

## 黄连解毒汤抗氧化作用的血清药理学研究

宋瑛<sup>1</sup>, 路通<sup>2</sup>, 谢林<sup>3</sup>, 刘晓东<sup>3\*</sup>

(1. 安徽医科大学药学院, 合肥 230032; 2. 中国科学院上海药物研究所药物代谢研究中心, 上海 20120; 3. 中国药科大学江苏省药物代谢动力学重点实验室, 南京 210038)

[摘要] 目的: 研究黄连解毒汤及其单味药对细胞氧化损伤保护作用的药效动力学, 并对其血清药理学方法进行探讨。方法: 采用血清药理学方法, 研究黄连、黄芩、黄连解毒汤含药血清对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所致 PC12 细胞氧化应激损伤保护作用的时间-效应关系; 并研究黄连、黄芩、黄连解毒汤提取物和小檗碱、黄芩苷纯品对氧化损伤保护作用的剂量-效应关系。结果: 各药的含药血清对细胞氧化损伤都有明显的保护作用, 其中以黄连解毒汤作用最强, 黄芩和黄芩苷次之, 黄连最弱; 在试验浓度范围内, 黄连解毒汤和黄芩提取物对模型细胞有剂量依赖性保护作用, 而黄连没有保护作用; 在 0.15 ~10 μg·mL<sup>-1</sup> 浓度范围内, 黄芩苷对细胞模型有保护作用, 且呈剂量依赖性。0.15 ~10 ng·mL<sup>-1</sup> 浓度范围内, 小檗碱没有明显的保护作用。结论: 黄连解毒汤体内抗氧化作用强于各单味药; 黄芩苷可能是黄芩及其含药血清中的抗氧化成份之一, 而小檗碱与含药血清的抗氧化作用无关; 黄连解毒汤及其单味药含药血清对细胞氧化应激模型的保护作用呈时间和剂量依赖性。

[关键词] 黄连解毒汤; 血清药理学; PC12 细胞; 过氧化氢; 氧化应激损伤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0118-05

### A serum pharmacological study on antioxidation effects of Huanglian Jiedu Tang

SONG Jue<sup>1</sup>, LU Tong<sup>2</sup>, XIE Lin<sup>3</sup>, LIU Xiao-dong<sup>3\*</sup>

(1. The College of Pharmacy of Anhui Medical University, Hefei 230038, China; 2. DMPKCenter, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Science, Shanghai 201203, China; 3. China Pharmaceutical University Key Laboratory of Drug Metabolism&Pharmacokinetic, Nanjing 210038, China)

**[Abstract] Objective:** To study protective effects of Huanglian Jiedu Tang (HLJDT) and its components Coptidis Rhiyoma (CR), Scutellariae Radix (SR) on oxidative stress-induced PC12 cell injury. **Methods:** Serum pharmacological method was used to study effects of HLJDT, CR, SR on the cell oxidative injury. The herb-contained serum, obtained at different time after dosing in rats, was added to the cultured oxidative PC12 cells. The viability of PC12 cells was determined by MTT colormetric microassay. Effects of decoctions of HLJDT, CR, SR, herberine and baicalin were investigated as well. **Result:** The herb-contained serum of HLJDT, SR, CR, baicalin and the decoctions of HLJDT, SR, baicalin had protective effects on cell injury so did baicalin at 0.15 ~10 μg·mL<sup>-1</sup>. But herberine and the decoctions of CR had no effect. **Conclusion:** Obtained serum after ig. HLJDT and its components in rats have protective effect on oxidative stress-induced PC12 cell injury in a dose-dependent and time-dependent manner. Baicalin may act as an antioxidant in the herb-contained serum of HLJDT as well as in the decoctions.

**[Key words]** Huanglian Jiedu Tang; serum pharmacology; PC12 cell; hydrogen peroxide; oxidative stress-induced injury

黄连解毒汤 (Huanglian Jiedu Tang, HLJDT) 原载 《外台秘要》崔氏方, 为中医经典清热解毒名方。主

治实热火毒、三焦热盛等证。HLJDT 有广泛的药理作用,近年,其抗氧化作用日益受到重视。研究表明,该方能有效地降低体内自由基的生成,在体内、外实验中均有显著的抗氧化作用。因而,被用于多种心脑血管疾病的临床治疗。

