

# 基于中药血清药物化学及血清药理学方法探讨 荜苳保护心肌细胞氧化损伤的物质基础

李月婷, 李靖, 肖婷婷, 陈慧, 王永林\*

(贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的:应用中药血清药物化学及血清药理学方法探讨荜苳保护 H9c2 心肌细胞氧化损伤的物质基础。方法:通过比较荜苳提取液、给药后含药血清和空白血清的超高效液相色谱(UPLC)指纹图谱,寻找荜苳的入血成分;建立体外培养的 H9c2 心肌细胞 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化损伤模型,以荜苳含药血清对氧化损伤心肌细胞存活率、乳酸脱氢酶(LDH)漏出率、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活力的影响为评价指标,并采用吖啶橙(AO)和溴化乙锭(EB)双荧光染色法观察荜苳含药血清对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化损伤的心肌细胞形态学的影响,研究荜苳含药血清对氧化损伤心肌细胞的保护作用。结果:灌胃给予荜苳提取液后,从大鼠血清中发现 25 个移行成分,其中有 9 个为荜苳中的原型成分,16 个可能为其在体内转化的代谢产物;与模型组相比,荜苳含药血清各剂量组能明显降低氧化损伤心肌细胞 LDH 漏出率、MDA 含量( $P < 0.05$ ),显著升高 T-SOD 活性和细胞存活率( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),有效抑制细胞凋亡。结论:荜苳含药血清中的移行成分及其代谢产物可能是荜苳保护心肌细胞氧化损伤的物质基础。

**[关键词]** 荜苳; 血清药理学; 血清药物化学; H9c2 心肌细胞; 氧化损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0158-05

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121107.1341.010.html>

**[网络出版时间]** 2012-11-7 13:41

## Research on Material Basis of *Polygonum orientale* Protecting H9c2 Cells against Oxidative Injury Based on Traditional Chinese Medicine Serum Chemical and Serum Pharmacological Methods

LI Yue-ting, LI Jing, XIAO Ting-ting, CHEN Hui, WANG Yong-lin\*

(School of Pharmacology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the material basis of *Polygonum orientale* protecting cardiac H9c2 cells against oxidative injury induced by hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) basing on traditional Chinese medicine serum chemical and serum pharmacological methods. **Method:** The absorbed components of *P. orientale* into blood were determined by comparing the ultra performance liquid chromatography (UPLC) fingerprints of the extract, medicinal serum and blank serum. Simultaneously, the oxidative injury models induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was established by cultivating cardiac H9c2 cells *in vitro* and then the cell viability, lactic dehydrogenase (LDH) release, malondialdehyde (MDA) production as well as superoxide dismutase (SOD) activity were analyzed. Moreover, the morphology of cardiac H9c2 cells damaged by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were observed under an inverse fluorescence microscope after dyed by AO/EB. All of them were used to evaluate the protective effect of *P. orientale* on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced injury. **Result:** Twenty five transitional components of *P. orientale* absorbed into blood after intragastrical

**[收稿日期]** 20120620(019)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30860366); 国家“重大新药创制”科技重大专项(2008ZX09101-021); 贵州省科技攻关项目[黔科合 SY 字(2009)3092]

**[第一作者]** 李月婷, 硕士, 从事中药药理与中药新制剂研究, E-mail: nhwslyt@163.com

**[通讯作者]** \*王永林, 教授, 博士生导师, 从事中药新药的研究开发, Tel: 0851-6908899, E-mail: gywyl@gmc.edu.cn

administration were detected, nine of which were original components and sixteen are possible metabolites. Furthermore, compared with the model group, medicated serum decreased the release of LDH, MDA ( $P < 0.05$ ). However, it increased the activity of SOD and cell viability ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), while apoptosis of cardiac H9c2 cells were obviously inhibited. **Conclusion:** The absorbed components into blood may be material basis of *P. orientale* used for protecting cardiac H9c2 cells against oxidative injury.

