

中药血清药理学研究进展

黄臣虎¹, 陆茵^{1,2*}, 高骁君¹, 孙志广^{1,3}, 严令耕¹

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210029; 2. 江苏省方剂重点研究实验室, 南京 210046;
3. 江苏省中医院, 南京 210029)

[摘要] 运用中药血清药理学方法研究中药复方的药效、物质基础及作用机制。通过对中药血清药理学方法学中对实验动物、给药剂量和给药方案、采血方案、血清灭活与保存、血清添加量和对照组的设立等的确立, 建立最佳的实验方案进行研究。文献检索研究表明, 中药复方对神经系统有调节作用, 能保护心肌细胞, 促进血管内皮细胞增殖, 预防哮喘, 增强免疫, 抗菌抗炎抗病毒, 抗纤维化并能延缓糖尿病肾病的发展。中药血清药理学在神经、心血管、呼吸、免疫、消化、生殖、泌尿、骨骼系统以及在抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗病毒等方面都有很好的应用, 为中药复方药理作用的研究提供了良好的方法。

[关键词] 中药复方; 血清; 体外实验

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0266-06

Advances of Serum Pharmacology of Chinese Medicine

HUANG Chen-hu¹, LU Yin^{1,2*}, GAO Xiao-jun¹, SUN Zhi-guang^{1,3}, YAN Ling-geng¹

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;
2. Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research, Nanjing 210046, China;
3. Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] Use the methods of serum pharmacology of Chinese medicine study the potency, material base, action mechanism of the compound traditional Chinese medicine. Chose the best experimental scheme by the chosen of animals, administration dosage, dosage regimen, blood sampling regime, control group establishment, inactivation, storage and addition quantity of serum. Compound traditional Chinese medicine can regulate nervous system, protect myocardial cells, promote the proliferation of vascular endothelial cells, prevent asthma, enhance immune, antibacterial, anti-inflammatory, antiviral, anti-fibrosis and delay the development of diabetic nephropathy. Serum pharmacology of Chinese medicine have good application in nervous system, cardiovascular system, respiratory system, immune system, digestive system, reproductive system, urinary system, skeletal system, anti-inflammatory, antiviral and anti-fibrosis etc, which can provide a good method for the compound traditional Chinese medicine research.

[Key words] compound traditional Chinese medicine; serum; experiment *in vitro*

[收稿日期] 20100316(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30772766); 江苏省自然科学基金项目(BK2007239)

[第一作者] 黄臣虎, 硕士, 研究方向: 肿瘤血管生成与肿瘤转移, Tel: 15005145005, E-mail: huangchenhu@sina.com

[通讯作者] * 陆茵, 教授、博士生导师, 从事肿瘤血管生成与肿瘤转移研究, Tel: 025-86798154, E-mail: luyingreen@126.com

中药血清药理学是指将中药或中药复方经口给动物灌服一定时间后采集动物血液、分离血清, 以含药血清代替中药粗提物作为药物源加入离体反应系统中从而研究其药理作用的一种半体内实验方法。它是由日本学者田代真一于 1987 年首次提出的, 是为了研究中药复方而诞生的一种新的体外实验方法^[1]。经过多年众多专家学者的不懈努力, 取得了很大的发展。该法是近年来逐渐发展起来的研究中药药效较为科学的一种方法, 为中药作用机制和物质基础的深入研究提供了一种新思路和新方法。在中药复方药理研究中,

特别在进行体外研究的时候,会遇到一些麻烦。由于中药成分众多,中药复方配伍更是复杂多变,除了有效成分外,很多杂质,如鞣质,电解质等,或是药物的酸碱度都可能对体外的细胞、器官或组织等产生一些不必要的影响,制约着体外研究的进行。中药血清药理学的出现在很大程度上克服了中药复方及粗提物在体外研究时的不便,具有可控性好,重复性高,可以减少各种干扰因素的影响,使得中药复方药理作用机制的深入研究成为可能。

