

蟾酥对豚鼠离体心脏的毒性作用和物质基础研究

蒋洁君¹, 周婧¹, 马宏跃^{1*}, 尤奋强², 段金康¹, 丁安伟¹

(1. 南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 南京 210046;

2. 南京中医药大学 昆山附属医院, 江苏 昆山 215300)

[摘要] 目的:研究蟾酥对豚鼠离体心脏的毒性作用和其物质基础。方法:通过 Langendorff 灌流研究蟾酥对豚鼠离体心脏的毒性作用, HPLC 测定灌流后心脏中蟾蜍甾烯的含量。结果:蟾酥诱导豚鼠离体心脏出现房室传导阻滞、室速、室颤多种心律失常现象。当给药量累积达 $(60 \pm 11.5) \mu\text{g}$ 时致其停跳。采用 HPLC 在灌流心脏中测到 9 种蟾蜍甾烯类化合物, 其与心脏亲和力增加的顺序为:沙蟾毒精 > 蟾毒灵 > 远华蟾毒配基 > 噁根草苷元 > 日蟾毒它灵 > 华蟾毒灵 > 蟾毒它灵 > 脂蟾毒配基 > 去乙酰蟾毒它灵。结论:蟾酥对豚鼠心脏具有显著毒性, 其物质基础可能是脂蟾毒配基、蟾毒灵、蟾毒它灵、日蟾毒灵等 9 种蟾蜍甾烯类化合物。

[关键词] 蟾酥; 心脏毒性; 离体心脏灌流; HPLC; 物质基础

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0233-05

[收稿日期] 20110118(010)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(30901894);教育部新教师基金(20093237120013);霍英东教育基金会第十二届高等院校青年教师基金(121044);江苏省中医药局项目(LZ09017);南京中医药大学青年自然科学基金(09XZR21)

[第一作者] 蒋洁君, 硕士, Tel/Fax:025-85811625, E-mail:jiangjj-118@126.com

[通讯作者] * 马宏跃, 博士, Tel/Fax:025-85811625, E-mail:hongyuema@hjutcm.edu.cn

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005:92.
- [2] 边振考, 彭涛, 孟兆琛. 朱砂毒性的考证[J]. 中国药理学杂志, 1993, 28(2):117.
- [3] 王招定, 王光利. 中草药致小儿肝脏损害 18 例报告[J]. 浙江中医学院学报, 1996, 20(4):19.
- [4] 于从兰. 朱砂的药用价值、毒性及合理应用[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(10):37.
- [5] 梁爱华, 商敏凤. 朱砂的毒性研究概况[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(4):249.
- [6] Recio L, Hobbs C, Caspary W, et al. Dose-response assessment of four genotoxic chemicals in a combined mouse and rat micronucleus (MN) and comet assay protocol[J]. J Toxicol Sci, 2010, 35(2):149.
- [7] 袁伯俊, 廖明阳, 李波. 药物毒理学实验方法与技术[M]. 北京:化学工业出版社生物医药出版分社, 2007:293.
- [8] Singh N P, Mc Coy M T, Tice R R, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells[J]. Exptl Cell Res, 1988, 175(1):184.
- [9] 彭德惠, 蒋芸, 彭开良. 单细胞凝胶电泳实验技术经验之谈[J]. 预防医学杂志, 1998, 9(1):54.
- [10] Kirkland D, Speit G. Evaluation of the ability of a battery of three *in vitro* genotoxicity test to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens III. Appropriate follow-up testing *in vivo*[J]. Mutat Res, 2008, 654:114.
- [11] International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH) S2(R1): guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use, 2008.
- [12] 《药物遗传毒性研究技术指导原则》课题研究组. 药物遗传毒性研究技术指导原则:第二稿[S]. 2006:10.