[**Key words**] *Polygonum orientale*; serum pharmacology; serum pharmacology; serum pharmacology; cardiac H9c2 cells; oxidative injury

荜草为蓼科植物荜藜的干燥全草,民间主要将其应用于治疗胸痹心痛,心胃气痛等疾病<sup>[1]</sup>。现代应用研究表明荜草具有抗急性心肌缺血,扩张血管等药理活性<sup>[2]</sup>,以其为原料研制的“荜草注射液”应用于临床治疗冠心病心绞痛疗效确切<sup>[3]</sup>。鉴于荜草潜在的药用开发价值,在前期工作中本课题组对荜草的资源、化学成分<sup>[4-5]</sup>、质量标准<sup>[6]</sup>、抗心肌缺血的药理作用<sup>[7]</sup>等进行了研究,研制开发了以荜草为主药治疗冠心病心绞痛的中药新品种“复方荜草冻干粉针”,目前该制剂已完成Ⅲ期临床试验。为进一步探讨荜草抗心肌缺血的药效物质基础及其作用机制,更好地开发荜草的药用价值,本研究运用血清药理学与血清药物化学协同研究的方法,利用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>诱导的体外心肌细胞氧化损伤模型,考察荜草含药血清的抗氧化损伤作用,并探讨其抗H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>所致H9c2心肌细胞氧化损伤的物质基础,以期对荜草药用资源的深度开发提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 荜草药材产于贵州清镇市,经贵阳医学院生药学教研室龙庆德副教授鉴定为蓼科植物荜草 *Polygonum orientale* L. 的干燥全草。参照文献<sup>[8]</sup>方法,采用正丁醇萃取工艺,制备荜草提取液(含生药3 g·mL<sup>-1</sup>),冷藏备用。复方丹参滴丸,由天津天士力制药股份有限公司提供,批号100716,实验前用蒸馏水配制成2 g·L<sup>-1</sup>的药液,冷藏备用。高糖DMEM培养基(美国Gibco);胎牛血清(德国Biochrom);噻唑蓝(MTT,美国Sigma);胰蛋白酶(Trypsin,美国Gibco);过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,美国Sigma);乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所;吖啶橙(acridine orange, AO)和溴化乙锭(ethidium bromide, EB, 美国Sigma);甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

**1.2 动物** 清洁级健康成年SD大鼠,体重(220 ± 20 g),购自贵阳医学院实验动物中心,许可证号SCXK(黔)2002-0001。

**1.3 细胞株** H9c2大鼠心肌细胞株,购自中国科学院上海细胞库。

**1.4 仪器** 双人双面超净台(北京哈东联仪器厂),荧光显微镜及成像系统(日本Nikon),CO<sub>2</sub>培养箱(美国Thermo),酶标仪(美国Bio-rad),UV-2401 PC紫外分光光度计(日本岛津),Waters超高效液相色谱(UPLC)ACQUITY系统,包括二元超高压溶剂系统、二极管阵列检测器、Empower2色谱工作站[沃特世科技(上海)有限公司],ALLegra64R型低温冷冻高速离心机(美国Beckman),MTN-2800D型氮吹浓缩装置(天津奥特塞恩斯仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 H9c2心肌细胞的培养** 取对数生长期的H9c2心肌细胞,以细胞密度20 × 10<sup>4</sup> ~ 30 × 10<sup>4</sup> 个/mL接种于96孔或6孔培养板中,用含10%胎牛血清的高糖DMEM培养基于37 °C 5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养48 h后,选择生长良好的细胞用于实验。

### 2.2 荜草血清药物化学及血清药理学

**2.2.1 不同给药方案及不同采血时间点荜草含药血清的制备** 取健康SD大鼠18只,随机分为空白对照组,荜草提取液单次给药组和多次给药组,禁食12 h(自由饮水)后,各给药组均按36 g·kg<sup>-1</sup> ig给药(按体表面积计算,约为推荐临床用量换算成大鼠等效剂量的30倍)<sup>[9]</sup>,荜草提取液单次给药组,1次/d,多次给药组,2次/d,均连续给药3 d,空白对照组ig等体积蒸馏水。各给药组分别于末次给药10,30,60,90,120,240 min经腹主动脉取血。含药血及空白血37 °C水浴30 min后,5 000 r·min<sup>-1</sup>,离心10 min,分离血清;一部分血清经56 °C灭活30 min,0.22 μm微孔滤膜过滤后,-80 °C保存,供血清药理学研究;另取血清1 mL,加入0.2 mL 1%甲酸、4 mL甲醇,涡旋混匀,15 000 r·min<sup>-1</sup>,低温离心10 min,上清液液氮低温吹干后,残渣用200 μL 5%乙腈水复溶,15 000 r·min<sup>-1</sup>,低温离心20 min,取上清液供UPLC分析。