本实验采用血清药理学方法,选用  $H_2O_2$  诱导的 PC12 细胞氧化应激模型,研究了 HLJDT 及其单味药黄连、黄芩等含药血清和提取物对模型细胞损伤保护作用的量-效关系与时-效关系,旨在进一步阐明其药效动力学。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠,雄性,体重(250 ~280) g, 上海西普尔 - 必凯试验动物中心提供,合格证号: SCXK (沪) 2003-0002。

## 1.2 药品与试剂

**1.2.1 黄连解毒汤** 黄连、黄芩、黄柏、栀子,购自南京药业股份有限公司药材分公司,并经中国药科大学生药学教研室陈立娜博士鉴定。黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根茎;黄柏为芸香科植物黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 除去栓皮的干燥树皮;栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia baicalensis* Georgi 的干燥根。

**1.2.2 药材提取物制备** 黄连、黄芩、黄柏、栀子按古方比例 3 2 2 3 称重混合,10 倍量水浸泡 1 h,加热煮沸后文火煎煮 1 h,趁热过滤。同法煎煮 2 次。合并 3 次滤液,加热浓缩成浸膏。100 ℃ 烘干,研磨成粉,冷藏保存。所得提取物粉末(HLJDT)相当于 4.57 生药  $g \cdot g^{-1}$ 。同法制得黄芩提取物(SR)(3.75 生药  $g \cdot g^{-1}$ )、黄连提取物(CR)(3.9 生药  $g \cdot g^{-1}$ )。

提取物经 HPLC 法进行主成分定量分析,黄连提取物中含小檗碱  $190 mg \cdot g^{-1}$ ;黄芩提取物中含黄芩苷  $160 mg \cdot g^{-1}$ ;黄连解毒汤提取物含小檗碱  $53 mg \cdot g^{-1}$ ,黄芩苷  $40 mg \cdot g^{-1}$ 。

**1.2.3 试剂** 小檗碱(含量 >99%)为中国药科大学潘国宇博士惠赠;黄芩苷购自于中国药品生物制品检定所。PC12 细胞株由上海药物研究所提供;MIT[溴化-(4,5-二甲-2-噻基)-2,5-二苯基四氮唑,  $C_{18}H_{16}W_5SBr$ ] 纯度 98.0%,批号 0793, AMRESCO 产品。MIT 溶液制备:取 250 mg MIT,加入 50 mL PBS( $0.01 mol \cdot L^{-1}$ , pH7.4) 搅拌 30min,  $0.22 \mu m$  微孔滤器除菌,分装,4 ℃ 保存。完全 DMEM 培养基, Gibco 产品, Lot: No. 1255136; 胰蛋

白酶, Sigma 产品,批号 Lot: 03029; 小牛血清,杭州四季青生物工程材料研究所产品;尼莫地平,山东新华制药厂;D-Hank s 溶液;PBS 溶液。

**1.3 主要仪器** Thermo Forma steri-cycle  $CO_2$  Incubator; COIC XDS-1B 倒置生物显微镜; PowerWavex Microplae Scanning Spectrophotometer; ZHWY-100C 恒温培养振荡器 上海智城分析仪器制造有限公司。

## 2 方法

**2.1 PC12 细胞培养<sup>[1]</sup>** 将长满培养瓶底的 PC12 细胞以胰蛋白酶液进行消化,消化终止后,用完全 DMEM 培养液稀释成  $1 \times 10^5$  细胞  $\cdot mL^{-1}$  的悬液,接种于 96 孔培养板中,37 ℃ 5%  $CO_2$  条件下培养,待细胞长满单层,即可用于实验。

**2.2 MTT 法测定细胞存活力** 将 MTT 加入培养板,使终浓度为  $0.5 mg \cdot mL^{-1}$ ,继续培养 4h,吸去培养液,每孔加入二甲基亚砷 200  $\mu L$ ,待溶解充分后,测定 570 nm 处吸收度值(A),计算药物对 PC12 细胞氧化应激损伤的保护率:

$$\text{保护率}(\%) = [A(\text{drug}) - A(\text{model})] / [A(\text{control}) - A(\text{model})]$$

## 2.3 空白血清及含药血清对细胞氧化损伤的影响

取细胞培养成功的培养板,弃去培养液, D-Hank s 液洗 2 次。加入不同量的血清,使空白血清和含药血清的终浓度分别为 2.5%, 5%, 10%, 20%, 培养 30 min。加入终浓度为  $2 mmol \cdot L^{-1}$  的  $H_2O_2$  培养 3 h。吸去含  $H_2O_2$  的培养液, D-Hank s 液洗 2 次。加入不含小牛血清的 DMEM 培养液 180  $\mu L$ , 培养 16 h。MTT 法测定细胞的存活率。

