

实验研究

复方乌头微乳皮肤刺激性和急性毒性实验研究

李玉奎 赵爱侠 赵琳 马振勇

(河南省商丘医学高等专科学校,商丘,476100)

摘要 目的:观察复方乌头微乳皮肤刺激和急性毒性实验,为临床安全用药提供依据。方法:单次刺激性试验选大鼠12只,完整皮肤和破损皮肤2组,采用同体左右侧自身对比,实验前24 h将其背部对称两侧用脱毛剂脱毛,将去毛部位分成4个区域,左侧分为上下2个区域,右侧分为上下个区域,在各大鼠身体左上侧皮肤上涂微0.5 mL,右上侧皮肤上涂空白微乳0.5 mL,其余部分不做处理,于涂药6 h去除药物,分别在1、24、48、72 h观察皮肤刺激反应及恢复情况,与对侧比较。多次刺激性实验方法同上,给药3次/d,每次0.5 mL,连续7 d,于末次给药去除药物后1周内,观察皮肤刺激反应、急性毒性试验将SD大鼠随机分为5组,即生理盐水组,空白微乳组,高、中、低剂量治疗组,每组15只,雌雄各半。各组大鼠背部脊柱两侧剃毛,面积约4 cm×3 cm,空白对照组涂生理盐水0.9 mL/(只·d),药物对照组涂凡士林膏0.9 mL/(只·d),低剂量组涂微0.9 mL/(只·d),中剂量组涂微乳1.5 mL/(只·d),高剂量组涂微乳2.5 mL/(只·d),分3次给药,间隔4 h,连续给药14 d(间隔7 d脱毛1次),分别在给药前(D0),给药后第7天(D7),给药后第14天(D14)记录动物体质量,观察动物外观体征,行为活动,腺体分泌等,并检测血常规及血液生化指标。结果:皮肤刺激性实验无明显变化,皮肤急性毒性试验主要血液学指标、生化指标与空白对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。高剂量组有两只大鼠腹泻,体质量下降,其余大鼠外观、行为体征、活动、精神状态均无明显异常;饮食、粪便及尿液正常;无大鼠死亡情况发生。结论:复方乌头微乳外用对大鼠完整皮肤无刺激性,对破损皮肤有轻度刺激性,对大鼠皮肤无急性毒性。

关键词 复方乌头微乳;动物;实验;透皮给药;安全性

Experimental Study on Acute Toxicity and Irritation of Compound Aconite Microemulsion Skin

Li Yukui, Zhao Aixia, Zhao Lin, Ma Zhenyong

(Shangqiu Medical College, Henan, Shangqiu 476100, China)

Abstract Objective: To observe the effect of compound aconite microemulsion skin irritation and acute toxicity test, to provide the basis for clinical drug safety. **Methods:** Single stimulation test selected 12 rats with intact skin and damaged skin of two groups, the same side of 24 h, before the experiment will be on both sides of the back symmetrical with depilatory. The hair part is divided into 4 parts, the left side is divided into 2 regions, the right side is divided into upper and lower regions, in the rat body left on the skin with micro 0.5 mL, right side of the skin with the rest of the blank microemulsion 0.5 mL, without treatment, to remove drug applicator for 6 hours, respectively 1, 24, 48, 72 h observation of skin irritation reaction and recovery, compared to the contralateral side; multiple stimulation experiment method ibid, administered 3 times daily, 0.5 mL each time, for 7 d, at the end of the administration after drug removal within a week, view Observation of skin irritation; acute toxicity test: SD rats were randomly divided into 5 groups: normal saline group, blank microemulsion group, high, medium and low dose group, 15 rats in each group, half male and half female. The rats back on both sides of the spine to shave, an area of about 4 cm×3 cm, the blank control group with saline 0.9 mL/(d only), the drug control group with Vaseline ointment(only 0.9 mL/D), low dose group with micro 0.9 mL/(only D), middle dose group(1.5 mL/TU microemulsion-only D), high dose group with 2.5 mL/microemulsion(only D), divided into 3 doses. The interval of 4 hours, continuous administration of 14 days(7 days apart, a hair removal) before administration(D0), seventh days after administration(D7), after administration of 1 the 4 day(D14) records of animal weight, observe the appearance of animal signs, behavior, glandular secretion, and detection of blood and blood biochemical index. **Results:** Skin irritation test showed no obvious change index, biochemical index compared with the control group there were no significant differences in skin acute toxicity test of major hematologic($P>0.05$) high there are two dose group diarrhea rats, weight loss, appearance, the rest rats behavioral signs, activities and mental status were not significantly abnormal; diet, feces and urine of normal rats; no occurrence of death. **Conclusion:** Compound aconite microemulsion had no irritation to the rats with intact skin, mild irritation to skin damage, no acute toxicity on the skin of rats.

