

京大戟醋制前后对斑马鱼胚胎心脏的毒性

曹雨诞, 张楷承, 姚芳, 张丽*, 丁安伟

(南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心, 南京 210023)

[摘要] 目的: 以模式生物斑马鱼胚胎为研究模型, 考察京大戟醋制前后不同极性部位对心脏的毒性作用。方法: 对受精后 12 h 发育正常的斑马鱼胚胎分别给予京大戟生品和醋制品的石油醚部位、二氯甲烷部位、乙酸乙酯部位提取物, 观察受精后 72 h 药物对斑马鱼胚胎心脏发育和心脏功能的影响。结果: 京大戟醋制前后不同极性部位对斑马鱼胚胎均具有心脏毒性, 并呈一定的剂量相关性; 其中石油醚部位和二氯甲烷部位的毒性作用较为明显, 乙酸乙酯部位的毒性较弱; 心脏毒性作用主要表现为心脏发育缓慢、心包水肿、心率降低、心脏细胞出现凋亡现象。与生品相应极性部位相比, 相近剂量的京大戟醋制品同一极性部位的心脏毒性都有所下降。结论: 京大戟对斑马鱼胚胎具有心脏毒性, 醋制后毒性降低, 可为进一步阐明京大戟醋制减毒的作用机制研究提供一定的实验依据。

[关键词] 京大戟; 醋制; 斑马鱼胚胎; 心脏毒性; 吖啶橙染色; 石油醚部位; 二氯甲烷部位

[中图分类号] R22;R28;R943.1;C37;R96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)24-0073-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191653

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190505.0936.019.html>

[网络出版时间] 2019-05-08 10:59

Cardiotoxicity in Zebrafish Embryos of Euphorbiae Pekinensis Radix Before and After Processing with Vinegar

CAO Yu-dan, ZHANG Kai-cheng, YAO Fang, ZHANG Li*, DING An-wei

(Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** Taking zebrafish embryos as research model, to investigate the toxic effect of different polar fractions of Euphorbiae Pekinensis Radix before and after processing with vinegar on heart. **Method:** Zebrafish embryos with normal development at 12 h after fertilization were treated with petroleum ether, dichloromethane and ethyl acetate extracts of Euphorbiae Pekinensis Radix before and after processing with vinegar for observation of cardiac development and function at 72 h. **Result:** Various polar fractions of Euphorbiae Pekinensis Radix before and after processing with vinegar had the cardiotoxicity on zebrafish embryos in a dose-dependent manner. In addition, the cardiotoxicity of different polar fractions was followed by petroleum ether, dichloromethane and ethyl acetate. The cardiotoxicity was mainly manifested as slow cardiac development, pericardial edema, decrease of heart rate and apoptosis of cardiac cells. Compared with the corresponding polar fraction of raw products, the cardiotoxicity of the same polar fraction of vinegar-processed products with similar

[收稿日期] 20190218(009)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81503250);江苏省研究生科研与实践创新计划项目(KYCX18_1618);江苏省“六大人才高峰”项目(2016-YY-026)

[第一作者] 曹雨诞, 博士, 副教授, 从事中药炮制与质量研究, Tel:025-85811519, E-mail:rainde@163.com

[通信作者] *张丽, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制与质量研究, Tel:025-85811519, E-mail:zhangliguanxiong@163.com

doses decreased. **Conclusion:** Euphorbiae Pekinensis Radix has cardiotoxicity to zebrafish embryos and the cardiotoxicity is reduced after processing with vinegar, which can provide some experimental basis for further elucidation of the detoxication mechanism of Euphorbiae Pekinensis Radix processed with vinegar.