[责任编辑 邹晓翠]

Study on Cardiotoxicity and Toxic Substance of Toad Venom in Isolated Guinea Pig Heart

JIANG Jie-jun¹, ZHOU Jing¹, MA Hong-yue^{1*}, YOU Fen-qiang², DUAN Jin-ao¹, DING An-wei¹

(1. Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research,

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Kunshan 215300, China)

[Abstract] **Objective:** To study toad venom (BV)-induced cardiac toxicity and the toxic substances in isolated guinea-pig heart. **Method:** Isolated guinea pig hearts were switched to the Langendorff mode and perfused with or without BV. Measure the content of toad venom in perfused hearts using HPLC. **Result:** BV caused auriculo-ventricular block, supraventricular tachycardia, ventricular tachycardia, ventricular fibrillation and other arrhythmias phenomenon in isolated hearts. The cumulative doses of bufadienolides (60 ± 11.5) μg induced cardiac arrest. Nine kinds of bufadienolides were detected by HPLC in the isolated hearts. Compare their affinity with the hearts: arenobufagin > bufalin > telocinobufagin > hellebrigenin > gamabufotalin > cinobufalin > bufotalin > resibufogenin > desacety-bufotalin. **Conclusion:** BV has cardiotoxicity on the guinea pig heart and the material basis of toad induced toxic effects may be gamabufotalin, arenobufagin and so on.

[Key words] toad venom; cardiotoxicity; isolated heart perfusion; HPLC; material basis

蟾酥由蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizan* Cantor 或黑眶蟾蜍 *B. melanostictus* Schneider 耳后腺及皮脂腺的白色浆液经干燥加工而成^[1], 是许多著名复方中药的主要成分(如六神丸、牛黄消炎丸、麝香保心丸等), 具有强心、抗炎、抗感染和抗肿瘤等作用^[2-4]。然而, 蟾酥对神经和心脏系统有毒性作用, 临床常有过量误用蟾酥中毒甚至死亡的报道。大量研究表明, 蟾酥中含有蟾蜍甾烯类化合物, 是其药理效应的主要活性成分^[3-8]。

由于蟾蜍甾烯与强心苷类化合物具有类似化学结构, 可能具有心脏毒性^[9-11]。为了深入分析蟾酥的心脏毒性和其物质基础, 本研究先采用 Langendorff 灌流评价蟾酥对豚鼠离体心脏的毒性作用, 再采用 HPLC 检测心脏中摄入的蟾蜍甾烯类毒性物质, 比较了 9 种蟾蜍甾烯灌流前后的含量变化。

1 材料

1.1 仪器 Langendorff 灌流装置, MPA 2000 型离体心脏灌流实验系统(上海奥尔科特生物科技有限公司), Waters 2695 高效液相色谱仪。

1.2 试药和试剂 蟾酥(江苏省南京市医药公司), 蟾酥对照品日蟾毒它灵(gamabufotalin, Gtl)、沙蟾毒精(arenobufagin, Arg)、远华蟾毒精(telocinobufagin, Tel)、蟾毒它灵(bufotalin, Btl)、蟾

毒灵(bufalin, Bul)、华蟾毒灵(cinobufalin, Cbl)、去乙酰蟾毒它灵(desacety-bufotalin, Deb)、嚏根草苷元(hellebrigenin, Hel)、脂蟾毒配基(resibufogenin, Rbg)均由南京中医药大学方剂重点实验室自制, 按 HPLC 归一化测得对照品纯度均大于 95%, 经过质谱和氢谱鉴定。甲醇(色谱纯), 乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司), 超纯水, 10% 水合氯醛, 3.8% 枸橼酸钠, K-H 灌流液($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$: NaCl 7.012 8; KCl 0.345 2; CaCl_2 0.138 8; MgCl_2 0.244; KH_2PO_4 0.159 2; NaHCO_3 1.680 2; Glc 1.585 4), 二甲基亚砜(DMSO)。其余试剂均为分析纯。

1.3 动物 豚鼠由南京中医药大学实验动物中心提供, 成年雄性 15 只, 体重 250 ~ 300 g, 许可证号 SCXK(苏)2007-0008。

2 方法

2.1 样品制备 精密称取 Ctl, Arg, Deb, Tel, Rbg, Hel, Cbl, Btl, Bul 对照品各 10 mg, 分别溶于 10 mL 纯甲醇中作为母液保存, 备用。

