液对MCF7/ADR肿瘤耐药细胞无明显的敏感性,且对MCF7/ADR肿瘤耐药细胞均无明显的

抑制作用.

2.5 抗肿瘤活性筛选实验

以SRB染色法检测细胞活力,观察样品对肿瘤细胞增殖的影响,以评价样品的抗肿瘤效果.采用的阳性参照化合物为紫杉醇 (Taxol).表5结果表明,100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的雪灵芝水提物、醇提物和口服液体外直接与HepG2肝癌细胞作用,与10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的对照组Taxol相比,雪灵芝水提物、醇提物和口服液对HepG2肝癌细胞均无明显的抑制作用.

2.6 骨髓有核细胞增殖实验

以MTT染色法检测小鼠骨髓有核细胞活力,观察样品对细胞增殖的影响,以评价样品的免疫调节效果.采用的阳性参照化合物为SX0072-3.表6结果表明,在100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下,雪灵芝水提物、醇提物和口服液体外直接与骨髓有核细胞作用,与同等剂量对照组SX0072-3相比,雪灵芝水提物和醇提物均不能促进细胞增值,对骨髓有核细胞增殖反应成抑制作用.雪灵芝口服液虽然对骨髓有核细胞有一定的增值作用,但是与阳性参照化合物相比,其作用也是微乎其微.

3 结论

雪灵芝为石竹科蚤缀属植物,具有重要的生理功能和

表4 雪灵芝水提物、醇提物和口服液对MCF7/ADR肿瘤耐药细胞增敏的影响

Table 4 Effects of aqueous extract and alcohol extract from *A. kansuensis* and the commercial available oral nutritional liquid on enhancement of sensitivity of drug-resistant MCF-7/ADR tumor cells

模型名称 Model	样品名称 Sample	相对增敏率(<i>r</i> /%) Relative Sensitization Rate	样品生长抑制率(<i>r</i> /%) Growth Inhibition	浓度($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$) Concentration
T-MCF7-ADR	水提物 Aqueous extract	-41.61	-93.17	100.00
	醇提物 Alcohol extract	-67.83	-163.43	100.00
	口服液 Oral nutritional liquid	-3.86	-85.28	100.00
	Verapamil	12.77	22.26	2.45

表5 雪灵芝水提物、醇提物和口服液对肿瘤细胞毒活性 (HepG2肝癌细胞) 的影响

Table 5 Anti-tumor cytotoxic activities of aqueous extract and alcohol extract from *A. kansuensis* and the commercial available oral nutritional liquid on HepG2 liver carcinoma cells

模型名称 Model	样品名称 Sample	生长率(<i>r</i> /%) Growth Rate	浓度($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$) Concentration
T-Cytotoxicity	水提物 Aqueous extract	120.29	100.00
	醇提物 Alcohol extract	105.64	100.00
	口服液 Oral nutritional liquid	105.79	100.00
	Taxol	17.84	10.00

表6 雪灵芝水提物、醇提物和口服液对骨髓有核细胞增殖反应的影响

Table 6 Effects of aqueous extract and alcohol from *A. kansuensis* and the commercial available oral liquid suspension oral nutritional liquid on α -glucosidase-rat

模型名称 Model	样品名称 Sample	抑制率(<i>r</i> /%) Inhibition	浓度($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$) Concentration
骨髓有核细胞增殖	水提物 Aqueous extract	-15.65	100.00
	醇提物 Alcohol extract	-22.39	100.00
	口服液 Oral nutritional liquid	13.30	100.00
	SX0072-3	91.31	100.00

生物学活性. 化学研究表明, 雪灵芝含有三萜及其皂甙、生物碱 (B-咔波琳)、多糖、黄酮、苯丙素、甾体及丰富的氨基酸、维生素和微量元素. 近年来, 三萜皂苷在抑制肿瘤、免疫调节、抗病毒、抗菌等方面的生物活性引起了研究人员的广泛关注, 在石竹科蚤缀属植物中发现了21个三萜皂苷化合物, 其中19个为新化合物^[16]. 环肽类化合物也因其诸如抗肿瘤、抗病毒、抗菌、免疫调节等多样生理活性逐渐成为石竹科蚤缀属药用植物的一个研究热点^[12]. 目前对雪灵芝药理作用的研究还多停留在粗提物上, 深入探讨其有效的化学成分及药理作用机制, 对进一步开发和利用雪灵芝具有重要的意义. 我们采用蛋白酪氨酸磷酸酯酶 (PTP1B)、二肽基肽酶 (DPP-IV)、MCF-7/ADR肿瘤耐药细胞增敏、 α -葡萄糖苷酶-rat (α -glucosidase-rat)、肿瘤细胞毒活性 (HepG2肝癌细胞) 和骨髓有核细胞增殖模型, 对雪灵芝水提物、醇提物和市售的雪灵芝营养口服液分别进行体外免疫调节、抗肿瘤、糖尿病等活性筛选. 研究发现雪灵芝水提物、醇提物和口服液均对蛋白酪氨酸磷酸酯酶 (PTP1B) 模型呈阳性, 说明蛋白酪氨酸磷酸酯酶 (PTP1B) 模型可以作为有效部位的活性跟踪模型. 利用体外筛选模型的快速和方便, 通过活性追踪目标分子, 指导有效部位的分离纯化工作, 减少盲目性.