[Key words] Euphorbiae Pekinensis Radix; processing with vinegar; zebrafish embryos; cardiotoxicity; acridine orange (AO) staining; petroleum ether fraction; dichloromethane fraction

京大戟为大戟科植物大戟的干燥根^[1],性苦、寒,有毒,常用于治疗水肿胀满、胸腹积水等证,临床内服醋制用,以降低毒性缓和药性^[2-3],保证临床安全有效。现有研究发现京大戟醋制后能显著降低正常小鼠和细胞的肝、胃肠道毒性^[4-7],而本课题组前期研究发现京大戟对斑马鱼胚胎的心脏也存在一定的毒性^[8]。

斑马鱼作为一个整体的动物模型,具有繁殖能力强、发育快、成本低等特点^[9-10],适合中药复杂体系的研究,其胚胎和幼鱼作为高通量药物筛选的模型,弥补了细胞模型和啮齿动物模型的不足,被广泛应用于中药毒性筛选和研究^[11-12]。由于斑马鱼胚胎发育初期完全透明^[11],心脏是斑马鱼胚胎第 1 个发育并且发挥重要作用的器官^[13],可通过显微镜直观观察斑马鱼胚胎心脏形态变化。因此,本实验以斑马鱼胚胎为研究对象,通过观察斑马鱼胚胎的心脏形态和发育情况、测定胚胎心率和静脉窦-动脉球间距、比较心肌细胞凋亡的程度来研究京大戟醋制前后对斑马鱼胚胎的心脏毒性,为进一步阐明该药材醋制减毒的作用机制提供实验依据。

1 材料

SZX41 型体视显微镜(上海明兹精密仪器有限公司),SPX-80 型智能生化培养箱(宁波海曙赛福实验仪器厂),DMi8 型荧光倒置显微镜(德国徕卡公司),AY220 型电子分析天平(日本岛津公司)。

人工海水(实验室自制,蒸馏水,13.7 mmol·L⁻¹ NaCl,5.4 mmol·L⁻¹ NaHCO₃),二甲基亚砜(DMSO,美国 Sigma 公司,批号 1400002089);三卡因[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,批号 I68BL-ML],吖啶橙(AO,上海麦克林生化科技有限公司,批号 C10079188)。京大戟饮片购于安徽省亳州市药材总公司(产地广西,批号 20160616),经南京中医药大学乐巍副教授鉴定为大戟科植物大戟 *Euphorbia pekinensis* 的干燥根;取京大戟,粉碎(过四号筛,下同),备用,得京大戟生品;按照 2015 年版《中国药典》,取净京大戟加 30% 食醋,加水稀释至浸没,闷润 2 h,文火煮沸至食醋吸净,切开无白心,取出,凉至六、七成干,于 40 °C 减压干燥 8 h,粉碎后

备用,得醋京大戟。

实验用鱼为野生型 AB 品系斑马鱼[体长(3.5 ± 0.3) cm,体质量(0.45 ± 0.1) g],购于南京尧顺禹生物科技有限公司,约 7 月龄。斑马鱼成鱼在(28.5 ± 0.5) °C 的水中自然交配繁殖鱼卵,养殖与繁殖方法参照 *The Zebrafish Book*^[14]。收集正常胚胎并放入斑马鱼胚胎培养液中,待胚胎发育至 12 h,置于体视显微镜下挑去未受精的死卵,将健康发育的胚胎置于 28 °C 恒温培养箱中。本文涉及的动物实验符合南京中医药大学实验动物伦理委员会的相关规定。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备 京大戟不同极性部位提取物的提取方法见文献[8],分别得到京大戟生品石油醚部位(SP_{Pet}),二氯甲烷部位(SE),乙酸乙酯部位(SY)以及醋京大戟石油醚部位(CPet),二氯甲烷部位(CE),乙酸乙酯部位(CY)。以不同极性部位提取物的半数致死浓度(LC₅₀)^[8]为最大浓度,分别设计各提取物的质量浓度,若提取物不易溶于水则加入体积分数不超过 0.5% 的 DMSO 助溶^[8,15]。