取黄芩 1g 后不同时间的含药血清各两份,一份 56 ℃ 30 min 灭活,另一份不灭活。按文献方法<sup>[2]</sup>,稍加改进。取细胞培养成功的培养板,弃去培养液, D-Hank s 液洗 2 次。每孔加入 DMEM 培养液 100  $\mu L$ , 分别加入经  $0.22 \mu m$  滤膜过滤灭菌的血清,使终浓度为 5%, 每组设 8 复孔。培养 30 min, 除对照组外均加入终浓度为  $2 mmol \cdot L^{-1}$  的  $H_2O_2$  培养 3 h。吸去含  $H_2O_2$  的培养液, D-Hank s 液洗 2 次。加入不含小牛血清的 DMEM 培养液 180  $\mu L$ , 培养 16 h。MTT 法测定细胞的存活率。

## 2.4 含药血清抗氧化作用的时间-效应关系

大鼠 16 只随机分 4 组, 每组 4 只, 禁食 12 h 后分别给予 HLJDT、黄连、黄芩提取物干粉及黄芩苷,

给药量分别为 5.13, 1.48, 1.25 和 250 mg·kg<sup>-1</sup>, 以 0.5% CMC-Na 混悬溶液 ig。于给药前和给药后 5, 15, 30 min, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 h 眼球取血, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 分离血清, 冷藏保存备用。

取细胞培养成功的培养板, 弃去培养液, D-Hank s 液洗 2 次, 每孔加入 DMEM 培养液 100 μL, 各组分别加入经 0.22 μm 滤膜过滤灭菌的相应血清, 终浓度为 5%, 每组设 6 复孔。分为以下几组: (1) 对照组, (2) 模型组, (3)-(13) 不同时间的含药血清组, (14) 尼莫地平组。(1)(2) 组加入含 5% 空白血清的培养液, (14) 组加入终浓度为 5 × 10<sup>-6</sup> mol·L<sup>-1</sup> 尼莫地平, (3)-(13) 组分别加入各时间点的 5% 含药血清, (2)-(14) 组每孔加入终浓度 2 mmol·L<sup>-1</sup> 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 造模。37 ℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养 3h。弃去培养液, D-Hank s 液洗涤 2 次, 加入无血清 DMEM 培养 16 h。MTT 法测定细胞活力。

### 2.5 药物提取物抗氧化作用的剂量-效应关系

取 HLJDT、黄连、黄芩提取物干粉, 以无水乙醇超声提取, 过滤, 使所得母液含提取物干粉分别为: 25.6 mg·mL<sup>-1</sup>, 9 mg·mL<sup>-1</sup> 及 6.25 mg·mL<sup>-1</sup>。以 DMEM 培养液稀释各母液成 1 100, 1 300, 1 1 000, 1 3 000 及 1 10 000 等 5 个剂量组。

取细胞培养板, 每孔加入经 0.22 μm 滤膜过滤灭菌的含药 DMEM 培养液 100 μL, 每组设 8 复孔。分为以下几组: (1) 对照组, (2) 模型组, (3) ~ (7) 不同浓度的含药培养液, (8) 尼莫地平组。(1)(2) 组加入不含血清的 DMEM 培养液, (8) 组加入终浓度为 5 × 10<sup>-6</sup> mol·L<sup>-1</sup> 尼莫地平, (3) ~ (7) 组分别加入各组的含药培养液浓度系列, (2) ~ (8) 组加入终浓度 200 μmol·L<sup>-1</sup> 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 造模。37 ℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养 3h, 弃去培养液, D-Hank s 液洗涤 2 次, 加入无血清 DMEM 培养 16 h。MTT 法测定细胞活力。

本试验室前期研究显示, 黄连和黄芩煎剂单味给药, 小檗碱血药浓度在 10 ng·mL<sup>-1</sup> 以下, 黄芩苷浓度 0.1 ~ 10 μg·mL<sup>-1</sup> [3]。将小檗碱、黄芩苷的标准品分别以无水乙醇配成 1 mg·mL<sup>-1</sup> 的母液, 再将小檗碱母液用 DMEM 培养液稀释成 0.16, 0.31, 0.625, 1.25, 2.50, 5.00, 10.00 ng·mL<sup>-1</sup> 浓度; 黄芩苷母液稀释成 0.16, 0.31, 0.625, 1.25, 2.50, 5.00, 10.00 μg·mL<sup>-1</sup> 浓度。按照上法平行操作, 测定小檗碱、黄芩苷对细胞氧化损伤的保护作用, 以资比较。

