

· 实验研究 ·

三黄汤对钩吻毒性及其生物碱溶出的影响^{*}洪 赞¹ 檀兴慧¹ 卢淑珍¹ 王文义² 李德森^{1▲}

摘要 目的:基于前期“方证相关”解毒研究基础,进一步从“热证”角度研究三黄汤对钩吻的解毒作用,为临床在使用钩吻时对其进行减毒提供科学依据。**方法:**通过小鼠急性毒性实验观察三黄汤及其萃取部位对钩吻中毒小鼠的解毒作用,采用UPLC-MS分析三黄汤以及三黄汤石油醚、乙酸乙酯、三氯甲烷、正丁醇萃取部位及萃余水对钩吻中钩吻素子、钩吻素甲、钩吻素己、钩吻绿碱、胡蔓藤碱乙、胡蔓藤碱丙几种生物碱成分溶出的影响。**结果:**三黄汤、三黄汤萃取部位可延长钩吻中毒后小鼠的存活时间,降低动物死亡率,并且对钩吻生物碱的溶出具有一定的影响,其中对毒性主要成分钩吻素己的溶出具有抑制作用,而对活性成分钩吻素子等降低作用较弱或无明显降低作用。**结论:**三黄汤配伍钩吻具有减毒存效作用,可为临床钩吻中毒解救提供一定思路,亦可促进钩吻临床应用。

关键词 钩吻;三黄汤;UPLC-MS;生物碱;解毒

钩吻 *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth. (GE)为马钱科胡蔓藤属植物,具有较强的毒性。现代研究^[1-3]发现,钩吻中的活性成分及毒性成分是生物碱类物质,主要是吲哚类生物碱,包括钩吻素子、钩吻素甲、钩吻素己、钩吻绿碱等。其中,钩吻素子含量最高,具有抗肿瘤、抗炎镇痛、抗焦虑等药理活性^[4];钩吻素己的毒性最强,是钩吻具有强烈毒性的主要成分^[5-6],易导致中毒者呼吸肌麻痹后引发呼吸衰竭而死亡^[7]。据报道,1965年1月—2020年2月,钩吻中毒的人数就有1034例^[8],且大众对钩吻的鉴别经验不足而误服的例子更是屡见不鲜^[9-10],这已成为一种严峻的形势。然而,国内外学者研究发现钩吻具有显著的抗肝癌、神经胶质瘤等恶性肿瘤的活性,对骨关节炎疼痛也有良好疗效^[11],但钩吻的治疗量与中毒量接近,临床安全范围小,因此,有效的钩吻减毒存效方案是提高钩吻临床应用的安全性首要问题。

本课题组前期从多个方面开展钩吻减毒存效研

究,包括炮制减毒^[12]、配伍减毒^[13]、发酵减毒^[14]、胆汁炮制减毒^[15]等。此外,课题组根据钩吻的中毒症状,如烦躁不安、肌肉痉挛、抽搐等,认为其中毒症状与《伤寒论》所述“瘀热互结”吻合,辨证其为“太阳蓄血证”^[16]。前期课题组探讨太阳蓄血方解钩吻毒性取得一定进展^[16-17],本实验进一步围绕“瘀热互结”中“热证”的角度探讨钩吻解毒方法。《千金方衍义》记载三黄汤(San Huang Decoction, SHD)是治疗下焦热结之方;《实用中医内科学》^[18]记载三黄汤(药物组成:大黄、黄芩、甘草、栀子)可解钩吻中毒。SHD药物组成均为清热类中药,但其是否通过影响钩吻生物碱成分含量对其毒性产生影响未见相关报道,故本研究通过小鼠急性毒性实验观察其减毒作用,以及通过超高效液相色谱-质谱联用(Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, UPLC-MS)技术检测SHD及其萃取部位对钩吻生物碱成分溶出的影响,旨在阐明SHD对钩吻减毒的作用及其潜在的物质基础,促进钩吻开发应用。

1 材料

1.1 实验仪器 H-class型超高效液相色谱仪(美国Waters公司)、ACQUITY QDa型质谱仪(美国Waters公司)、GT-2120QTS型超声波清洗机(广东固特超声股份有限公司)、AR223CN型千分之一电子天平[奥豪