精密称取蟾酥生药 10 mg, 溶于 1 mL DMSO 中保存, 给药时用新鲜配制的 K-H 液稀释至 $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。另精密称取蟾酥生药 12 mg, 溶于 5 mL DMSO 中, 用 K-H 液稀释至 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 用于蟾酥生药的对照液。

2.2 标准曲线的标定 取 Gtl, Arg, Deb, Tel, Rbg 对照品溶液分别稀释成 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Hel 对照品溶液稀释成 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Cbl 对照品溶液稀释成 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Btl, Bul 对照品溶液分别稀释成 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 再分别以不同体积进样, 以对照品进样量 (ng) 为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 绘制标准曲线。

2.3 蟾酥对豚鼠离体心脏灌流 豚鼠 15 只, 随机分为 3 组, 正常灌流组、DMSO 对照组和蟾酥组。

取豚鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉 (0.35 mL 每 100 g) 后, 迅速开胸取出心脏, 置入 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 含氧的 K-H 液中, 轻挤出残血及清除周围组织, 迅速将心脏固定在 Langendorff 灌流装置上。分别于心脏的主动脉根部和心尖部放置电极并连接于心电图仪上, 使显示清晰的心电图 (ECG)。用 (37 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 含氧的 K-H 液进行灌流, 平衡 15 min 后进行实验。每隔 2 min 往灌流液中加入 1 mL 蟾酥稀释液, 记录心电图变化、心脏停跳时间及此时蟾酥的累积给药量。心脏停跳后保存至 $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱, 采用 HPLC 测定其蟾蜍甾烯类化合物含量。

2.4 灌流后心脏中蟾蜍甾烯类成分测定 分别取各组豚鼠心脏 1 g 加入 3 mL 生理盐水制成匀浆液, 于 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 后, 取 1 mL 上清液用乙酸乙酯萃取 3 次, 每次加乙酸乙酯 2 mL, 萃取后合并上清液共 5 mL, 备用。取 1 mL 未经灌流的 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 蟾酥稀释液加入 3 mL 生理盐水混匀后, 取 1 mL 同前法萃取, 合并上清液取 5 mL。4 组上清液

分别用氮气吹干后, 加入 $400 \text{ } \mu\text{L}$ 甲醇复溶, 超声, $1 \text{ 万 r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液 $50 \text{ } \mu\text{L}$ 进样分析。

相对含量 = 化合物含量 / 总蟾蜍甾烯含量 $\times 100\%$

含量变化率 = (灌流组含量 - 蟾酥对照组含量) / 蟾酥对照组含量 $\times 100\%$

2.5 色谱条件及数据处理 依利特 ODS- C_{18} 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \text{ } \mu\text{m}$), 流动相 A 为 0.3% 的乙酸水溶液, 流动相 B 为乙腈, 梯度洗脱: 0 ~ 15 min, 28% ~ 54% B; 15 ~ 30 min, 54% B。柱温 $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 流速 $0.7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Student-t test 进行统计学处理。

3 结果

3.1 蟾酥灌流对豚鼠离体心脏的毒性作用 蟾酥灌流后, 豚鼠离体心脏的心电图发生明显变化, 出现房室传导阻滞、室上性心动过速、室性心动过速、室颤多种心律失常现象。如表 1 所示, 在蟾酥作用下, 豚鼠离体心脏在 10 ~ 15 min 时心率与 DMSO 对照组相比显著增加 ($P < 0.05$); 随蟾酥灌流累积量增大, 心脏毒性增加, 20 min 心率与 0 min 相比显著减慢 ($P < 0.01$)。15 ~ 20 min P-R 间期与 0 min 相比显著延长 ($P < 0.05, P < 0.01$) (表 2), 15 ~ 20 min QRS 时程与 0 min 相比显著增宽 (表 3), R 波振幅也显著减低 ($P < 0.01$) (表 4)。当蟾酥灌流累积量达到 (60 ± 11.5) μg 时, 即灌流时间为 (48 ± 9.2) min 时豚鼠心脏停跳。