1 研究方法

1.1 实验动物的选择 中药血清药理学的研究首先的是要选择动物,动物的种属性不同,其血清成分也就不同,因此应选择与人类生物特性尽量相似的动物。在目前中药血清药理学研究中,大鼠、家兔、豚鼠是用来制备含药血清的常用动物^[24]。另一方面,体外实验时应尽量使用与制备含药血清的动物同一种属的细胞、离体组织或器官等,这样做可以缩小动物血清和动物细胞、器官之间因种属差异而造成的免疫反应,从而提高实验结果的可靠性。

1.2 给药剂量和给药方案 为了要得到含药血清,首先要给动物用药,因此,如何确定给药剂量,是一个相当关键的问题。原因有二:第一,得到的含药血清加入体外反应体系后,药物浓度将被稀释,从而可能达不到在体条件下的药物浓度,可能出现因药物浓度过低而导致的假阴性结果。为此,有学者提出2种解决方法:一是增大给药剂量,给药剂量=临床用药量×动物等效剂量系数(按体表面积)×培养基内血清稀释度^[5]。或者按新药药理研究的技术要求设计剂量给药,将含药血清制成冻干粉,以冻干粉形式加入反应系统,使之达到所需要的浓度。第二:给药剂量也不能过大,要充分考虑到动物的承受能力以及因给药剂量过大而产生的毒副作用。具体给药剂量视具体药物而定,不能一概而论。

给药次数的选择也至关重要,有每天给药2次,连续给药3 d^[6],亦有给药4 d^[7]。有研究表明,连续用药5 d和10 d,制备的含药血清的生物学效应是相似的^[8]。无论哪种方法,目的均是使药物在血液内达到稳态。

1.3 采血方案 理论上采血时间应选择在该药浓度的高峰期,但由于中药成分的复杂性,不同成分给药后达峰值时间不同,因此给采血时间的选择带来了很大的难度。可以根据目前已掌握的大量药物包括合成药物和天然药物在内的有效成分的药物代谢动力学数据,模拟出一个较为合理的可供参考的采血方案。

一般采血时间多集中在末次给药后30 min至3 h间,如梁春敏等^[9]发现用玉屏风散水煎液对小鼠灌胃,于给药后15,30 min,1,1.5,2,2.5,3,4 h分别在无菌条件下取血,分离血清进行NK细胞杀伤活性、脾脏T细胞增殖活性和分泌IL-2活性等免疫功能检测。结果发现1 h时试验血清促进小鼠脾淋巴细胞增殖能力,促进小鼠IL-2产生的作用最强,且能增强NK细胞的活性,证明玉屏风散对免疫功能的药效影响集中在服药后30 min~2 h,在1 h时达到峰值。魏雅芹等^[7]

在银杏叶提取物中药血清药理学方法的建立及验证中确定于末次给药后2 h采血时血清中GBE各有效成分的含量最高。

1.4 血清灭活与保存 血清中含有多种酶、抗体、补体及其他生物活性物质,它们对体外培养的细胞、病毒、病原菌以及直接用于体外实验的组织器官等是否会产生影响而干扰实验结果,经灭活的血清是否能排除这些干扰因素并对药效不产生影响?有学者通过研究蜂胶左金丸含药血清抗Hp的作用时发现,在含药血清体外抑菌实验中,抗菌效果以使用新鲜未灭活血清为最好,灭活及冰冻3周的血清的抗菌效果会降低^[10]。也有灭活后功效丧失的报道^[11],作者指出低温冷冻真空抽干从理论上讲不应该破坏血清中的蛋白质成分,却出现阴性结果,说明处理过程丢失了药物诱导产生的有协助补体作用的活性成分或使其活性减弱,其原理有待进一步探讨。也有学者认为血清灭活与否对实验结果影响不大^[12]。但有些成分,如一些抗肿瘤中药中常含有多糖及氨基酸等成分,在体外抗肿瘤实验中属于药物的有效成分,如黄芪中的黄芪多糖,人参中的人参皂苷等,一旦进行血清灭活处理后,这些物质在数量上或功能上可能会降低抗肿瘤疗效,不能如实地反映中药的抗肿瘤效应。周明眉等^[12]发现含药血清经长期低温保存(-20℃,2个月)后药效显著降低($P < 0.01$),提示含药血清在保存过程中其中药有效成分会发生分解等变化,致使药效成分含量显著降低,即使低温冷冻保存仍影响其药效。为了保持含药血清的正常状态及其中有效成分的活性,一般采用新鲜的含药血清,如必须灭活,也应使用新鲜灭活的血清,不宜长时间保存。