^{*}基金项目 国家中医药管理局临床中药学高水平中医药重点学科建设项目(No.国中医药人教函〔2022〕226号);福建省大学生创新创业训练计划项目(No.S202110393023)

▲通信作者 李德森,男,副教授,医学硕士。主要从事临床中药学研究。Email:32134753@qq.com

• 作者单位 1.福建中医药大学药学院(福建 福州 350122);2.福建中医药大学科技创新与转化中心(福建 福州 350122)

斯仪器(上海)有限公司]、ME204E型万分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]、DLSB-5/20B型低温冷却液循环泵(郑州长城科工贸有限公司)、RE100-S型旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司)、TDL-40B型离心机(上海安亭科学仪器厂)、Milli-Q型超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.2 实验试剂 胡蔓藤碱乙对照品(批号:BBP02653,纯度 $\geq 95\%$)、胡蔓藤碱丙对照品(批号:BBP02553,纯度 $\geq 97.5\%$)均购自云南西力生物科技有限公司;钩吻素己对照品(批号:MUST-14100901,纯度 $\geq 96\%$)、钩吻素甲对照品(批号:MUST-15071312,纯度 $\geq 98\%$)、钩吻素子对照品(批号:MUST-15062614,纯度 $\geq 99\%$)均购自成都曼思特生物科技开发有限公司;钩吻绿碱对照品(批号:P15A10S85857,纯度 $\geq 95\%$)购自上海源叶生物科技有限公司;水为超纯水;甲醇、甲酸为色谱纯;石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇均为分析纯。

1.3 实验药材 钩吻药材购自云南文山;大黄(批号:210201)、甘草(批号:210901)均购自北京本草方源(亳州)药业科技有限公司;黄芩(批号:21121104)、栀子(批号:21051004)均购自安国市一方药业有限公司。经福建中医药大学黄泽豪教授鉴定,钩吻为马钱科胡蔓藤属植物钩吻 *Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth. 的干燥茎;大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根及根茎;黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根;甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎;栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。

1.4 实验动物 SPF级ICR小鼠80只,雌雄各半,体质量(20 \pm 2)g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物生产许可证号:SCXK(沪)2022-0005。动物饲养于福建中医药大学实验动物中心(24 \pm 2) $^{\circ}$ C屏障环境中,实验许可证号SYXK(闽)2023-004。

2 方法

2.1 SHD及其萃取部位对钩吻中毒小鼠的解毒作用实验

2.1.1 药物制备 (1)GE生物碱的制备:称取150g钩吻粉末,用10倍量的95%乙醇回流提取3次,每次2h,抽滤,旋转蒸发浓缩至0.15g/mL,浓缩液用二氯甲烷萃取至无色,浓缩至膏状,冻干至粉末状密封置

于-20 $^{\circ}$ C保存备用(得率为2.05%)。(2)SHD醇提液的制备:取大黄粉末9g、黄芩粉末6g、甘草粉末3g、栀子粉末20g,用50%的乙醇浸泡30min,超声提取2次,提取溶剂体积分别为10倍、8倍,每次0.5h,抽滤并收集提取液,旋转蒸发浓缩至无醇味,定容得到SHD醇提液(生药浓度为0.76g/mL),4 $^{\circ}$ C冷藏备用。

(3)SHD萃取部位的制备:取2剂SHD(单剂剂量:大黄9g、黄芩6g、甘草3g、栀子20g),用50%的乙醇浸泡30min,超声提取2次,提取溶剂体积分别为10倍、8倍,每次0.5h,抽滤,旋转蒸发至无醇味,定容至50mL(含生药浓度:1.52g/mL),加入95%乙醇醇沉(最终乙醇浓度为80%),4 $^{\circ}$ C、12h,3500r/min离心,10min后浓缩至干,定容至100mL,再依次用与SHD醇提液等量的石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取3~5次,萃取至无色后,各部位(含萃余水部位)萃取液旋转蒸发浓缩并定容至10mL,4 $^{\circ}$ C冷藏备用。