基金项目:河南省教育厅科研课题(编号:15B360009)

作者简介:李玉奎(1981.01—),男,硕士研究生,讲师,主治医师,研究方向:复方中药微乳在骨关节中的应用研究, E-mail: 1403905489@qq.com

Key Words Compound aconite microemulsion; Animal; Experiment; Transdermal drug delivery; Safety

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.04.039

乌头汤在临床上经常用来治疗类风湿性关节炎^[1]等各种关节疼痛。复方乌头微乳是将乌头汤为基本方的我校附属医院的浸膏剂改成微乳制剂,我们通过皮肤刺激性和急性毒性实验,了解其中毒剂量,以更好地为临床应用提供科学依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 健康SD大鼠100只,体质量200~250g,雌雄各半,由河南省实验动物中心提供,动物合格证号:150617。每只分笼饲养,基础饲料为实验鼠全价颗粒饲料,饮用水为已洁净消毒的水,笼底垫料为已经洁净消毒的锯末,更换1次/2d。实验室温度21~24℃,湿度55%~70%,光照12h明暗周期。

1.1.2 药物 复方乌头微乳:生川乌30g、生马钱子20g、红花30g、麻黄20g、当归20g、川芎20g、黄芪20g、甘草10g、生白芍20g。将以上中药在60℃恒温干燥3h,以料液比为1:5的75%乙醇浸泡12h,重复3次,合并滤液,滤液60℃减压浓缩至糖浆状,残渣以料液比为1:4的60℃生理盐水溶解、静置、分层并过滤,得澄清淡黄色水溶液,该溶液60℃减压浓缩。将以上浓缩的原料放入十六醇,单甘脂,吐温-80 1.5%,白凡士林15%、甘油5%溶液中。在37℃水浴中涡旋混匀后,加入20倍的蒸馏水,于磁力搅拌下乳化,制成微乳。微乳中乌头碱含量小于0.24mg/mL。

空白微乳:微乳中不加入任何药物成分。

1.1.3 试剂与仪器 Biofuge strutos 型高速低温离心机;(Kendro Laboratory Products);JY92-2D型超声波细胞粉碎机(宁波新芝科器研究所);YKH-I型液体快速混合器(江西医疗器械厂);TU-180紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);RE-52AA型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);PTHW型电热套(巩义市英峪予华仪器厂);电热恒温水浴锅(上海医疗器械股份有限公司一医疗器械五厂);予华SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂);CELL-DYN3700全自动五分类血球分析仪(日本光电);75%的乙醇(商丘市永发酒厂)批号:20140908。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 选健康大鼠12只,体质量200~250g,雌雄各半,分为2组:完整皮肤组和皮肤破损组,每组6只。按照《中药新药研究指南》的要求,采用同体左右侧自身对比,实验前24h将其背部对称两侧用脱毛剂脱毛,脱毛面积每侧为3cm×3cm。实验前检查去毛皮肤是否因去毛而划破,如皮肤受伤,该大鼠不宜用作完好皮肤的刺激性实验。破损皮肤的制作方法:用75%乙醇皮肤清洁,消毒,暴露完整皮肤,待乙醇挥发后,采用一次性无菌7号针头将完整的皮肤消毒去划“井”字破口,破损区域2cm×2cm,以刺伤表皮,不伤真皮,见有渗血为度。