**2.2.2 UPLC 条件** WATERS ACQUITY UPLC BET  $C_{18}$  色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); 流动相乙腈(含 0.1% 甲酸)(A)-0.1% 甲酸溶液(B), 按表 1 中的程序梯度洗脱; 流速 0.30 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 300 nm, 柱温 45  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量 1  $\mu\text{L}$ 。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~ 15	5 ~ 20	95 ~ 80
15 ~ 20	20 ~ 40	80 ~ 60
20 ~ 22	40 ~ 100	60 ~ 0
22 ~ 25	5	95

**2.2.3 空白血清对实验体系的影响** H9c2 心肌细胞按 2.1 方法接种、培养后, 分别加入 0, 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10% 的空白血清。常规培养 24 h 后, 用 MTT 法检测心肌细胞存活率。

**2.2.4 不同给药方案及不同采血时间制备的菝草含药血清对氧化损伤心肌细胞存活率的影响** H9c2 心肌细胞按 2.1 方法接种、培养后, 分别设正常对照组; 加入 1% 的空白血清; 模型组: 加入 1% 的空白血清和终浓度为 1 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 不同给药方案及不同采血时间含药血清组: 分别加入 1% 的含药血清和终浓度为 1 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。继续培养 4 h 后, 用 MTT 法检测心肌细胞存活率。

**2.3 菝草含药血清及空白血清的制备** 取健康 SD 大鼠 30 只, 随机分为空白对照组, 复方丹参滴丸组(27  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 菝草提取液低、中、高剂量组(9, 18, 36  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 禁食 12 h(自由饮水)后, 分别 ig 给药, 2 次/d, 连续给药 3 d, 空白对照组 ig 等体积蒸馏水。各组分别于末次给药 30 min 后下股动脉采血, 并按 2.2.1 方法制备供 UPLC 分析和供血清药理学研究的血清样品。

**2.4 菝草含药血清中的移行成分分析** 按 2.2.2 色谱条件进行 UPLC 分析, 分别建立菝草提取液及其含药血清的 UPLC 指纹图谱, 并比较菝草提取液、其含药血清和空白血清指纹图谱, 寻找含药血清中的移行成分。

**2.5 菝草含药血清对氧化损伤心肌细胞的保护作用研究**

**2.5.1 分组及药物处理** H9c2 心肌细胞按 2.1 方法接种后, 分别设正常对照组: 加入 1% 的空白血清; 模型组: 加入 1% 的空白血清和终浓度为 1 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 复方丹参滴丸组: 加入 1% 的丹

参滴丸含药血清和终浓度为 1 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 菝草含药血清低、中、高剂量组(9, 18, 36  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ): 分别加入 1% 不同剂量的含药血清和终浓度为 1 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。

**2.5.2 菝草含药血清对氧化损伤心肌细胞存活率的影响** 各组细胞经  $\text{H}_2\text{O}_2$  及药物处理 4 h 后, 用 MTT 法检测细胞存活率。

**2.5.3 菝草含药血清对氧化损伤心肌细胞 LDH 漏出率、MDA 含量、T-SOD 活力的影响** 取出经  $\text{H}_2\text{O}_2$  及药物作用 4 h 后的心肌细胞, 按照 LDH, MDA, T-SOD 试剂盒说明书进行检测。

**2.5.4 菝草含药血清对氧化损伤心肌细胞形态学的影响** 各组细胞经  $\text{H}_2\text{O}_2$  及药物处理 4 h 后, 取出细胞爬片, PBS 洗涤 2 次, 经 95% 乙醇固定 15 min 后, 加入终质量浓度均为 10  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 AO 和 EB 混合荧光染液, 避光染色 1 min 后, 荧光显微镜下观察细胞形态。

**2.6 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 统计软件包进行 One-Way ANOVA 检验分析, 并对组间数据进行 Dunnett 或 Dunnett's T3 检验; 各组数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 检验水准  $\alpha$  为 0.05。