2.1.2 GE致死剂量筛选 取小鼠16只,随机分成4组,每组4只,禁食16~18h,自由饮水。按0.1mL/10g,20g/kg、15g/kg、10g/kg、5g/kg的剂量分别给小鼠灌服GE,观察小鼠24h内的中毒症状和死亡情况并记录,确定引起动物全部死亡的最低剂量。

2.1.3 分组及给药 将64只小鼠随机分成8组:空白组(Control组)、钩吻组(GE组)、先灌服钩吻后灌服SHD醇提液组(GE-SHD组,灌服两种药液的时间间隔为3min,下同),先灌服钩吻后灌服SHD石油醚部位组(GE-SHD石油醚部位组)、先灌服钩吻后灌服SHD三氯甲烷部位组(GE-SHD三氯甲烷部位组)、先灌服钩吻后灌服SHD乙酸乙酯部位组(GE-SHD乙酸乙酯部位组)、先灌服钩吻后灌服SHD正丁醇部位组(GE-SHD正丁醇部位组)、先灌服钩吻后灌服SHD水部位组(GE-SHD水部位组),每组8只,实验前禁食不禁水12h,各组小鼠按计算所得的剂量进行一次性灌胃给药,每只小鼠按0.1mL/10g给药,观察并记录小鼠14d内的中毒症状和死亡情况。

2.2 UPLC-MS色谱条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱:ACQUITY UPLC $\text{\textcircled{R}}$ BEH-C18(2.1mm \times 100mm,1.7 μ m);流动相:甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~0.5min,12%A;0.5~8min,12%~20%A;8~11min,20%A;11~17min,20%~30%A;17~22min,30%~40%A;22~28min,40%~70%A;28~30min,70%A;30~

31 min, 70% ~ 12% A; 31 ~ 33 min, 12% ~ 12% A); 进样量: 10 μ L; 检测波长: 254 nm; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 流速: 0.25 mL/min。

2.2.2 质谱条件 检测器: Waters QDA 质谱检测器; 离子源: 电喷雾离子源(Electrospray Ionization Source, ESI); 扫描方式: 正离子SIR扫描; 正离子模式毛细管电压: 0.8 kV; 锥孔电压: 25 V; 采样速率: 10 点/s; 扫描质量范围: 100 ~ 1000 Da。钩吻中6种生物碱的分子量见表1。

表1 钩吻中6种生物碱的分子量

成分	分子式	分子量(Da)
钩吻素子(Koumine)	C ₂₀ H ₂₃ N ₂ O	307.17
钩吻碱甲(Gelsemine)	C ₂₀ H ₂₃ N ₂ O ₂	323.17
钩吻素己(Gelsenicine)	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₃	327.17
钩吻绿碱(Gelsevirine)	C ₂₁ H ₂₅ N ₂ O ₃	353.10
胡蔓藤碱丙(Humantendine)	C ₂₁ H ₂₇ N ₂ O ₃	355.11
胡蔓藤碱乙(Humantenine)	C ₁₉ H ₂₃ N ₂ O ₄	343.00

2.2.3 方法学考察 本研究采用课题组前期建立的UPLC-MS方法学检测钩吻生物碱含量^[17]。此方法学建立的色谱峰、分离度良好,其精密度、稳定性、重复性、加样回收率的RSD均小于5%,适用于本实验检测钩吻生物碱含量。

2.3 溶液制备

2.3.1 UPLC-MS检测对照品溶液制备 精密称定适量的钩吻绿碱、钩吻素子、胡蔓藤碱丙、胡蔓藤碱乙、钩吻素己、钩吻素甲对照品,加入甲醇,充分溶解,定容至10 mL,得对照品母液。甲醇稀释,得到钩吻绿碱、钩吻素子、胡蔓藤碱丙、胡蔓藤碱乙、钩吻素己、钩吻素甲的浓度分别为9.45、93.00、38.48、33.25、23.20、24.00 μ g/mL的混合对照品贮备液。