1.2.2 给药方法

1.2.2.1 单次给药大鼠皮肤刺激实验 将去毛部位分成4个区域,左侧分为上下2个区域,右侧分为上下个区域,左侧上半区涂抹复方乌头微乳,左侧下半区不做处理,右侧上半区涂抹空白微乳,右侧下半区不做处理。涂抹0.5mL/次。于涂搽受试物46h后,用温水除去残留受试物。然后在1、24、48、72h观察皮肤刺激反应及恢复情况,与对侧比较,并根据中药、天然药物刺激性和溶血性研究的技术指导原则^[1](编号ZJGPT4-1)制定评分标准。

皮肤刺激反应评分标准:红斑勉强可见为1分,中度红斑为2分,严重红斑为3分,紫色红斑并有焦痂形成为4分;水肿勉强可见为1分,皮肤隆起轮廓清楚为2分,隆起1mm为3分,隆起1mm以上并有扩大为4分。皮肤刺激强度评价标准:0.5<分值<3.0为轻度刺激性,3.0<分值<6.0为中度刺激性,分值>6.0为强刺激性。

1.2.2.2 多次给药对大鼠皮肤的刺激性实验 选健康大鼠12只,体质量200~250g,雌雄各半,实验方法同上,给药3次/d,0.5mL/次,连续应用7d,于末次给药后1周内,观察皮肤刺激反应,并按上述评分标准进行评价。

1.2.2.3 急性毒性实验 将75只大鼠体质量200~250g,随机分为5组,即空白微乳对照组,生理盐水对照组,高剂量组、中剂量组、低剂量组每组15只,雌雄各半,各组大鼠背部脊柱两侧剃毛,面积约4cm×3cm。空白对照组涂生理盐水0.9mL/(只·d),空白微乳对照组0.9mL/(只·d),低剂量组涂复方乌头微乳0.9mL/(只·d),中剂量组涂抹复方乌头

微乳 1.5 mL/(只·d),高剂量组涂抹复方乌头微乳 2.5 mL/(只·d),给药,3次/d,连续给药 14 d(间隔 7 d 脱毛 1 次),分别在给药前(D0),给药后第 7 天(D7),给药后第 14 天(D14)记录动物体质量,观察动物外观体征,行为活动,腺体分泌,呼吸,饮食,排泄物等及其他中毒表现,若有动物死亡,则需要肉眼观察和尸检,必要时病理学检查。并将实验组与对照组进行比较。

1.2.3 检测指标与方法 第 15 天将所有豚鼠心脏取血(先用 10% 水合氯醛以 800 mg/kg 腹腔注射麻醉豚鼠,然后快速打开胸腔暴露心脏,持 10 mL 注射器经左心室插入抽取 5~8 mL,检测各组大鼠血红蛋白(Hgb)、红细胞计数(RBC)、白细胞计数(WBC)及白细胞分类(包括中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞及嗜酸粒细胞)主要血液学指标。同时,收集血液,分离血清,检测尿素氮(BUN)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)及血清总胆红素(TBIL)等主要生化指标。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计学分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 实验对大鼠皮肤的刺激性 单次给药后 1、8、12、24 h 观察皮肤刺激反应,所有动物均未出现明显红斑、水肿等反应;完整皮肤组和破损皮肤组均无刺激性反应,空白微乳和复方乌头微乳对皮肤均无刺

激性。多次给药后连续观察 1 周,完整皮肤所有大鼠给药侧皮肤均未出现明显红斑、水肿及其他皮肤反应。破损组大鼠的皮肤,复方乌头微乳和空白微乳均有轻度的刺激性。但在连续给药 48 h 后刺激性消失。

2.2 急性毒性实验对大鼠体质量的影响 通过体质量的检测,各组分别与第 7 天和第 14 天进行对比,各组之间差异无统计学意义,高剂量组有两只大鼠在用药第 10 天出现腹泻,体质量下降,未给予任何治疗,在第 14 天停药后,腹泻逐渐缓解。所有动物未见死亡。