1.5 血清添加量和对照组的设立 在采用中药血清药理学方法进行研究时,应考虑血清本身所含物质成分及血清体积等因素对体外实验结果的影响,这对探索最佳反应体系,具有一定的实际意义。在血清添加方法上,多是采用含药血清与常规培养血清(小牛或胎牛血清)并存的方法。目前中药含药血清的浓度还没有确切的规定,选用5%,10%,20%浓度的含药血清进行实验所得结果的说法不一。王霖等^[13]认为实验时含药血清1:9稀释比较合适,这与常规培养细胞时10%血清添加量一致。

由于血清中含有许多活性物质,空白血清本身亦具有活性,因此实验过程中必须设立严格的空白血清对照组,以排除空白血清中某些成分对整个实验的影响。李仪奎等^[14]认为,如果以不同剂量的药物给予动物,取同体积的血清作为不同剂量药物加入体外反应系统,则空白血清对照组可只设一组(等体积的空白血清)。如果以一种剂量给予动物,以不同体积的药物血清加入量作为不同剂量组,则空白血清对照组应设相应不同加入量的数个对照组。阳性对照组无论是中药还是西药,均应制成含药血清进行对照。在统计处理时,不能把空白血清对照组作为零而应以实际测得的数据表示。

2 在中药复方研究中的应用

中药血清药理学能通过有效成分在血中的动态变化、相互作用及与药效的相互关系,更好地反映中药复方的配伍原则和药物的量效关系,并在一定程度上揭示中药及其复方在胃肠内处置过程中活性成分的转化与改变。目前中药血清药理学的方法被应用在很多方面。

2.1 对神经系统作用的研究 王宁宁等^[2]通过对癫痫大鼠给予复方中药提取物,分离血清,将含药血清加到癫痫大鼠离体海马脑片系统,观察复方中药对癫痫大鼠海马脑片 CA1 区诱发场电位的影响。结果表明,灌胃给予复方中药提取物后,含药血清均能使癫痫大鼠海马脑片诱发场电位的幅度明显下降,同时场电位恢复正常的时间也明显缩短 ($P < 0.05$),从而表明复方中药能降低癫痫大鼠海马脑片诱发场电位的幅度,提示复方中药具有抗癫痫作用。杨胜等^[15]在研究六味地黄汤益智作用的机理中应用血清药理学和电生理方法,观察六味地黄汤含药血清对原代培养大鼠海马神经元自发突触活动的影响。结果发现含药血清作用 48 h 可明显增加海马神经元自发动作电流 (spontaneous action current, sAC) 和微小兴奋性突触后电流 (miniature excitatory post synaptic current, mEPSC) 的产生频率,但并不影响 mEPSC 的幅度。表明六味地黄汤可作用于突触前位点对海马神经元突触活动产生调节作用,该作用可能是其调节海马神经元的兴奋性进而发挥益智作用的机制之一。

2.2 对心血管系统作用的研究 邱幸生等^[16]通过实验表明:益气通络方低、中、高剂量含药血清处理组心肌细胞 bcl-2 阳性表达比率均较单纯缺氧再给氧组有显著增高,提示益气通络方能增强 bcl-2 的表达,这可能是益气通络方保护缺氧再给氧心肌细胞,发挥抗缺氧再灌注损伤的重要机制之一。隋因^[17]等观察灌胃给予红花提取物的家兔的含药血清对豚鼠离体心脏的作用,发现灌胃给予红花提取物 5, 10, 20 $g \cdot kg^{-1}$ 后,含药血清均能显著增加豚鼠离体心脏冠脉流量,增强心搏幅度及减慢心率,并在灌胃给予红花提取物后 60 min 所采血清的指纹谱中出现一些新的峰。刘红等^[18]观察家兔灌胃给予生脉散后,其含药血清对豚鼠离体工作心脏血流动力学的影响,结果表明生脉散含药血清具有正性肌力和负性频率作用。曹燕明等^[19]用中药血清药理学的方法研究补肾益气活血方骨炎定对血管内皮细胞增殖的影响,结果表明骨炎定对血管内皮细胞增殖具有促进作用。