2.3.2 UPLC-MS检测供试品溶液制备 以下所述的药材粉末均过100目筛。(1)GE供试品溶液制备:精密称取钩吻粉末1.000 g,加入50%甲醇水溶液(含0.1%甲酸)20 mL,混匀,超声提取30 min(220 V, 50 Hz, 下同),在3500 r/min下离心10 min,再取1 mL加50%甲醇水溶液(含0.1%甲酸)4 mL,过0.22 μ m滤膜,平行测定3份样品。(2)SHD与GE配伍溶液制备:精密称取钩吻粉末1.000 g、大黄粉末0.900 g、黄芩粉末0.600 g、甘草粉末0.300 g、栀子粉末2.000 g,将以上药材粉末加入50 mL离心管中,加入50%甲醇水溶液(含0.1%甲酸)20 mL混匀,称定重量,之后超声提

取30 min,取出放冷,再次称重,补足失重,3500 r/min离心10 min,取1 mL加50%甲醇水溶液(含0.1%甲酸)4 mL,过0.22 μ m滤膜。(3)SHD萃取部位与GE配伍溶液制备:取2剂的SHD药物粉末(单剂剂量:大黄9 g、黄芩6 g、甘草3 g、栀子20 g),用10倍量的50%乙醇溶液(含0.1%甲酸)浸泡30 min,超声提取2次,每次0.5 h,抽滤,旋转蒸发至无醇味,定容至50 mL(含生药浓度:1.52 g/mL),加入95%乙醇醇沉(最终乙醇浓度为80%),于4 $^{\circ}$ C静置12 h,后以3500 r/min离心10 min,上清浓缩至干,定容至100 mL,再依次用与SHD醇提液等量的石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、水进行萃取,萃取至有机层无色后,旋转蒸发浓缩并定容至10 mL,取各萃取部位1 mL,用100%甲醇1 mL进行稀释,再加入50%甲醇水溶液(含0.1%甲酸)18 mL以及钩吻粉末0.200 g,混匀,超声提取30 min,3500 r/min离心10 min,过0.22 μ m滤膜,平行测定3份样品。

2.4 SHD及其萃取部位对GE生物碱成分溶出的影响 按“2.3”项下条件制备供试品溶液,采用上述条件进行UPLC-MS检测,记录峰面积,然后按标准曲线分别计算钩吻素子、钩吻素甲、钩吻素己、胡蔓藤碱乙、胡蔓藤碱丙及钩吻绿碱含量。

2.5 统计学分析 采用SPSS23.0统计软件进行分析。数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用配对样本t检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 GE致死剂量筛选 经GE不同剂量给药后,小鼠出现痉挛、惊厥、跳跃,最后呼吸衰竭而导致死亡,死亡时间均在给药后0.5 h内。当GE剂量 ≥ 10 mg/kg时,小鼠死亡率均为100%,故确定GE的最低致死剂量为10 mg/kg。见表2。

表2 钩吻致死剂量筛选

GE剂量(mg/kg)	n	小鼠存活率(%)
20	4	0
15	4	0
10	4	0
5	4	50

3.2 SHD及其萃取部位对GE中毒小鼠的解毒作用 予10 mg/kg的GE时小鼠全部死亡,但GE配伍SHD、SHD三氯甲烷部位、SHD乙酸乙酯部位、SHD正

丁醇部位、SHD水部位后,小鼠死亡率均显著下降,其中SHD乙酸乙酯部位能显著降低GE毒性且存活率达100%;GE配伍SHD、SHD三氯甲烷部位、SHD正丁醇部位、SHD水部位存活率分别为:87.5%、75%、75%、50%,且小鼠死亡时间显著延长;GE配伍SHD石油醚部位其存活率无显著变化,但亦能延长死亡小鼠的存活时间。见表3。

3.3 SHD对GE生物碱成分溶出的影响 UPLC-MS检测结果显示,与单纯的GE溶液对比,GE与SHD配伍后钩吻素子、钩吻碱甲、钩吻素己、钩吻绿碱、胡蔓藤碱乙、胡蔓藤碱丙的溶出量均呈下降趋势,具有统计学差异($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。见图1。