2.2 斑马鱼胚胎的给药处理 于体视显微镜下挑选健康发育受精后 12 h 的斑马鱼胚胎,分别置于 24 孔板中,每孔 20 枚,加入各样品溶液 2 mL,以人工海水为正常组,给药组包括 SP_{Pet} 组,SE 组,SY 组,CP_{Pet} 组,CE 组和 CY 组,每组设 6 个不同的质量浓度。给药后置于 28 °C 恒温培养箱培养至受精后 72 h。

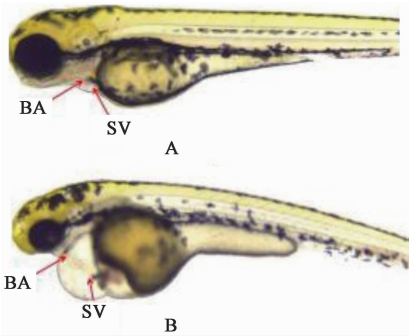
2.3 斑马鱼心脏毒性研究

2.3.1 心脏部位形态观察 将各组给药处理至受精后 72 h 的斑马鱼胚胎,移除药液,滴入质量分数为 0.02% 的三卡因溶液将其麻醉。将双凹载破片凹槽部位滴入 3% 甲基纤维素,用吸管将麻醉后的斑马鱼胚胎置于甲基纤维素表面,用发圈调整其位置,使斑马鱼胚胎侧卧,两侧眼、体节重合,身体水平,即可置于体视显微镜下进行拍照和观察。

2.3.2 胚胎心率的测量 将各组给药处理至受精后 72 h 的斑马鱼胚胎从恒温培养箱中取出,置于室温放置约 15 min,移除药液,滴入质量分数为

0.02% 的三卡因麻醉。置于载有 3% 甲基纤维素的双凹载玻片上,用发圈调整为侧卧位,在体视显微镜下观察,心脏以及心跳清晰可见。统计斑马鱼胚胎心率并记录。

2.3.3 静脉窦-动脉球间距的测量 在斑马鱼心脏部位,静脉窦(sinus venosus,SV)是血液流入心房的部位,而动脉球(bulbus arteriosus,BA)是血液由心室流出的部位,见图 1。将各组给药处理至受精后 72 h 的斑马鱼于体视显微镜下观察并拍照,根据照片比例,采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件计算静脉窦-动脉球间距(SV-BA 间距)的实际长度。



A. 正常组;B. SPet 组

图 1 斑马鱼胚胎的 SV-BA 间距($\times 50$)

Fig.1 SV-BA spacing of zebrafish embryos($\times 50$)

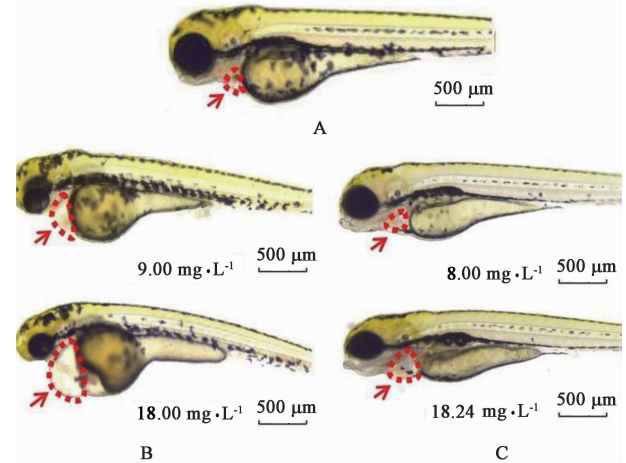
2.3.4 心脏部位细胞凋亡检测 采用 AO 染色法检测给药处理后斑马鱼胚胎心脏部位细胞凋亡的情况。取各组给药处理至受精后 72 h 的斑马鱼胚胎,移去药液,用人工海水冲洗 3 次,采用 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AO 染液避光染色斑马鱼胚胎 30 min,而后用磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.4)冲洗 2 遍。将染色过后的斑马鱼胚胎置于滴有 3% 甲基纤维素的双凹载玻片中,调整至侧卧位,在荧光显微镜下观察。