表 1 蟾酥 (BV) 灌流后对豚鼠离体心脏心率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

次/min

组别	心率					
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	60 min
正常灌流	168.0 ± 25	168.5 ± 24.9	154.0 ± 22.0	148.0 ± 11.3	152.5 ± 16.9	148.0 ± 21.3
DMSO 对照	164.0 ± 20.2	160.0 ± 24.9	144.5 ± 12	148.5 ± 18.3	140.0 ± 6.9	140.0 ± 18.3
BV 灌流	175.5 ± 23.5	164.5 ± 23.6	$232.5 \pm 21.4^{1)}$	$238.0 \pm 24.5^{1)}$	$90.0 \pm 8.5^{1)}$	$0^{2)}$

注: 与 DMSO 对照组比较 $^{1)} P < 0.05, ^{2)} P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

表 2 BV 灌流后对豚鼠离体心脏 P-R 间期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

ms

组别	P-R 间期					
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	60 min
正常灌流	111.2 ± 21.8	123.4 ± 34.9	121.8 ± 29.7	132.2 ± 26.3	126.6 ± 24.8	110.4 ± 21.8
DMSO 对照	104.7 ± 28.1	107.7 ± 20.4	123.7 ± 26.4	121.6 ± 32.1	117.3 ± 20.6	102.8 ± 24.6
BV 灌流	92.6 ± 30.5	149.3 ± 28.1	130.1 ± 28.2	$162.3 \pm 25.6^{1)}$	$278.9 \pm 26.6^{2)}$	$0^{2)}$

3.2 豚鼠离体心脏摄入蟾蜍甾烯成分分析 对 2.4 项下各组心脏及未灌流的蟾酥对照液进行

HPLC 分析。如图 1 所示, 正常灌流组和 DMSO 对照组的心脏均未检测到成分, 证明其对蟾酥灌流心脏

表 3 BV 灌流后对豚鼠离体心脏 QRS 波宽度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

ms

组别	QRS 波宽度					
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	60 min
正常灌流	79.6 ± 21.5	89.5 ± 27.1	76.5 ± 26.2	99.4 ± 27.9	90.6 ± 36.8	93.9 ± 24.5
DMSO 对照	86.5 ± 26.8	87.7 ± 11.8	83.0 ± 23.4	98.4 ± 24.5	95.7 ± 33.3	93.2 ± 27.4
BV 灌流	87.1 ± 25.6	104.2 ± 31.5	119.1 ± 29.8	128.9 ± 21.7 ¹⁾	127.7 ± 25.5 ¹⁾	0 ²⁾

表 4 BV 灌流后对豚鼠离体心脏 R 波幅度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

ms

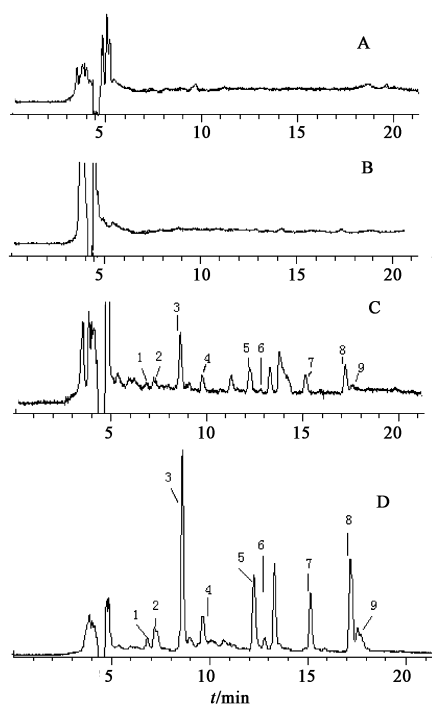
组别	R 波幅度					
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	60 min
正常灌流	1.7 ± 0.8	1.4 ± 0.8	1.3 ± 0.8	3.1 ± 0.9	2.5 ± 0.3	2.9 ± 0.6
DMSO 对照	2.6 ± 0.2	1.7 ± 0.9	2.1 ± 0.9	2.7 ± 0.7	2.8 ± 0.4	2.8 ± 0.7
BV 灌流	1.7 ± 0.7	1.1 ± 0.7	1.1 ± 0.8	0.9 ± 0.5	0.2 ± 0.1 ²⁾	0 ²⁾