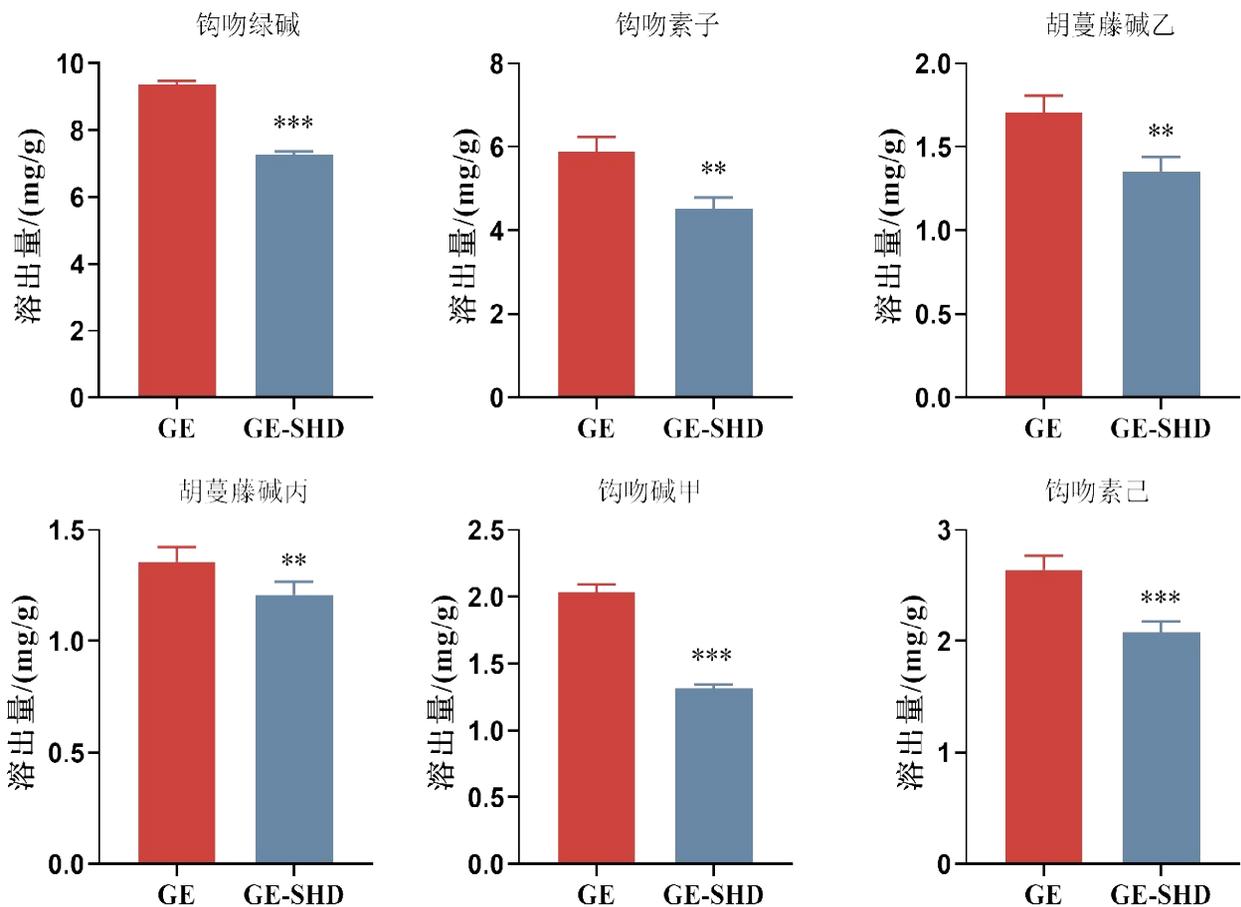
3.4 SHD萃取部位对GE生物碱成分溶出的影响 UPLC-MS检测结果显示,SHD萃取部位对GE中6种生物碱成分均有影响,其中,与单纯的GE溶液对比,

表3 SHD及其萃取部位对GE中毒小鼠死亡的影响

组别	n	GE剂量 (mg/kg)	存活率 (%)	存活时间($\bar{x}\pm s, s$)
Control组	8	-	100	-
GE组	8	10	0	749.12±45.22
GE-SHD组	8	10	87.5	715.50
GE-SHD石油醚部位组	8	10	0	1164.00±180.29**
GE-SHD三氯甲烷部位组	8	10	75	1481.00±22.63**
GE-SHD乙酸乙酯部位组	8	10	100	-
GE-SHD正丁醇部位组	8	10	75	1755.00±38.18**
GE-SHD水部位组	8	10	50	949.00±44.97**