2.4 统计学分析 数据使用 Graph Pad Prism 7.0 软件进行统计分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异, $P < 0.01$ 表示具有极显著性差异。

3 结果

3.1 京大戟醋制前后对斑马鱼胚胎心脏形态的影响 由图 2 可知,正常组斑马鱼胚胎发育正常,心血管系统完好。给药组以 SPet 和 CPet 为例, $9.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ SPet 作用后斑马鱼胚胎开始出现有心包水肿、心脏畸形; $18.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ SPet 作用后斑马鱼胚胎形态改变极为显著,改变部位最多,程度也最严重,与正常组相比斑马鱼胚胎体型较小、体长较短、头部较小、体节发育异常、脊柱与尾部弯曲;与

SPet 比较, $8.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPet 作用后斑马鱼胚胎发育基本正常,直到 $18.24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPet 作用后才观察到心包水肿、心脏畸形的情况,对斑马鱼胚胎形态学改变较小。表明京大戟醋制前后对斑马鱼胚胎的心脏表现出了一定的毒性,但醋制能降低京大戟对斑马鱼胚胎心脏的毒性。



A. 正常组;B. SPet 组;C. CPet 组;红色圈出的区域为心脏部位

图 2 京大戟醋制前后石油醚部位对斑马鱼胚胎心脏形态的影响

Fig.2 Effect of petroleum ether fraction of Euphorbiae Pekinensis Radix before and after processing with vinegar on cardiac morphology of zebrafish embryos

3.2 京大戟醋制前后不同极性部位对斑马鱼胚胎心率的影响 以心房的跳动次数表示心跳次数,统计各组斑马鱼胚胎心率。结果发现正常组斑马鱼胚胎心跳节律规则、搏动强有力,每分钟心率(179.30 ± 7.48)次。京大戟生品、醋京大戟不同极性部位最低质量浓度对心率的影响均很小;与正常组相比,其余质量浓度的京大戟生品、醋京大戟不同极性部位均能明显减慢斑马鱼胚胎的心率($P < 0.01$),且呈现一定的剂量依赖性,见表 1;说明京大戟醋制前后不同极性部位对斑马鱼胚胎都有一定的心脏毒性。比较相近剂量京大戟生品、醋京大戟各部位的胚胎心率测量结果,发现醋京大戟能够增加胚胎心率,且与京大戟生品有显著差异($P < 0.01$),见图 3;表明醋制能降低京大戟对斑马鱼胚胎心脏的毒性。

3.3 京大戟醋制前后不同极性部位对斑马鱼胚胎 SV-BA 间距的影响 通过测量斑马鱼 SV-BA 间距来评价心脏环化程度,比较京大戟醋制前后不同极性部位对斑马鱼胚胎的心脏结构毒性作用。结果发现正常组斑马鱼胚胎心血管系统发育正常,SV-BA 间距(166.70 ± 5.08) μm 。与正常组相比,低质量