色谱图无干扰。图 1 中色谱峰编号对应化合物的标准曲线方程见表 5, 蟾酥中主要的 9 种蟾蜍甙烯类成分在灌流后心脏中均被检测到。如表 6 所示, 比较灌流前后各化合物占总蟾蜍甙烯含量的变化, 发现 9 种蟾蜍甙烯与心肌组织的亲和力不同, 相对含量增加的顺序为 Arg > Bul > Tel > Hel; 相对含量减少的顺序为 Deb > Rbg > Btl > Cbl > Gtl。因此各化合物与心脏亲和力增加的顺序为 Arg > Bul > Tel > Hel > Gtl > Cbl > Btl > Rbg > Deb。

4 讨论

课题组前期通过蟾酥对小鼠心脏毒性研究发现, 蟾酥能诱导心律失常^[9]。蟾酥含有蟾蜍甙烯类物质, 具有类似于洋地黄的心脏作用^[11]。多数研究认为其心脏作用机制是抑制心肌细胞膜上 Na⁺/K⁺-ATP 酶, 造成 Ca²⁺ 超载^[8,10-11], 同时心肌细胞的自律性提高、ERP 缩短, 所以蟾酥中毒时可能出现室性心动过速或室颤等心律失常现象。

本实验采用对强心苷毒性更敏感的豚鼠心脏为对象, Langendorff 法灌流蟾酥, 致心脏出现多种心律失常现象。灌流前后心电图的波形发生显著改变, 如室上性和室性心动过速, 并出现房室传导阻滞、心率减慢、室颤等现象。当蟾酥灌流累积量达到



A. 正常灌流组; B. DMSO 对照组;
C. BV 灌流组; D. 未经灌流的蟾酥对照组
1. Ctl; 2. Arg.; 3. Hel; 4. Deb; 5. Btl;
6. Tel; 7. Bul; 8. Cbl; 9. Rbg

图 1 各组蟾酥样品的 HPLC

表 5 9 种蟾蜍甙烯类成分的标准曲线

色谱峰	化合物	保留时间/min	标准曲线	r	线性范围/ng
1	Gtl	6.76	A = 242.1X + 228.7	0.999 6	0.51 ~ 465
2	Arg	7.15	A = 686.1X - 271.3	0.999 7	0.39 ~ 1 236
3	Hel	8.53	A = 764.6X + 370.2	0.999 6	0.61 ~ 1 366
4	Deb	9.62	A = 398.0X + 370.3	0.999 3	0.97 ~ 418
5	Btl	12.07	A = 542.0X + 49.88	0.999 9	0.53 ~ 1 707
6	Tel	12.16	A = 679.8X + 150.0	0.999 7	0.87 ~ 1 621
7	Bul	14.98	A = 520.8X + 524.0	0.999 9	0.50 ~ 1 315
8	Cbl	17.14	A = 907.2X - 21.04	0.999 8	0.77 ~ 775.2
9	Rbg	17.36	A = 948.5X + 21.54	0.999 6	0.49 ~ 713

表6 HPLC检测各组心脏中蟾蜍甾烯类成分含量($\bar{x} \pm s, n=5$)

化合物	蟾酥对照/ng	灌流组/ng	占生药中总甾烯的比例/%	占心脏中总甾烯的比例/%	含量变化率/%
Gil	124.0 ± 1.2	18.3 ± 0.5	4.2	4.1	-0.5
Arg	161.1 ± 1.9	34.2 ± 2.4	5.4	7.8	+44.5
Hel	891.1 ± 2.4	139.3 ± 2.9	29.7	31.6	+6.4
Deb	166.6 ± 2.1	7.4 ± 1.1	5.6	1.7	-70.0
Btl	469.4 ± 2.7	79.3 ± 1.3	15.7	18.0	-27.5
Tel	103.6 ± 0.9	11.0 ± 2.4	3.5	2.5	+14.9
Bul	322.9 ± 1.4	64.1 ± 2.8	10.8	14.6	+35.0
Cbl	575.0 ± 2.2	72.5 ± 0.9	19.2	16.5	-14.3
Rbg	181.1 ± 1.7	21.6 ± 1.7	6.0	3.3	-46.2