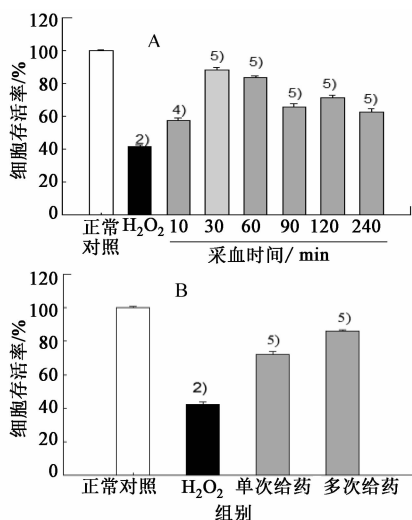
### 3 结果

**3.1 菝草血清药物化学及血清药理学方法学建立**

**3.1.1 不同体积分数的空白血清对 H9c2 心肌细胞增殖的影响** 实验结果显示, 在培养体系中添加 0.1%, 0.5%, 1, 2% 的空白对照组鼠血清对 H9c2 心肌细胞的增殖无明显的促进及抑制作用; 添加 5%, 10% 的空白对照组鼠血清[细胞存活率分别为 (109.38  $\pm$  0.83)%, (120.78  $\pm$  0.84)%]对 H9c2 心肌细胞[细胞存活率为 (100.00  $\pm$  0.74)%]的增殖有明显的促进作用 ( $P < 0.001$ ), 因此选用 2% 以下的血清添加量开展实验。

**3.1.2 不同给药方案及不同采血时间点菝草含药血清中移行成分变化及其对氧化损伤心肌细胞存活率的影响** 各含药血清经 UPLC 分析后, 结果表明, 末次给药 30 min, 1 h 后采集的含药血清峰信息量较丰富, 且与单次给药相比, 多次给药制备的血清样品中移行成分较多, 各成分含量较高。药效学实验结果亦显示, 多次给药末次 ig 30 min 后采集的含药血清使  $\text{H}_2\text{O}_2$  损伤心肌细胞的存活率升高最明显(图 1A, 图 1B)。因此, 综合血清药物化学及血清药理学的实验结果, 选择经多次给药末次 ig 30 min 后采集的血清作为给药血清使用。

**3.2 菝草含药血清移行成分分析** 通过比较菝草



与正常对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.001$ ;

与模型组相比<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.001$ 。

图1 不同采血时间葶草含药血清(A)及不同给药方案给药30 min的含药血清(B)对氧化损伤心肌细胞存活率的影响

提取液、葶草提取液含药血清及空白血清 UPLC (图2)发现,除去血清中的固有成分,葶草含药血清中出现25个移行成分,其中有9个成分为葶草药材中的原型成分,即5,6,7,9,12,17,22,25,26号峰,各成分的鉴定,有待进一步研究;有16个成分可能为大鼠口服葶草后其在体内转化的代谢产物,各代谢物的来源亦有待进一步研究。

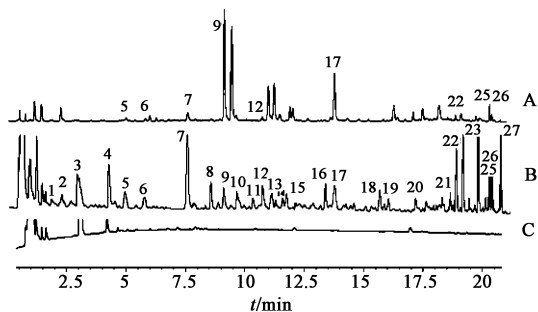


图2 葶草提取液A、葶草提取液含药血清B、空白血清C的UPLC

### 3.3 葶草含药血清对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>致心肌细胞损伤的影响

#### 3.3.1 葶草含药血清对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化损伤心肌细胞存活率、LDH漏出量、MDA含量及SOD活力的影响

结果显示,与模型组相比,葶草含药血清高剂量组能明显升高氧化损伤心肌细胞的存活率( $P < 0.001$ ),降低其LDH漏出量( $P < 0.05$ );葶草含药血清高、中、低剂量组能明显降低氧化损伤心肌细胞上清液中的MDA含量( $P < 0.05$ ),升高胞浆内的SOD活力( $P < 0.05$ )。见表2~3。