注:与GE组比,** $P<0.01$

GE与SHD乙酸乙酯部位配伍后钩吻绿碱、胡蔓藤碱乙、钩吻素己的溶出量均有较为明显降低趋势,具有统计学差异($P<0.001$)。见图2。



与GE组相比,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

图1 SHD对GE中6种生物碱成分溶出的影响

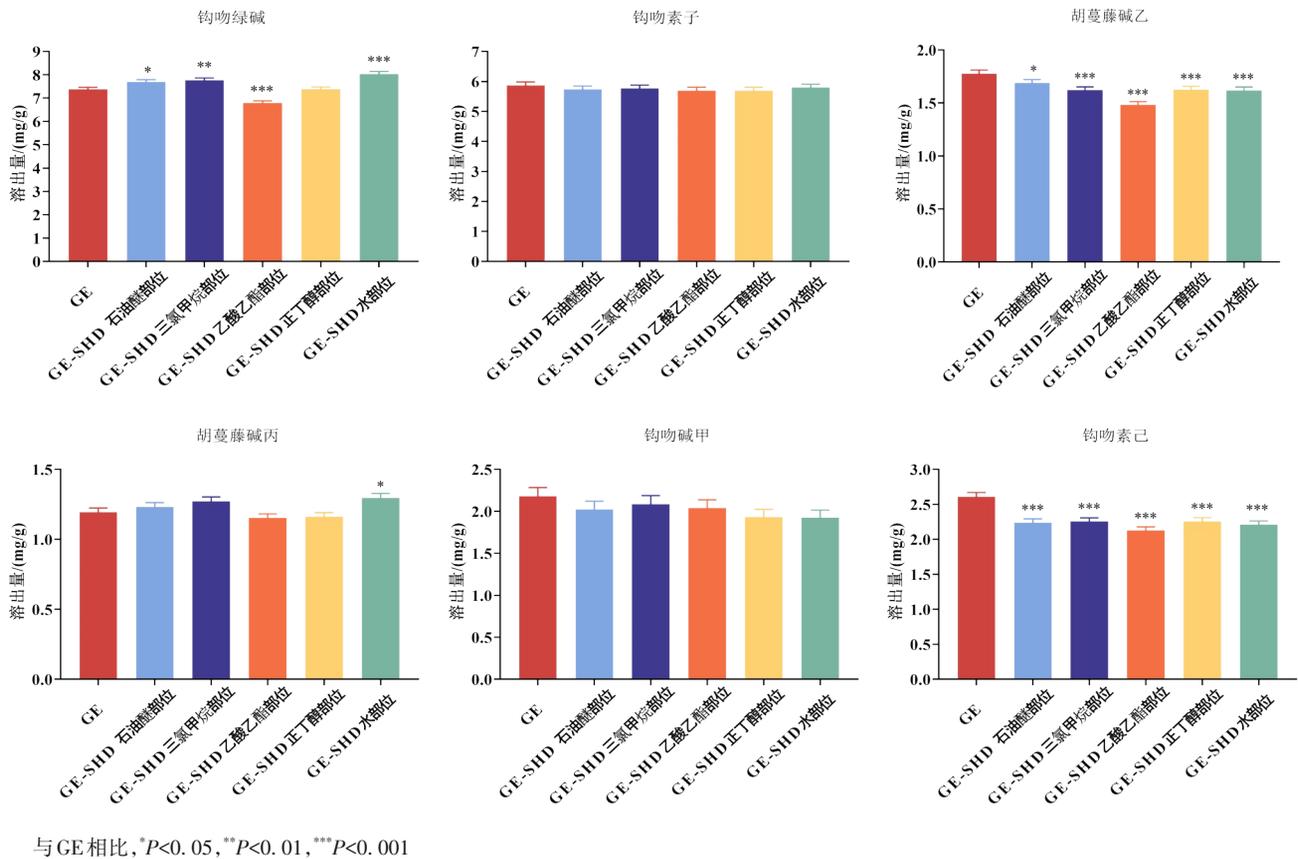


图2 SHD萃取部位对GE中6种生物碱成分溶出的影响

4 讨论

钩吻是福建省特色药材,因其毒性而闻名,但具有潜在的抗炎、镇痛、抗肿瘤药用价值,具有“止痛不成瘾”的优势^[19]。因此,解决钩吻毒性问题对其研究、开发和利用具有重要意义。中医方药配伍讲究君臣佐使,在药性、归经、功效主治等方面配伍、增效、减毒。从中医“方证相关”理论探讨钩吻减毒研究是一个突破点,对于钩吻减毒后临床应用具有重要意义。本课题组在“方证相关”研究中通过开展相关动物实验^[16],揭示了钩吻中毒机制及太阳蓄血方剂桃核承气汤、抵当汤通过“多组分、多靶点、多途径”对钩吻发挥减毒存效作用。在此基础上,本研究从“热证”着手,以《千金要方》三黄汤对钩吻生物碱的溶出及毒性的影响进行研究,初步阐释三黄汤减缓钩吻毒性的物质基础。

《伤寒论》记载:“病皆与方相应者,乃服之。”中医理论经过实践不断丰富发展,逐渐形成“方证相关”理论,即方药与病证存在高度关联性与对应性,体现中医“辨证论治”和整体观念的诊疗特点。三黄汤药简

力宏,《千金方衍义》曰:“此于伊尹三黄汤中以栀子、甘草之轻剂易去黄连之苦寒,使速分利阴阳,不致重味侵犯中州也。”方中栀子泻火泄热而除烦,清三焦之热,与甘草合用可清中焦之热,顾护脾胃;大黄泻下攻积,凉血解毒,逐瘀通经;黄芩清热燥湿。四药合用,共奏凉血祛瘀、通腑泄热之效。