注: + 为相对含量增加; - 为相对含量减少。

(60 ± 11.5) μg 时可致心脏停跳,说明低剂量蟾酥即具有较大心脏毒性。总体分析,灌流前期毒性主要表现为室上性和室性心动多速;灌流后期毒性主要表现为传导阻滞、心动过缓和停跳。

为深入分析蟾酥心脏毒性的物质基础,采用 HPLC 进一步测定中毒心脏中蟾蜍甾烯类成分的含量变化。蟾酥灌流心脏中共测到脂蟾毒配基、日蟾毒它灵等 9 种蟾蜍甾烯类成分。比较灌流前后各成分占总甾烯的含量发生变化,说明各蟾蜍甾烯类成分对心脏的亲合性可能不同:灌流后含量增加说明与心脏亲和力强;含量减低说明亲和力弱。各化合物间比例的变化可能是蟾酥在体外引起豚鼠心脏毒性的物质基础,但要阐明各化合物的具体作用还需进一步探讨和研究。

综上所述,蟾酥能诱导豚鼠离体心脏出现心律失常,其物质基础是与心脏发生结合的脂蟾毒配基、日蟾毒它灵等多种蟾蜍甾烯类,这些成分在心脏可发生竞争性的相互作用并导致心脏毒性的发生。深入探讨蟾酥的心脏毒性和其物质基础,有利于指导含蟾酥制剂的研发和指导临床合理应用。

[参考文献]

[1] 程国华. 蟾酥质量研究及其药理临床应用进展[J]. 中草药,2001,32(2):184.
 [2] 沈子龙,易七贤,周斌. 抗癌止痛膏透皮吸收示踪研究[J]. 中国药科大学学报,1993,24(1):30.
 [3] 刘丹,祝林,奉建芳. 蟾酥中蟾毒配基类成分的分离纯化及其体外抗肿瘤活性的研究[J]. 中成药,2010,32(6):937.

[4] 蒋洁君,尤奋强,马宏跃,等. 细胞连续亲和-HPLC 测定 8 种蟾蜍甾烯与 MGC-803 细胞亲和量及抗肿瘤活性相关分析[J]. 中国中药杂志,2011,36(2):21.
 [5] 马宏跃,寇俊萍,余伯阳. 蟾酥抗链球菌感染的活性物质基础研究[J]. 中药药理与临床,2009,25(4):47.
 [6] 马宏跃,段金璇,周婧,等. 基于人体等效剂量的蟾酥量-效关系探讨[J]. 中国临床药理学与治疗学,2009,14(6):655.
 [7] 梁研,李萍,余伯阳,等. HPLC/MS 对蟾蜍甾烯类化合物在大鼠胃肠道中的吸收和转化的初步研究[J]. 中国天然药物,2007,5(4):285.
 [8] XIA X L, JIN H Z, YAN S K, et al. Analysis of the bioactive constituents of Chansu in rat plasma by high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection [J]. J Pharm Biomed, 2010, 53:646.
 [9] MA H Y, ZHOU J, JIANG J J, et al. The novel antidote bezoar bovis prevents the cardiotoxicity of toad (*Bufo bufo gargarizans* Canto) Venom in mice[J]. Exp Toxicol Pathol, doi:10.1016/j.etp,2010,10.
 [10] Bick R J, Poindexter B J, Sweney R R, et al. Effects of Chansu, a traditional Chinese medicine, on the calcium transients of isolated cardiomyocytes: Cardio toxicity due to more than Na K2ATPase blocking [J]. Life Sci, 2002, 72(6):699.
 [11] Meredith A Reyes, M D Jeffrey K Actor, et al. Effect of Chinese medicines Chansu and Liushenwan on serum digoxin measurement by digoxin III, a new digoxin immunoassay[J]. Ther Drug Monit, 2008, 30:95.

[责任编辑 邹晓翠]