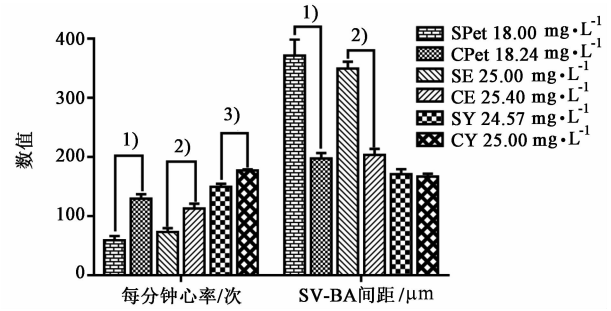
表 1 不同组别斑马鱼胚胎心率和 SV-BA 间距的检测 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Detection of heart rate and SV-BA spacing of zebrafish embryos in different groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	每分钟心率 /次	SV-BA 间距 /μm	
正常	-	179.30 ± 7.48	166.70 ± 5.08	
SPet	4.50	177.30 ± 5.14	169.00 ± 5.40	
	9.00	167.70 ± 7.13 ¹⁾	168.30 ± 7.42	
	10.67	141.90 ± 6.52 ¹⁾	187.20 ± 7.63 ¹⁾	
	12.70	92.40 ± 9.47 ¹⁾	261.40 ± 19.32 ¹⁾	
	15.12	71.50 ± 3.84 ¹⁾	305.10 ± 17.66 ¹⁾	
SE	6.00	175.90 ± 6.15	166.40 ± 6.13	
	12.00	162.40 ± 10.56 ¹⁾	167.90 ± 6.79	
	14.29	136.90 ± 7.40 ¹⁾	180.30 ± 6.62 ¹⁾	
	17.22	117.90 ± 7.19 ¹⁾	213.70 ± 16.47 ¹⁾	
	20.75	90.30 ± 7.04 ¹⁾	291.60 ± 9.98 ¹⁾	
	25.00	73.00 ± 6.75 ¹⁾	349.60 ± 11.68 ¹⁾	
	SY	10.00	176.30 ± 4.16	168.70 ± 5.68
		20.00	170.10 ± 2.23 ¹⁾	170.20 ± 6.75
24.57		149.50 ± 5.30 ¹⁾	170.70 ± 8.84	
28.90		131.80 ± 8.24 ¹⁾	172.00 ± 8.84	
34.00		87.80 ± 8.82 ¹⁾	177.70 ± 7.96 ¹⁾	
40.00		75.30 ± 5.33 ¹⁾	177.30 ± 7.51 ¹⁾	
CPet		8.00	178.30 ± 6.96	167.30 ± 7.04
		16.00	150.30 ± 9.64 ¹⁾	171.60 ± 5.95
	18.24	129.60 ± 7.65 ¹⁾	197.60 ± 9.28 ¹⁾	
	21.68	109.50 ± 7.29 ¹⁾	209.80 ± 12.09 ¹⁾	
	25.50	94.90 ± 5.43 ¹⁾	265.90 ± 9.70 ¹⁾	
	30.00	86.00 ± 5.19 ¹⁾	341.80 ± 15.02 ¹⁾	
	CE	9.00	173.90 ± 8.35	166.90 ± 6.57
		18.00	168.10 ± 7.16 ¹⁾	166.40 ± 6.88
21.34		141.60 ± 6.87 ¹⁾	180.50 ± 6.84 ¹⁾	
25.40		112.90 ± 8.33 ¹⁾	203.60 ± 10.20 ¹⁾	
30.24		97.80 ± 6.97 ¹⁾	251.20 ± 11.56 ¹⁾	
CY	25.00	177.20 ± 2.04	166.70 ± 5.08	
	50.00	170.90 ± 2.42 ¹⁾	166.60 ± 3.95	
	61.41	148.60 ± 6.85 ¹⁾	173.80 ± 7.21	
	72.25	134.00 ± 9.93 ¹⁾	175.80 ± 7.15	
	85.00	87.40 ± 8.51 ¹⁾	172.90 ± 8.39	
	100.00	72.10 ± 5.17 ¹⁾	179.80 ± 8.83	

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

浓度京大戟生品、醋京大戟的乙酸乙酯部位、石油醚部位、二氯甲烷部位对 SV-BA 间距的影响均较小,但二者中、高质量浓度石油醚部位、二氯甲烷部位均能明显增加斑马鱼胚胎的 SV-BA 间距 ($P < 0.01$),



与 SPet 组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与 SE 组比较²⁾ $P < 0.01$; 与 SY 组比较³⁾ $P < 0.01$

图 3 京大戟醋制前后各极性部位相近剂量对斑马鱼胚胎心率和 SV-BA 间距的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