表2 葶草含药血清对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化损伤心肌细胞存活率及LDH漏出率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	心肌细胞存活率 /%	LDH漏出率 /U·L <sup>-1</sup>
正常对照	-	100.00 ± 0.00	655.31 ± 89.16
过氧化氢	-	42.47 ± 0.55 <sup>2)</sup>	2 126.68 ± 40.03 <sup>1)</sup>
丹参滴丸含药血清	2.7 × 10 <sup>-2</sup>	81.83 ± 0.97 <sup>5)</sup>	1 108.53 ± 28.05 <sup>4)</sup>
葶草含药血清	9	46.53 ± 2.41	1 520.08 ± 293.27
	18	53.24 ± 0.78 <sup>4)</sup>	1 193.56 ± 161.34
	36	78.05 ± 1.04 <sup>5)</sup>	1 038.98 ± 115.93 <sup>3)</sup>

注:与正常对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.001$ ;与模型组相比<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.001$ (表3同)。

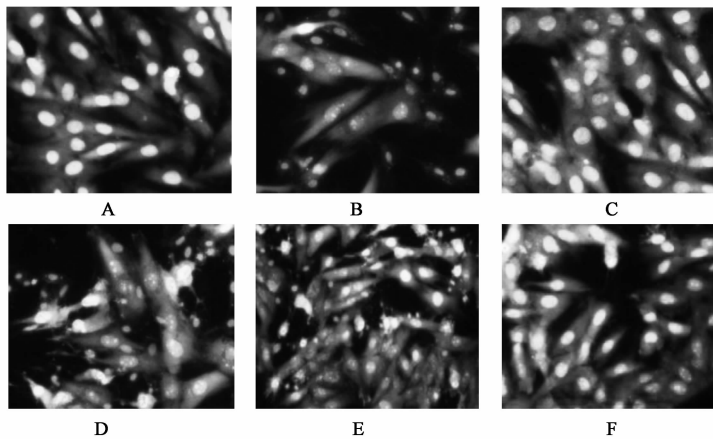
表3 葶草含药血清对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化损伤心肌细胞MDA含量及SOD活力的影响( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	MDA /nmol·mL <sup>-1</sup>	SOD /U·mL <sup>-1</sup>
正常对照	-	1.62 ± 0.01	41.01 ± 0.40
过氧化氢	-	2.38 ± 0.02 <sup>2)</sup>	28.65 ± 0.41 <sup>2)</sup>
丹参滴丸含药血清	2.7 × 10 <sup>-2</sup>	1.68 ± 0.00 <sup>5)</sup>	31.32 ± 0.68 <sup>4)</sup>
葶草含药血清	9	2.53 ± 0.02 <sup>3)</sup>	30.55 ± 0.37 <sup>3)</sup>
	18	2.21 ± 0.07 <sup>3)</sup>	31.56 ± 0.34 <sup>4)</sup>
	36	1.75 ± 0.00 <sup>5)</sup>	32.98 ± 0.42 <sup>5)</sup>

**3.3.2 葶草含药血清对氧化损伤的心肌细胞形态学的影响** 经AO/EB染色后荧光显微镜下观察发现,正常对照组H9c2心肌细胞核染色质形态规则,发出均匀一致的绿色荧光;而模型组大部分心肌细胞发生凋亡或坏死,表现为经AO染色后部分细胞核染色质呈固缩状或圆珠状,且大部分细胞核染色质发出强烈的橘红色荧光;复方丹参滴丸组及葶草含药血清高剂量组能有效抑制H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化损伤所致的心肌细胞凋亡或坏死,明显减少细胞核染色质呈固缩状及着橘红色荧光的细胞数(图3)。

## 4 讨论

近年来,血清药理学和中药血清药物化学在阐明中药药效物质基础及探讨其药理作用机制的研究中得到广泛应用<sup>[9-10]</sup>,通过血清药物化学与血清药理学的协同研究,既能够体现中药多成分、多靶点协同发挥药效的作用特点,有利于探讨其药理作用机制<sup>[11-12]</sup>;同时通过分析研究血清移行成分,寻找体内直接作用物质,有助于快速、准确地研究中药药效物质基础<sup>[13]</sup>。本实验中血清药物化学研究发现了25个与葶草相关的移行成分,其中有9个成分为葶草中的原型成分,其他16个成分可能为其在体内转