2.3 对呼吸系统作用的研究 有学者利用中药血清药理学的方法,对豚鼠用药后取血清,观察用血清处理后的豚鼠离体气管条受氯化乙酰胆碱 (Ach) 诱发的收缩情况,结果表明中药循经敷贴法有预防哮喘的作用^[4]。

2.4 对免疫功能作用的研究 梁春敏等^[9]研究发现玉屏风散试验血清在灌胃后 30 min ~ 2 h 时小鼠脾淋巴细胞增殖、小鼠 IL-2 产生均有明显促进作用,其中以 1 h 时作用最强,1 h 时小鼠免疫功能有显著增强作用。罗春丽^[20]等发现余甘子冻干粉溶液灌胃后 30 ~ 180 min 不同时相含药血清对小鼠脾淋巴细胞具有活化作用,并在给药 2 h 时实验血清

活化作用明显,大剂量组实验血清对促进小鼠脾淋巴细胞增殖,促进小鼠腹腔巨噬细胞细胞活化作用均具显著差异性。全世明等^[21]应用血清免疫药理方法探讨通痹灵对 T 细胞体外活化的影响,结果表明通痹灵含药血清选择性地抑制 ConA 刺激的 T 细胞活化,而对 PDB 刺激的 T 细胞活化无影响。推测抑制类风湿关节炎疾病启动与发展中异常的 T 细胞活化,是通痹灵治疗类风湿关节炎重要机制之一。

2.5 对抗菌作用的研究 韩俭等^[11]通过对用柴黄片制备的新鲜含药大鼠血清进行 3 种不同处理 (灭活、未灭活、未灭活冻干) 后抗菌试验结果的比较指出灭活后的含药血清对 4 种细菌均无抑制作用,而未灭活含药血清对流感嗜血杆菌、大肠杆菌 (均为 G 菌) 有明显抑制或杀灭作用。还有学者研究复方清热颗粒剂含药血清对低浓度抗生素环境下细菌耐药性的影响时发现,复方清热颗粒剂具有延缓和控制细菌在低浓度抗生素诱导下产生耐药性以及多重耐药作用^[13]。

2.6 对抗炎作用的研究 胡丽萍等^[22]在藿胆丸对鼻炎-鼻窦抗炎作用的实验研究中发现藿胆丸含药血清对鼻炎相关细菌金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、大肠杆菌、肺炎克雷伯菌无显著影响;藿胆丸高、中剂量组能明显降低小鼠组胺荧光值和前列腺素 A 值。提示藿胆丸治疗慢性鼻炎-鼻窦炎的作用可能并非通过抑制相关细菌实现,可能是通过抑制炎症发生、发展过程中炎症组织中组胺、前列腺素的含量发挥抗炎作用。崔晓燕等^[23]在金银花提取物含药血清对正常的及 LPS 刺激的大鼠原代小胶质细胞释放 NO 的影响中发现金银花提取物含药血清在不影响细胞存活率的情况下,可以明显降低正常及 LPS 刺激大鼠原代小胶质细胞 NO 的释放量,表明金银花提取物含药血清具有抗炎及免疫抑制作用。

2.7 对抗病毒作用的研究 在中药复方抗乙型肝炎病毒的作用研究中,利用复方的含药血清加到体外培养的 2.2.15 细胞中,观察含药血清对 2.2.15 细胞 HBV 表面抗原 (HBsAg)、HBV e 抗原 (HBeAg) 分泌的影响,如有学者研究广西藤茶提取物 APS 的时候,对该提取物进行中药血清药理学研究,结果表明 APS 含药血清对 2.2.15 细胞分泌的 HBsAg、HBeAg 有显著抑制作用,证明 APS 对 2.2.15 细胞分泌乙型肝炎病毒抗原具有抑制作用^[24]。还有利用中药血清药理学研究清肺口服液拮抗呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染,观察到清肺口服液具有明显抗 RSV 的作用,与利巴韦林比较差异无统计学意义,作用机制可能为抑制病毒吸附或增殖。表明清肺口服液可以通过不同环节拮抗 RSV 病毒,是治疗 RSV 感染的有效复方制剂^[25]。