### 3 结果

**3.1 PC12 细胞形态学观察** 倒置显微镜下可见, 正常 PC12 细胞折光性强, 轴突清晰, 细胞呈类纤维状, 贴壁状态良好; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤模型细胞折光度下降, 突触收缩, 细胞聚集, 形态变圆, 贴壁不良, 有许多呈悬浮状; 给药组可改善模型细胞形态, 减少细胞突触结构改变, 改善细胞贴壁状态。

**3.2 空白血清及含药血清对细胞氧化损伤的影响** 血清药理学研究中, 血清添加量及血清灭活与否, 均可影响实验结果。本实验中, 血清添加量为 2.5% 及 5% 时, 造模组与空白对照组差别有显著意义 ( $P < 0.05$ ), 而 10% 和 20% 组则没有显著差别见表 1。故本实验最终选定血清加入量为 5%。

表 1 不同添加比例的空白血清对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导的 PC12 细胞氧化损伤的保护作用 (保护率%, 珉 ± s, n = 8)

| 血清添加比 / % | 细胞活力 (A)    |             |                                      |
|-----------|-------------|-------------|--------------------------------------|
|           | 对照          | 空白血清        | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 空白血清 |
| 0         | 1.33 ± 0.14 | -           | -                                    |
| 2.5       | -           | 1.39 ± 0.17 | 0.70 ± 0.05 <sup>1)</sup>            |
| 5         | -           | 1.43 ± 0.18 | 0.79 ± 0.09 <sup>1)</sup>            |
| 10        | -           | 1.11 ± 0.13 | 0.95 ± 0.13                          |
| 20        | -           | 1.16 ± 0.20 | 1.09 ± 0.03                          |

注: 与空白血清组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$

黄芩含药血清灭活组和不灭活组与空白血清相比, 对模型细胞均有保护作用。但灭活血清作用强度平均降低 50% 左右, 且仅在 15 min, 30 min, 1 h 时间点有效; 未灭活组在实验所观察的各时间点均有保护作用。以取血时间为横坐标, 保护率为纵坐标作 E-t 曲线 (图 1), 可见未灭活组 2 h 时效应达到第二个峰值 (93.7%), 而灭活组则没有第二个峰。可见, 灭活会使血清作用降低。故最终选定用未经灭活血清进行实验。

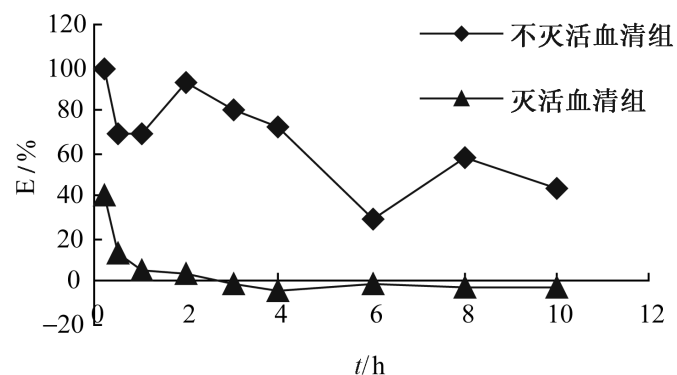


图 1 灭活组、未灭活组含药血清对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导的 PC12 细胞损伤的时间-保护率曲线 (n = 8)

**3.3 含药血清抗氧化作用的时间-效应关系** 实验结果显示, 各用药组的含药血清对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的细胞

氧化应激损伤都有明显的抑制作用。以 HLJDT 最强,黄芩和黄芩苷次之,黄连最弱。其中黄芩在 0 ~ 1 h 出现第一个效应峰值,2 ~ 4 h 内出现略低的第二个效应峰,4 h 之后保护作用减弱;黄芩苷作用与黄芩近似,但个体差异较大;HLJDT 起效快,保护率在 8h 内一直保持较高水平,峰值也高于其他各组;黄