References

1

Jiangsu New Medical College (江苏新医学院). Dictionary of Chinese Materia Medica. Shanghai, China: Shanghai Scientific and Technical Publishers (上海: 上海科技出版社), 1986

2

Wu ZY (吴征镒). Flora of Tibetan (Vol. I). Beijing, China: Science Press (北京: 科学出版社), 1983. 670~679

3

Chao XD (曹熙德). Research and development of Xue Lingzhi. Bull Chin Cancer (中国肿瘤), 2001, 10 (4): 227~229

4

Qinghai Institute for Drug Control (青海省药品检验所). Chinese Tiabetan Medicine (Vol. 1). Shanghai, China: Shanghai Scientific and Technical Publishers (上海科技出版社), 1996. 235

5

Wu FE, Kazuo K, Tamotsu N, Yohko S, Taichi O, Keiji I. New β -carboline alkaloids from a chinese medicinal plant, *Arenaria kansuensis* structures of arenarines A, B, C, and D. Chem Pharm Bull, 1989, 37 (7): 1808~1809

6

Wu FE, Koike K, Tamotsu N, Kiyoshi I, Taichi O, Keiji I. Terpenoids and flavonoids from *Arenaria kansuensis*. Chem Pharm Bull, 1990, 38: 2281~2282

7

Su F (苏甫), Wang HY (王化远). The glycoside martynoside by 2D NMR techniques. J Sichuan Univ Nat Sci (四川大学学报自然科学版), 2004, 41: 676~679

8

Liu XX (刘小雪), Tian ZM (田忠梅), Ye JC (叶建春), Wang XM (王晓铭). Wang HY (王化远), Zeng R (曾嵘). Determination of ferulic acid from Xue Lingzhi. West China J Pharm Sci (华西药科学杂志), 2001, 16 (3): 222~223

9

Liao ZK (廖周坤), Jiang JZ (姜继祖), Wang HY (王化远), Ye YR (叶亚润), Zhou XF (周学福), Zeng GP (曾广平). Research on SFE-CO₂ total saponins and polysaccharide from tibetan medicine Xue Lingzhi. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1998, 29 (9): 601~602

10

Peng BZ (彭宝珠), Zhang YH (张宇红). Review of *Arenaria* L. plant in rencent 10 years. J Qinghai Medical Coll (青海医学院学报), 1992, 13 (1): 46~47

11

Cheng L (成丽), Wu XX (伍贤学), Huang H (黄浩), Wu WB (吴维碧). Triterpenoid saponins from *Arenaria* L. plants. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2004, 35 (9): 1076~1077

12

Jia AQ, Tan NH, Zhao YX, Zhao YX, Li N. Two new Cyclopeptides from *Arenaria oreophila* (Caryophyllaceae). Helv Chim Acta, 2003, 86 (3): 756~759

13

Feng WL (冯伟力), Wang LY (王利彦), Peng BZ (彭宝珠), Li LY (李莉英), Meng GY (孟广义), Wang GX (王国兴). Toxicology study on tibetan medicine Xue Lingzhi. J Qinghai Medical Coll (青海医学院学报), 1990, 2: 106~108

14

Su HW (苏红卫), Xue WG (徐维光), Liu JX (刘军祥), Yang Y (杨艳), Chen R (陈润). Antioxidant effection of Xue Lingzhi. J Luzhou Medical Coll (泸州医学院学报), 2002, 25: 371~374

15

Bao M (鲍敏), Mi Q (米琴), Zeng Y (曾阳). In vitro bacteriostasis study of the different extracts from the Tibetan herb *Arenaria kansuensis* Maxim. J Qinghai Norm Univ Nat Sci (青海师范大学学报自科版), 2005 (4): 87~89

16

Lei N (雷宁), Zhang WS (张文山), Du SS (杜树山). 蚤缀属植物的种群分布、化学及药理研究进展. Chin J Information Trad Chin Med (中国中医药信息杂志), 2004, 11 (10): 929~930