钩吻所致中毒症状^[20]为呕吐、头晕、腹痛、呼吸困难、视力模糊、昏迷和痉挛抽搐等,据文献^[18,21]报道可得,钩吻引起中毒相关症状的机制主要是对延髓中枢的抑制导致呼吸困难,重度中毒时甚至会影响包含双侧海马和基底核在内的中枢神经系统,使患者陷入昏迷,而中毒过程中表现出的烦躁不安、痉挛抽搐、呼吸困难、昏迷,与太阳蓄血证中“瘀热互结”“蓄血者,在下焦结聚……太阳随经,瘀热在里,血为热所搏”“在下之热上扰心神”^[22]相对应,前期课题实验已初步验证,钩吻中毒与太阳蓄血证相关,从中医辨证论治角度应考虑清热、活血化瘀。

本研究通过先灌服钩吻后灌服三黄汤进行钩吻中毒小鼠解毒实验,观察三黄汤对钩吻急性毒性的影

响:经钩吻不同剂量给药后,以小鼠死亡率 100% 确定钩吻的最低致死剂量为 10 mg/kg;根据小鼠存活率及死亡时间,综合得出三黄汤解救钩吻急性中毒的药效强弱表现为:三黄汤乙酸乙酯部位>三黄汤>三黄汤三氯甲烷部位、三黄汤正丁醇部位>三黄汤水部位>三黄汤石油醚部位,其中三黄汤乙酸乙酯部位能显著降低钩吻毒性且小鼠存活率达 100%。以上结果表明,三黄汤对钩吻确有减毒作用,其主要减毒物质可能为三黄汤乙酸乙酯部位,但是其中化学成分的具体变化仍不清楚。

为了进一步阐明三黄汤对钩吻减毒的物质基础,本研究通过 UPLC-MS 检测钩吻生物碱成分变化,发现经过三黄汤及其萃取部位作用后,会影响钩吻生物碱溶出,表现为降低或者部分升高,其中对毒性主要成分钩吻素己的溶出具有抑制作用,而对活性成分钩吻素子等降低作用较弱或无明显降低作用,表明钩吻与三黄汤及其萃取部位配伍后可降低毒性而保存药效,同时提示钩吻与三黄汤及三黄汤萃取部位配伍后发生了化学变化,但具体涉及哪些环节则在本研究中未能明晰,仍需进一步深入研究。