2.8 对抗肿瘤作用的研究 蔡朔等^[26]采用中药血清药理学的方法观察了四种中药复方在诱导肿瘤细胞凋亡、降低酶活性等研究中的应用。应用治疗肝癌、胃癌、肺癌、大肠癌等中药血清学方法,探讨其诱导肿瘤细胞凋亡、降低肿瘤细胞三磷酸腺苷酶 (Mg^{2+} -ATPase) 与葡萄糖-6-磷酸酶 (G-6-Pase) 酶活性作用。结果:①4 种不同中药复方的中药血清,均能诱导相应肝癌细胞株、A549 人肺癌细胞株、CCL-229 人大肠

癌细胞株和 SGC-7901 胃癌细胞株发生凋亡。②降低肿瘤细胞三磷酸腺苷酶与葡萄糖-6-磷酸酶活性。证明中药血清药理学方法在诱导肿瘤细胞凋亡、降低酶活性等研究中的应用具有稳定性、可信性。有研究通过动物体内抑瘤实验和中药血清药理学实验比较,选择4个体内抗癌试验有效的中药复方制剂样品进行体内及中药血清药理学的试验,结果表明体内抑瘤有效的抗肿瘤方剂中药血清药理学检测均有抗癌活性,与体内试验一致^[27]。

2.9 对消化系统作用的研究 张兵等^[28]研究证明,在适宜条件下制备的复方五仁醇胶囊含药血清对肝细胞损伤具有明显的保护作用,表明中药血清药理学研究方法可以用于该制剂的药效评价。有研究表明莱菔子含药血清具有明显的促结肠动力作用^[29]。

2.10 对生殖系统作用的研究 夏誉薇等^[30]利用鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)模型评价女贞孕育汤的血管生成活性和促进血管生成的作用,结果表明服用中药后的促血管生成活性和作用显著增强。王明军^[31]在芍药复方的水提部位、水提醇沉部位及醇提部位的灌胃给药血清有促进宫缩的作用,而挥发油部位则有抑制宫缩的趋势,且各部位的药峰时间均不同,表明同一处方的不同提取部位具有不同的药效和时效性,其产生的效应是成分多样化、作用多重性的综合体现。

2.11 对泌尿系统作用的研究 近年的中药血清药理学相关文献证实中药能从多个环节作用于肾小球系膜细胞^[32-33],并能调节和影响细胞凋亡^[34]。其他有研究表明中药及其复方对肾小管上皮细胞有着不同程度的保护作用^[35-36]。近年来的研究还提示,黄芪含药血清能使高糖诱导下的肾间质成纤维细胞的 HGF 及其特异性受体 c-met 的表达量增加^[37-38],从而起到抗纤维化并延缓糖尿病肾病进展。

2.12 对骨骼系统作用的研究 张军等^[39]在骨碎补总黄酮含药血清对成骨细胞增殖、分化、周期及凋亡的影响研究中发现:不同浓度的骨碎补总黄酮大鼠含药血清均可促进成骨细胞增殖、分化,使处于 DNA 合成期细胞比例增加,使早期和晚期凋亡细胞比例减少,证明骨碎补总黄酮含药血清具有抗骨质疏松活性。还有学者利用中药血清药理学的方法证明甘肃产华中五味子 95% 乙醇提取物对体外大鼠成骨细胞的增殖和分化具有促进作用^[40],从而发现该药的有效部位。

2.13 其他 有学者利用中药血清药理学的方法研究复方中药对 B16 黑色素瘤细胞黑色素合成的影响,表明复方中药含药血清能明显抑制黑色素瘤细胞的增殖($P < 0.01$),并能明显促进酪氨酸酶的活性($P < 0.01$),并呈剂量依赖性^[41]。该法还可以利用在药剂剂型的评价上,如利用该法评价复方丹参缓释片的缓释作用^[42]。