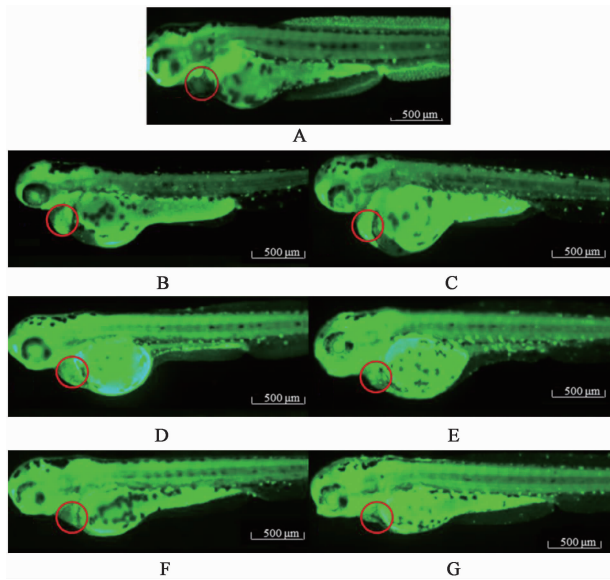
Fig. 3 Effect of different polar fractions of Euphorbiae Pekinensis Radix before and after processing with vinegar with similar doses on heart rate and SV-BA spacing of zebrafish embryos ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

并呈现一定的剂量依赖性,见表 1。与京大戟生品相应极性部位比较,相近剂量醋京大戟各部位的 SV-BA 间距都有所减小,其中石油醚、二氯甲烷部位下降较多,见图 3,说明醋制能降低京大戟对心脏的毒性作用。

3.4 京大戟不同极性部位对斑马鱼胚胎心脏细胞凋亡的比较 斑马鱼胚胎采用 AO 染色后,在荧光显微镜下观察,见图 4。结果发现正常组斑马鱼心脏部位没有出现致密的黄绿色亮点,说明基本无凋亡细胞。与正常组相比,SPet 组和 SE 组斑马鱼胚胎心脏部位出现大量的致密亮点,说明二者能够诱导斑马鱼心脏心肌细胞凋亡,而 SY 组斑马鱼胚胎心脏部位没有或仅出现少量黄绿色亮点,说明凋亡很弱。与京大戟生品相应极性部位比较,醋京大戟相应极性部位组的黄绿色亮点均有所减少,说明凋亡作用降低。

4 讨论

斑马鱼因与人类基因同源性达到 87% 的相似度,具有易于养殖、繁殖能力强、样品用量少、实验周期短等优势,而且还可以快速、准确定位毒性靶器官,毒性评价指标多样化^[9-10,16],是应用较广的医学和毒理学动物模型。斑马鱼胚胎呈透明样,实验观察更为便捷,可通过显微镜直观观察斑马鱼胚胎心脏形态变化情况;斑马鱼胚胎数量多且发育速度快,到受精后 72 h 其胚胎心脏基本发育完成。京大戟为常用有毒峻下逐水药,中医临床常采用醋制来降低其毒性,现有研究也证实了京大戟醋制后能达到减毒存效的作用^[2,17],故本文选择斑马鱼胚胎作为动物模型^[18]来研究京大戟醋制前后对其心脏的毒



A. 正常组; B. SPet 组; C. SE 组; D. SY 组; E. CPet 组; F. CE 组; G. CY 组; 红色圈出的区域为心脏部位

图 4 各组斑马鱼胚胎的 AO 染色

Fig. 4 Effect of different polar fractions of *Euphorbiae Pekinensis* Radix before and after processing with vinegar on apoptosis of cardiac cells in zebrafish embryos