连保护效应明显低于其他组,且个体差异较大(图 2)。用效应-时间曲线下面积(AUE<sub>0</sub><sup>12</sup>)反映处方的总效果,计算 4 组的 AUE<sub>0</sub><sup>2</sup>、AUE<sub>2</sub><sup>4</sup>、AUE<sub>4</sub><sup>8</sup>、AUE<sub>8</sub><sup>12</sup>(表 2)。HLJDT 的 AUE<sub>0</sub><sup>12</sup> 与黄芩组( $P < 0.01$ )、黄连组( $P < 0.05$ )有显著差异,表明 HLJDT 全方作用强于单味药,体现了组方的合理性。

表 2 不同时相内含药血清保护作用的比较(AUE %·h, n=4)

|          | HLJDT                         | SR            | baicalin      | CR            |
|----------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| 0 ~ 2 h  | 207.0 ± 66.5                  | 109.9 ± 23.0  | 146.7 ± 33.1  | 42.9 ± 47.0   |
| 2 ~ 4 h  | 197.8 ± 72.9                  | 111.8 ± 13.2  | 134.4 ± 25.3  | 54.3 ± 47.2   |
| 4 ~ 8 h  | 325.3 ± 84.2                  | 143.9 ± 47.2  | 271.0 ± 72.4  | 83.0 ± 112.9  |
| 8 ~ 12 h | 118.5 ± 41.6                  | 83.6 ± 53.5   | 94.4 ± 32.1   | 62.3 ± 92.0   |
| 0 ~ 12 h | 848.7 ± 243.9 <sup>1,2)</sup> | 449.3 ± 122.5 | 646.5 ± 126.7 | 242.5 ± 279.6 |

注:与黄芩组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ,与黄连组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$

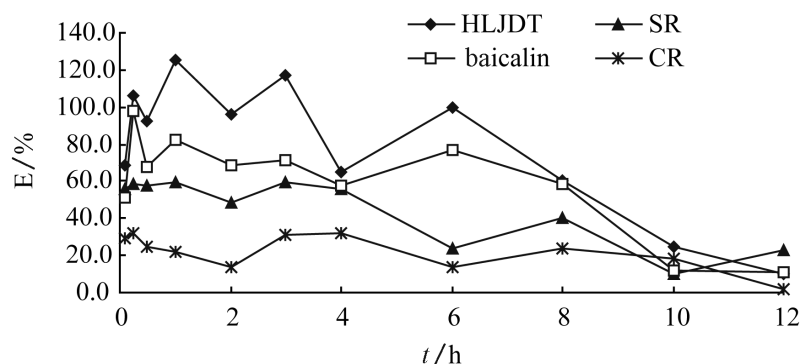


图 2 不同给药组(A. HLJDT; B. SR; C. baicalin; D. CR)含药血清对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导的 PC12 细胞损伤的保护率-时间曲线(n=6)。

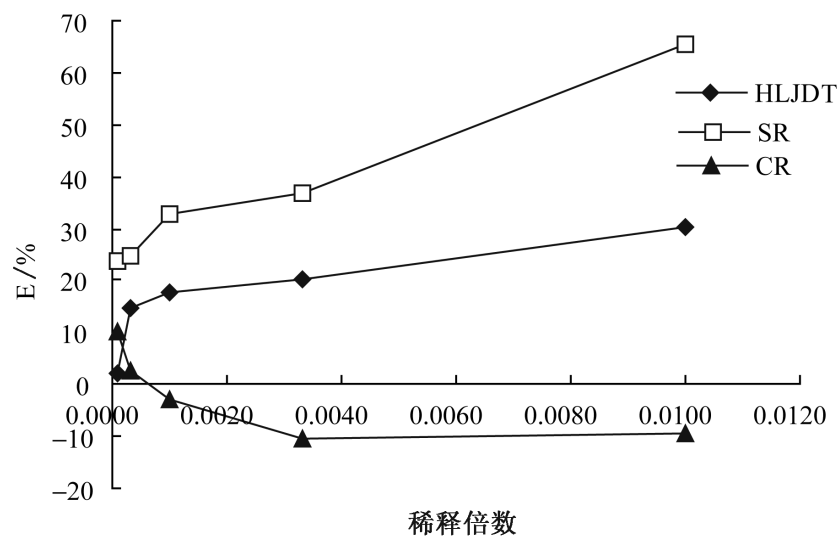


图 3 三种药材提取物(SR; HLJDT; CR)对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导的 PC12 细胞损伤的剂量-保护率曲线(n=8)。