3 存在的问题及解决方法

综上,中药血清药理学被广泛应用在多种研究领域,取得了很多的成果。但就中药血清药理学整个研究现状而言,现阶段还面临着一些问题,亟待研究解决。

3.1 选择的动物所处的生理病理状态 动物在生理与病理2种不同的状态下对药物的消化吸收能力不同,对药物的生物转化能力不同,尤其是机体在药物的作用下产生的反应不同,产生的有效成分也可能不同。目前中药血清药理学研究文献中,绝大多数是采用正常动物制备含药血清。但也有研究表明,病理状态下的动物制备的血清可能有更好的作用,如殷飞等^[43]观察用2种方法制备的清肝化瘀方药含药血清对人肝癌细胞增殖和凋亡的影响表明,正常大鼠的含药血清对肝癌细胞 SMMC-7721 增殖有轻微的抑制作用,而病理状态下大鼠的血清对肝癌细胞有明显的抑制作用,2种血清的抑制效应均呈时间依赖性。病理大鼠的含药血清还能促进肝癌细胞凋亡,使细胞滞留于 G_{0/1} 期,降低 SPF 和 PI。此后,姚树坤等^[44]比较肝癌患者和健康志愿者服药前后血清对 SMMC-7721 肝癌细胞 TGF β R I, TGF β R II mRNA 和蛋白表达的影响,结果表明肝癌患者病理性含药血清的作用强于健康人含药血清。就临床实际用药特点来看,采用病理状态下的动物制备含药血清可能符合科学。所以到底采用正常状态下的动物还是病理状态下的动物,还是一个值得商榷的问题。

3.2 血清和血浆的选择 在体外实验中,全血指抗凝的血液,血浆指抗凝血液离心后去除血细胞的上清液,血清指凝血完成后未稀释的细胞外液,有学者撰文指出,三者存在明显的差别,并对中药血清药理学提出质疑,建议用含药血浆代替含药血清^[45-46]。有研究证明,含药血浆中的有效成分优于含药血清^[47]。鉴于血清与血浆存在的差异,为反映体内的实际情况,越来越多学者主张在医学研究与临床检验中,特别是蛋白组学、肽组学与代谢组学研究,最好采用血浆,只有在抗凝剂干扰检验结果的情况下,才考虑采用血清。

3.3 给药方式、给药剂量、给药方案、采血时间 如前所述,给药剂量如果设置不合理,将可能出现假阴性的结果。但如果剂量加倍,血清中的有效成分的含量并不会呈线性上升,而且会受动物承受能力的限制。传统的中药血清药理学以口服灌胃为主要的给药方式,而腹腔给药,静脉给药等方式会不会带来不同的效果,还需要研究。给药次数,采血时间的不同都会产生不同的效果。由此可见,要设计一个合理的给药剂量,既不能太大,也不能太小,且有效成分要能达到稳态浓度,并要在某个适当的时间内进行采集就显得相当重要,这也是中药血清药理学研究中面临的一项困难和挑战。

3.4 含药血清的处理 有学者建议使用血清冻干粉代替血清运用在体外实验中,根据需要控制反应体系中的药物浓度,使体外反应系统中药物浓度同体内血药浓度相等,这是为了防止体外实验时药物浓度被稀释而采取的一种方法,有一定的合理性,但低温冷冻血清是否会改变其理化性质及生物活性还需要进行更多的研究。

4 综合评价及展望

由于起步较晚,关于中药血清药理学还有许多问题需要探索和完善,需要不断地积累基础研究资料。尽管在中药血

清药理学的应用过程中存在不少问题,但作为一门新兴方法学,它在复方药理学研究中具有不可替代的作用。随着中药血清药理学研究的不断深入,特别随着分析和分离手段的不断提高,药物血清、药物代谢血清、药物作用后状态血清以及病理血清和分离成分血清等的研究,进一步发展和完善了中药血清药理学。中药血清药理学和其他学科如分析化学、药代动力学、分子生物学等学科的交汇也推动着中药血清药理学的发展。相信通过不断地研究和发展,中药血清药理学必定能克服自身的不足,从而更广泛地应用于中药研究领域,为中药,特别是中药复方的药效评价,作用机制的阐明以及指导药物在临床应用等方面发挥更大的作用。

[参考文献]