性作用。

本文结果显示京大戟生品、醋制品的不同极性部位对斑马鱼胚胎都有心脏毒性作用,均可引起斑马鱼心血管系统的器质性损伤,主要表现为心脏畸形、心脏缩小、心包水肿等,能降低斑马鱼胚胎的心率、增大斑马鱼胚胎的 SV-BA 间距,且损伤随着给药浓度的增加而增加。与京大戟生品相比,醋制品能减缓形态学变化、心率下降和心脏环化不完全程度。采用 AO 染色处理后发现京大戟生品能使斑马鱼胚胎心肌细胞发生凋亡,但醋制后凋亡现象减少甚至消失,说明醋制能减缓京大戟对心肌细胞的损伤,从而降低京大戟的心脏毒性。但具体的凋亡机制和相关基因的表达将在后续实验中进行研究。与此同时,上述结果还表明京大戟生品和醋制品的石油醚部位、二氯甲烷部位的毒性大于各自的乙酸乙酯部位,这与使用正常小鼠^[6-7,19]和体外细胞^[4-5]研究得到的毒性作用部位结果相一致,但采用斑马鱼胚胎可更方便地对京大戟醋制前后的毒性进行多器官评价,可为后续深入研究京大戟醋制减毒作用机制提供快捷的实验途径。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:225.

[2] 张乐林,葛秀允,孙立立,等. 醋制对京大戟毒性和药效的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(19):276-279.

[3] 葛秀允,孙立立,张乐林. 醋制对京大戟刺激性毒性作用的影响[J]. 中国药房,2015,35(5):380-385.

[4] 陈海鹰,曹雨颀,颜晓静,等. 醋制降低京大戟对人正常肝细胞 LO2 的毒性及机制研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(6):866-870.

[5] 曹雨颀,颜晓静,张丽,等. 醋制降低京大戟对大鼠小肠隐窝上皮细胞 IEC-6 毒性研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(6):1069-1074.

[6] 曹雨颀,陈海鹰,张丽,等. 醋制降低京大戟细胞毒性部位对小鼠肝脏氧化损伤机制研究[J]. 中国药理学通报,2014,30(2):295-296.

[7] 曹雨颀,张楷承,张丽,等. 醋制降低京大戟对正常小鼠胃肠道氧化损伤的初步研究[J]. 中国药理学通报,2017,33(2):291-293.

[8] 张楷承,曹雨颀,姚芳,等. 京大戟醋制前后对斑马鱼胚胎的急性毒性研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(12):2291-2297.

[9] 陈志亮. 斑马鱼在药物筛选中的应用[J]. 中国中药杂志,2015,40(7):1235-1239.

[10] 赵崇军,田敬欢,王金凤,等. 斑马鱼在中药研究中的应用进展[J]. 中草药,2015,46(17):2635-2648.

[11] 罗隽,梅雪,夏青,等. 醋甘遂不同提取物对斑马鱼幼鱼的毒性[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(4):160-166.

[12] 彭蕴茹,韦英杰,丁永芳,等. 基于斑马鱼模型的药物毒性研究进展与中药毒性研究新策略[J]. 中草药,2016,48(1):17-30.

[13] Fishman M C, Chien K R. Fashioning the vertebrate heart; earliest embryonic decisions [J]. Development, 1997,124(11):2099-2117.

[14] Westerfield M. *The Zebrafish Book* [M]. Eugene: University of Oregon Press,1995:1-4,28-30.

[15] 张楷承,姚芳,曹雨颀,等. 京大戟的化学成分分离及其对斑马鱼胚胎的毒性[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(16):21-27.

[16] 史建伟. 斑马鱼模型在中医药领域的研究与应用[J]. 临床医药文献杂志,2019,6(3):189-190.

[17] 刘淑岚,翁连进,韩媛媛,等. 京大戟的化学成分和药理作用研究概述[J]. 中国现代中药,2019,21(1):129-138.

[18] 李梅,陈慧,柯才华,等. 金不换与雪上一枝蒿不同比例配伍的减毒增效作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(3):166-172.

[19] 王奎龙,郁红礼,吴皓,等. 京大戟毒性部位及其醋制前后成分变化研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(23):4603-4608.

[责任编辑 刘德文]