### 3.4 药物提取物和黄芩苷、小檗碱纯品抗氧化作用的剂量-效应关系

在本实验浓度范围内,HLJDT 和黄芩提取物对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的细胞氧化损伤有保护作用,且作用呈剂量依赖性,随剂量增大,保护率增高。但两者的保护作用强度有差异,黄芩比同稀释倍数的 HLJDT 保护率均偏高,这一结果与体内结果不一致。黄连在试验浓度范围内,没有保护作用(图 3)。

黄芩苷浓度在 0.15 ~ 10 μg·mL<sup>-1</sup> 间,对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的氧化应激细胞损伤有保护作用,在 0.15 ~ 2.5 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内作用呈剂量依赖性,但随剂量进一步增大,保护率增加幅度递减,最终达到稳态水平(图 4)。小檗碱在 0.15 ~ 10 ng·mL<sup>-1</sup> 范围内,对模型没有明显的保护作用。

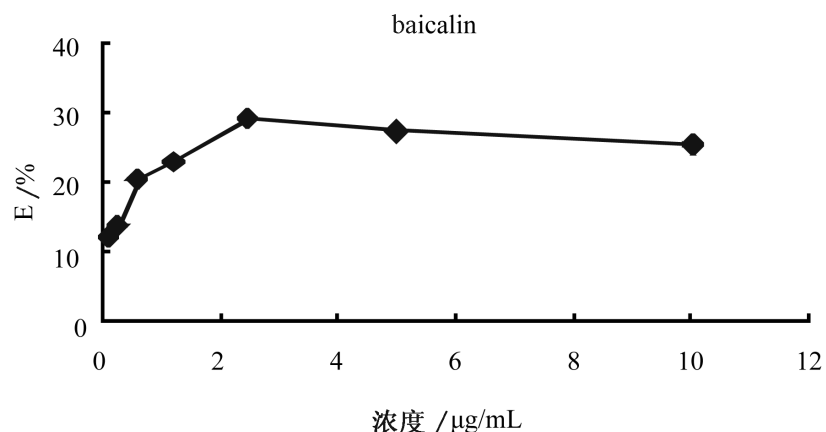


图 4 黄芩苷对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导的 PC12 细胞损伤的剂量-保护率曲线(n=8)。

## 4 讨论

血清药理学实验方法仍处于探索阶段,许多问题,如含药血清能否灭活,血清添加量等,均无定论<sup>[4]</sup>。血清中存在大量活性物质如激素、酶、抗体、

补体等,均可能干扰实验结果。目前用于实验的含药血清,有经灭活<sup>[5]</sup>,也有不经灭活<sup>[6]</sup>,还有经有机溶剂处理<sup>[7]</sup>,方法各异。本实验发现,黄芩的含药血清灭活与否抗氧化作用有很大差异:灭活者作用强度降低约 50%,作用时间仅维持 1 h;而未灭活 10 h 内均有效。两者的时-效曲线上也有明显不同。

多种内源性物质参与机体的氧化应激反应。药物的抗氧化作用也可能是通过体内活性物质发挥效应。灭活可导致血清活性物质活性降低或丧失,从而影响药效。因此,本实验采用未灭活含药血清。对血清的非药物性干扰,通过空白对照组加以排除。此外,未经灭活的血清不宜长期保存,笔者发现保存 2 周后含药血清的作用大为降低。

血清添加量过大,会有假阳性结果,造模难以成功。本实验中以 5% 浓度血清造模,较为成功。

PC12 细胞作为体外模型与原代神经细胞及在体脑缺血模型基本一致<sup>[8]</sup>。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可以产生氧化自由基对 PC12 细胞造成损伤,是一种较为理想的氧化应激损伤细胞模型。实验表明各用药组的含药血清对该细胞模型均有一定的保护作用,比较各组的 AUE 可见:黄芩起效快,达峰迅速,持续时间较短;黄芩苷与黄芩的作用近似,但个体差异较大,提示黄芩苷可能是黄芩及 HLJDT 抗氧化作用的有效成分之一。黄连的作用较弱,个体差异大。HLJDT 无论作用强度,或是持续时间都明显优于黄芩、黄连单味,从药效动力学上进一步证实了其组方的合理性。各用药组的时间-效应曲线都呈多峰状,提示黄连和黄芩单用,抗氧化作用的有效成分可能不止一种,而是多种成分作用的结果。黄芩苷的时效曲线呈多峰状,此前研究中<sup>[3]</sup>,我们曾发现黄芩苷时间-浓度曲线呈双峰现象,这可能是由于黄芩苷体内并非直接被吸收进入血液循环,而是先由肠道菌群作用转化为黄芩素后才被吸收,后者与肠粘膜上的 UDPG-葡萄糖醛酸转移酶结合为黄芩苷被转运至门静脉<sup>[9]</sup>。黄芩苷吸收的复杂性可能是其药效呈多峰的原因之一。