- [1] Iwama H, Amagaya S, Ogihara Y. Effect of shosaikoto, a Japanese and Chinese traditional herbal medicinal mixture on the mitogenic activity of lipopolysaccharide: A new pharmacological testing method [J]. J Ethnopharmacol, 1987, 21(1): 45.
- [2] 王宁宁,李月,姜明燕.血清药理学方法研究复方中药对癫痫大鼠离体脑片的作用[J].中药材,2008,31(4):573.
- [3] 杨钧,张淑文,阴宏,等.复方清热颗粒剂含药血清对低浓度抗生素环境下细菌耐药性的影响[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(10):24.
- [4] 沈惠风,李祎群,金若敏,等.中药外敷治疗哮喘的血清药理学实验研究[J].中西医结合学报,2007,5(1):70.
- [5] 王力倩,李仪奎,符胜光,等.血清药理学方法研究探索[J].中药药理与临床,1997,13(3):29.
- [6] 刘倩,马学盛.化浊行血汤含药血清血管内皮保护作用及其体内给药时效差异的研究[J].时珍国医国药,2009,20(10):2501.
- [7] 魏雅芹,汤道权,高媛媛,等.银杏叶提取物血清药理学方法的建立及验证[J].中药药理与临床,2009,25(3):74.
- [8] 李秀荣,张丹,齐元富,等.消瘤平移剂含药血清诱导肝癌 H-7402 细胞凋亡的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2001,21(9):684.
- [9] 梁春敏,王贤喜,董群,等.玉屏风散对小鼠免疫调节作用的血清药理学研究[J].上海免疫学杂志,2003,23(6):385.
- [10] 李平,楚更五,周华,等.蜂胶左金丸含药血清抗幽门螺杆菌的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(3):59.
- [11] 韩俭,于红娟,吴勇杰,等.中药血清药理学方法学研究——抗菌试验含药血清处理方案的研究[J].中药药理与临床,2002,18(1):47.
- [12] 周明眉,杨奎,姜远平,等.中药血清药理学的方法学研究——含药血清低温保存和血清灭活的影响[J].中药药理与临床,1999,15(2):44.
- [13] 王霖,张云,汪受传.中药血清药理学研究中含药血清添加量问题的商榷[J].山西中医,2006,22(1):51.
- [14] 李仪奎.中药血清药理学实验方法的若干问题[J].中药新药与临床药理,1999,10(2):95.
- [15] 杨胜,刘振伟,周文霞,等.六味地黄汤含药血清对海马神经元突触活动的影响[J].中国实验方剂学杂志,2003,9(4):22.
- [16] 邱幸生,陈素云,沈剑刚,等.益气通络方对缺氧再给氧心肌细胞 bcl-2 基因表达影响的血清药理学研究[J].中国中医基础医学杂志,2001,7(3):38.
- [17] 隋因,孙沂,郭涛,等.运用血清药理学方法研究红花对豚鼠离体心脏的作用[J].沈阳药科大学学报,2003,20(5):373.
- [18] 刘红,艾民仙,阳辉.运用血清药理学方法研究生脉散对豚鼠离体工作心脏的作用[J].时珍国医国药,2007,18(8):1815.
- [19] 曹燕明,徐海波,张薇,等.骨炎定促进血管内皮细胞增殖的血清药理学研究[J].广州中医药大学学报,2006,23(3):245.
- [20] 罗春丽,张永萍,邱德文,等.民族药余甘子冻干粉免疫调节作用的血清药理学研究[J].时珍国医国药,2006,17(2):188.
- [21] 全世明,曾耀英,陈纪藩,等.通痹灵对多克隆刺激剂作用下小鼠 T 细胞 CD69 表达影响的血清免疫药理评价[J].中国免疫学杂志,2002,18(5):330.
- [22] 胡丽萍,李健,齐珊珊,等.藿胆丸对鼻炎-鼻窦炎抗炎作用的实验研究[J].世界中西医结合杂志,2008,3(5):257.
- [23] 崔晓燕,董玫.金银花提取物含药血清对正常的及 LPS 刺激的大鼠原代小胶质细胞释放 NO 的影响[J].河北医科大学学报,2008,29(2):245.
- [24] 欧贤红,袁叶飞,韦汉燕,等.血清药理学方法研究广西藤茶提取物对乙肝病毒的作用[J].哈尔滨医药,2007,27(6):5.
- [25] 赵长江,袁斌,徐建亚,等.清肺口服液拮抗呼吸道合胞病毒感染血清药理学研究[J].中国中医药信息杂志,2009,16(1):34.
- [26] 蔡朔,刘山,张丽红,等.血清药理学方法在诱导肿瘤细胞凋亡降低酶活性研究中的应用[J].中华中医药学刊,2008,26(5):1108.
- [27] 冯文茹,赵秀梅,沈洪昇,等.中药方剂体内及含药血清抗肿瘤作用的比较[J].中华中医药学刊,2009,27(6):1230.
- [28] 张兵,窦志华,罗琳,等.复方五仁醇胶囊保肝作用的