综上所述,本实验从钩吻中毒表现出的热证出发,运用“方证相关”理论,观察三黄汤及其萃取部位对钩吻生物碱成分溶出及毒性的影响,结果表明“方证相关”理论指导的《千金要方》三黄汤能降低钩吻中毒小鼠死亡率、延长存活时间,其中乙酸乙酯部位效果最佳,且通过观察生物碱成分溶出量可知三黄汤及其萃取部位对钩吻具有减毒存效的作用,因此未来可围绕三黄汤乙酸乙酯部位减毒物质基础及存效作用开展深入研究,以促进钩吻的临床安全应用。本研究进一步丰富了“方证相关”减毒理论的内涵,亦为钩吻减毒存效研究提供一定参考,在一定程度上为钩吻在临床上的安全应用提供实验基础。

参考文献

- [1]孙铭学,徐庆强,孟文琪,等.钩吻药理及毒理机制研究进展[J].毒理学杂志,2020,34(4):336-341.
- [2]赵雅婷,武淑鹏,胡春丽,等.钩吻的化学成分及药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(3):200-210.
- [3]陈杰,钟延旭,雷宁生.应用液质联用法(LC-MS/MS)快速测定药酒

中 11 种钩吻生物碱的含量[J].应用预防医学,2023,29(5):321-324,329.

- [4]刘雪艳.钩吻素子的合成研究进展[J].中外医疗,2021,40(25):193-198.
- [5]赵斌,吴紫陆,席作武.ROS/JNK/FoxO3a 信号通路在钩吻素子抑制结肠癌细胞增殖和诱导凋亡中的作用[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(24):100-108.
- [6]杨梦然,毛妍,梁曾恩妮,等.钩吻素子抗炎作用研究进展[J].动物医学进展,2022,43(3):103-106.
- [7]张昊培,陈学国,姜利民,等.钩吻毒性与成分检验研究进展[J].福建分析测试,2020,29(6):16-20.
- [8]陈超杰,何嘉莉,韦锦彦,等.1034 例钩吻中毒事件的文献分析[J].梧州学院学报,2020,30(3):11-19.
- [9]常靖,吴小军,陈泰,等.一起断肠草急性中毒死亡案件的法医毒物学分析及文献总结[J].刑事技术,2023,48(4):426-431.
- [10]林巧贤,傅武胜,刘治燕,等.一起食物中毒事件的草药物种鉴别[J].海峡预防医学杂志,2022,28(5):74-77.
- [11]王河山,黄福龙,王文杰,等.钩吻的毒性及炮制减毒研究进展[J].药学研究,2022,41(11):721-725,730.
- [12]吴水生,李德森,许豪然,等.基于谱效关系的钩吻炮制减毒存效的实验研究[J].中医药学报,2017,45(5):80-84.
- [13]王英豪.毒性中药钩吻配伍玉叶金花减毒机制研究[D].福州:福建中医药大学,2016.
- [14]黄美霞,洪怀山,林程,等.赤芝双向固体发酵钩吻根前后的谱、效、毒研究[J].中药材,2017,40(5):1088-1091.
- [15]陈倪济世,檀兴慧,卢淑珍,等.胆汁混合蒸制前后钩吻成分差异及急性毒性研究[J].福建中医药,2022,53(6):20-26.
- [16]李德森,王文义,吴水生.基于太阳蓄血“方证相关”的钩吻减毒存效的实验研究[J].时珍国医国药,2020,31(3):567-570.
- [17]王文义,檀兴慧,王婉莹,等.基于抵消汤减毒的钩吻生物碱体内外含量变化研究[J].中国中医药信息杂志,2021,28(1):100-106.
- [18]方药中.实用中医内科学[M].上海:上海科学技术出版社,2009:288.
- [19]宋恩峰,张彩蝶.钩吻现代功效研究进展[J].现代中药研究与实践,2017,31(5):74-77.
- [20]姬圣洁,刘伟.钩吻毒理学与检测方法的研究进展[J].中国司法鉴定,2017(3):24-30.
- [21]LIN H, QIU H, CHENG Y, et al. Gelsemium elegans benth: chemical components, pharmacological effects, and toxicity mechanisms [J]. Molecules, 2021, 26(23): 7145.
- [22]芦文娟,史光伟,梁永林,等.再探《伤寒论》第 106 条[J].国医论坛,2023,38(4):1-4.

(收稿日期:2024-03-23)

(本文编辑:黄明愉)