本实验还对各药提取物抗氧化作用的量-效关系进行了研究。各药剂量设计如下:以黄芩苷体内有效浓度 0.1 ~10 μg·mL<sup>-1</sup> 为准,确定 HLJDT 及黄芩的剂量,黄连剂量则按组方比例折算。结果在试验浓度范围内,黄连无保护作用;HLJDT 和黄芩有显著的保护作用,且呈剂量依赖性。两者的作用强度有差异,黄芩较同倍稀释数的 HLJDT 保护率均高,这一结果与体内结果不一致,但同样现象也可见于其抑制丙二醛(MDA)生成试验<sup>[10]</sup>,说明两种氧化模型有一定相关性。高浓度黄芩提取物保护作用远低于黄芩含药血清,提示黄芩抗氧化作用可能有其他内源活性物质参与。

为考察黄连、黄芩的主要成分小檗碱和黄芩苷抗氧化作用的贡献,对两成分进行了实验。根据黄芩、黄连用药后体内黄芩苷及小檗碱的血药浓度,确定实验浓度为,黄芩苷 0.15 ~10 μg·mL<sup>-1</sup>,小檗碱 0.15 ~10 ng·mL<sup>-1</sup>。结果黄芩苷对模型细胞有保护作用,且与浓度呈正相关。但浓度为 10 μg·mL<sup>-1</sup> 的黄芩苷抗氧化作用远低于含药血清,表明含药血清中可能尚存在其他抗氧化活性物质。与黄芩提取物相比,黄芩苷纯品的作用强度反较低,提示黄芩提取物中可能还存在其它抗氧化物质。相应浓度的小檗碱纯品和黄连提取物都对氧化应激模型无明显的保护作用,但黄连含药血清却有抗氧化作用,提示其抗氧化作用可能有赖于体内特异机制而发挥作用。

#### [参考文献]

- [ 1 ] Timothy JS, Willian DA. Transmitter, ion channel and receptor properties of pheochromocytoma ( PC12 ) cells: a model for neuro-toxicological studies [ J ]. Neurotoxicology, 1991, 12: 473.
- [ 2 ] Hao Hong, Guo-Qing Liu. Protection against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in PC12 cells by scutellarin [ J ]. Life Science, 2004, 74: 2959.
- [ 3 ] 路通, 宋珏, 谢林, 等. HPLC 法同时测定灌胃黄芩后大鼠血浆中黄芩苷和汉黄芩苷的浓度及药代动力学 [ J ]. 中草药, 2005, 6: 870.
- [ 4 ] 王力倩, 李仪奎, 符胜光, 等. 血清药理学方法初探 [ J ]. 中药药理与临床, 1997, 13 ( 3 ) : 29.
- [ 5 ] 刘成海, 刘成, 刘平, 等. 抗肝纤维化有效中药复方血清药理方法探讨 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4 ( 2 ) : 16.
- [ 6 ] 金若敏, 陈长勋, 吴佳琪, 等. 复方仙人球抗肿瘤的试验观察 [ J ]. 中国中医药科技, 1997, 4 ( 1 ) : 16.
- [ 7 ] 周芝兰, 耿娅, 付惠娣, 等. 中药血清药理学研究方法中几种血清预处理方法对消除正常血清活性的比较 [ J ]. 中药药理与临床, 1999, 15 ( 3 ) : 44.
- [ 8 ] Peruche B, Krieglstein J. Neuroblastoma cells for testing neuroprotective effects [ J ]. J Pharmacol Meth, 1991, 23: 63.
- [ 9 ] Nahrstedt A, Butterweck V. Biologically Active and Other Chemical Constituents of the Herb of Hypericum perforatum L [ J ]. Pharmacopsychiat, 1997, 30, 129.
- [ 10 ] 宋珏, 路通, 刘晓东, 等. 血清药理学方法研究黄连解毒汤对小鼠的药效动力学. 中草药 [ J ]. 2005, 36 ( 5 ) : 709.