- 血清药理学研究[J].南通大学学报:医学版,2007,27(6):494.
- [29] 石艳婷,司春峰,刘斌,等.莱菔子含药血清对大鼠离体结肠平滑肌肌条的作用[J].山东大学学报:医学版,2009,47(1):34.
- [30] 夏誉薇,蔡连香,张树成.女贞孕育汤对鸡胚绒毛尿囊膜血管生成模型血清药理学研究[J].中医药学刊,2003,21(4):531.
- [31] 王明军.芎姜复方不同部位宫缩效应的时-效研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(8):50.
- [32] 郭立中,章念伟,刘玉宁,等.内皮素受体拮抗剂阿魏酸钠对人肾小球系膜细胞增殖及细胞外基质的影响[J].中国病理生理杂志,2003,19(8):1115.
- [33] 柴可夫,王亚丽.糖肾汤对糖基化蛋白诱导培养下系膜细胞 MMP-2 表达的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2007,8(1):28.
- [34] 王宇晖,童孟立,朱晓玲,等.黄芪金樱子合剂改善氧化低密度脂蛋白诱导大鼠肾系膜细胞凋亡的研究[J].中国中医药科技,2005,12(6):341.
- [35] 孙伟,孙世竹,赖仁胜,等.益肾活血清利复方对 HK2 细胞 TEMT 过程中波形蛋白作用的实验研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2008,9(2):152.
- [36] 方静,谌贻璞,杨彦芳,等.益肾软坚散含药血清拮抗马兜铃酸对人近端肾小管上皮细胞的作用[J].中国中药杂志,2005,30(9):704.
- [37] 牟娜,张庆怡,倪兆慧,等.黄芪对高糖作用下肾间质成纤维细胞表达 HGF 的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2002,3(1):7.
- [38] 牟娜,倪兆慧,张庆怡.高糖诱导人肾间质成纤维细胞 c-met 的表达及黄芪对其的调节作用[J].中西医结合学报,2008,6(5):482.
- [39] 张军,李浩鹏,杨平林,等.骨碎补总黄酮含药血清对成骨细胞增殖、分化、周期及凋亡的影响[J].中药材,2009,32(7):1090.
- [40] 樊秦,赵文君,李应东.华中五味子含药血清对成骨细胞增殖分化的影响[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(2):33.
- [41] 刘雅男,娄建石,赵振宇,等.血清药理学方法研究复方中药对 B16 黑色素瘤细胞黑素合成的影响[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2005,4(3):155.
- [42] 邱明丰,彭腾,罗海燕,等.以血清药理学方法研究复方丹参缓释片的缓释作用[J].中草药,2008,39(3):411.
- [43] 殷飞,姚树坤,吴新满,等.清肝化瘀方药含药血清对肝癌细胞 SMMC-7721 增殖和凋亡的影响[J].中药药理与临床,2004,20(3):30.
- [44] 姚树坤,孔丽,张瑞星,等.肝癌患者肝瘤口服液含药血清对 SMMC-7721 肝癌细胞 TGF β 受体表达的影响[J].中药药理与临床,2006,22(3/4):169.
- [45] 葛金文,朱惠斌,王宇红,等.关于中药血清药理学方法的再思考[J].世界科学技术——中医药现代化,2008,10(6):16.
- [46] 贺石林,葛金文,贺蓉,等.质疑血清药理学,加强多层次半体内实验研究[J].中国药理学通报,2005,21(3):277.
- [47] 罗琳,窦志华,丁安伟,等.大鼠灌胃复方五仁醇胶囊后血清和血浆中五味子醇甲和五味子乙素的比较[J].中草药,2006,37(10):1486.

[责任编辑 邹晓翠]