A. 正常对照组; B.  $H_2O_2$  模型组  $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; C. 丹参滴丸组  $27\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  
D. 荳草含药血清  $9\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组; E. 荳草含药血清  $18\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组; F. 荳草含药血清  $36\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  组  
图 3 荳草含药血清对氧化损伤心肌细胞形态学的影响(AO/EB 染色法,  $\times 200$ )

化的代谢产物,而且原型成分入血后的含量发生明显变化。荳草含药血清能够减少  $H_2O_2$  氧化损伤心肌细胞 LDH 的释放,脂质代谢产物 MDA 的含量,显著升高 SOD 和细胞存活率,有效抑制细胞凋亡,表明荳草含药血清具有抗氧化损伤的保护作用。结合血清药化与血清药理实验结果,这种从血清中提取制备药物入血成分的方法获得的体内直接作用物质可能为荳草发挥抗氧化损伤作用的物质基础;而有效抑制  $H_2O_2$  引起的脂质代谢产物 MDA 堆积和抗氧化酶 SOD 活性的下降,从而抑制细胞凋亡,可能是其发挥保护作用的机制之一。

由于中药药效成分的不确定,且各成分理化性质及体内过程不完全一致,很难采用统一的标准设计给药次数及采血时间<sup>[9,14]</sup>。本研究借助血清指纹谱,通过含药血清中各种化合物的浓度消长和代谢产物的变化,并结合血清的抗氧化生物学活性进行荳草含药血清的“时效”关系研究,筛选制备含药血清的给药次数及最佳采血时间,发现每天给药 2 次,连续灌胃 3 d,末次给药 30 min 后采血制备的含药血清的指纹谱信息丰富,抗氧化损伤作用明显,为实验的顺利开展奠定了基础。

### [参考文献]

[1] 中华本草编委会, 国家中医药管理局. 中华本草. 第 2 册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 681.  
[2] 谢周涛, 何再安, 刘焱文. 红蓼的化学成分及药理研究进展荳草对心血管的作用研究[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(10): 1034.  
[3] 四十四医院荳草研制组.  $^{86}\text{Rb}$  ( $^{86}\text{Rb}$ ) 测定荳草对小鼠心肌营养性血流量的影响[J]. 贵州医药, 1981

(5): 70.

[4] 黄勇, 郑林, 何峰, 等. UPLC-PDA-ESI/MS 分析荳草中化学成分[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(1): 57.  
[5] 王爱民, 王永林, 兰燕宇, 等. 荳草药材指纹图谱的研究[J]. 中成药, 2006, 28(1): 5.  
[6] 王爱民, 王永林, 刘丽娜, 等. 荳草药材的质量研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(13): 1047.  
[7] 黄勇, 郑林, 王爱民, 等. 荳草不同药用部位抗心肌缺血作用及化学成分比较研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2520.  
[8] 刘志宝, 兰燕宇, 王永林, 等. 注射用复方荳草中荳草不同工艺提取物对大鼠心肌缺血的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(8): 21.  
[9] 魏元锋, 张宁, 冯怡, 等. 中药血清药物化学在中药药效物质基础研究中的应用[J]. 中草药, 2009, 40(9): 1489.  
[10] 高丽, 聂中标, 闫润红, 等. 归脾汤含药血清对雷公藤醇提物致骨髓细胞凋亡的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7): 156.  
[11] 姜振, 庄朋伟, 张艳军. 中药复方血清药理学及其在药效评价中的应用[J]. 齐鲁药事, 2010, 29(2): 96.  
[12] 谢彬, 王雪峰, 闫丽娟, 等. 小柴胡汤君臣药及其配伍提取物对感染 CVB3m 心肌细胞的血清药理学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 129.  
[13] 王莉梅, 金向群. 中药血清化学在中药及中药复方研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 77.  
[14] 黄臣虎, 陆茵, 高晓君, 等. 中药血清药理学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 266.

[责任编辑 聂淑琴]