2.3 急性毒性试验对大鼠血常规指标的影响 实验 14 d 后,心脏取血,比较治疗组与对照组大鼠血常规指标,差异无统计学意义。

2.4 急性毒性试验对大鼠血生化指标的影响 见表 3。

表 1 急性毒性实验对大鼠体质量的影响 [$n, (g)$]

组别	鼠数	D0(g)	D7(g)	D14(g)
空白微乳对照组	15	218.3±22.8	241.5±16.3	281.7±24.2
生理盐水对照组	15	215.9±19.2	251.6±19.4	289.4±21.4
低剂量组	15	224.4±21.5	240.7±21.5	290.4±16.3
中剂量组	15	221.8±19.4	250.8±20.9	285.6±19.2
高剂量组	15	213.6±25.9	247.6±18.6	279.1±28.4
<i>F</i>		0.236	2.356	0.356
<i>P</i>		0.954	0.096	0.251

注:组间比较, $P > 0.05$,无统计学意义。

表 2 急性毒性试验对大鼠血常规指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Hgb(g/L)	RBC(10^{12})	WBC(10^9)	白细胞分类			
					中性粒细胞	淋巴细胞	单核细胞	嗜酸粒细胞
生理盐水组	15	144±0.30	7.48±2.10	5.34±5.32	0.16±0.25	0.75±0.68	0.017±0.32	0.021±0.35
空白微乳组	15	146±3.36	7.49±3.25	5.57±4.39	0.15±0.84	0.78±0.78	0.018±0.65	0.019±0.65
高剂量组	15	149±2.41	7.36±2.63	5.49±2.58	0.17±0.65	0.79±1.02	0.017±0.85	0.018±0.78
中剂量组	15	141±4.38	7.29±4.12	5.50±4.37	0.16±0.34	0.81±0.73	0.018±0.46	0.020±0.12
低剂量组	15	152±3.25	7.41±3.58	5.43±3.59	0.15±0.74	0.76±0.59	0.019±0.59	0.018±0.37
<i>F</i>		3.450	0.450	2.151	1.832	4.022	1.589	3.217
<i>P</i>		0.079	0.201	0.101	0.234	0.071	0.207	0.084

注:组间比较, $P > 0.05$,无统计学意义。

表 3 急性毒性试验对大鼠血生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL($\mu\text{mol/L}$)	GLU(mmol/L)	BUN(mmol/L)	TP(g/L)
生理盐水组	15	69.73±11.34	312.85±89.12	0.77±0.32	8.56±3.04	9.10±0.85	43.57±0.89
空白微乳组	15	80.12±15.39	270.12±102.15	0.71±0.37	7.85±2.58	9.58±0.36	45.87±1.02
高剂量组	15	74.35±17.54	289.45±98.65	0.65±0.29	7.61±2.67	10.35±0.58	42.56±1.12
中剂量组	15	76.54±16.48	300.45±97.14	0.64±0.36	8.04±2.87	10.08±0.49	44.21±0.95
低剂量组	15	79.40±18.94	256.18±110.58	0.70±0.28	7.39±2.90	9.87±0.61	45.10±0.91
<i>F</i>		4.581	3.254	2.698	2.097	2.875	5.011
<i>P</i>		0.070	0.081	0.232	0.269	0.211	0.068

注:组间比较, $P > 0.05$,无统计学意义。

3 讨论

本方正是以《伤寒论》乌头汤为基本方加减而成,具有温经温经散寒、祛风除湿、舒筋活络止痛的功效。乌头汤在临床上经常用来治疗类风湿性关节炎^[2-3]等各种关节疼痛的患者,现代研究也证明^[4-6]:白芍总苷、马钱子碱、乌头碱,具有较强的镇痛作用,而微乳制剂可以促进白芍总苷等成分的头皮吸收。从而能提高临床疗效。中药外用的安全性已经受到2 000余年的临床验证,但随着现代分离提取技术的出现,直接作用在病变部位的有效成分浓度相对提高^[7-9]。尤其是微乳制剂,使皮肤的角质层结构发生变化,促进药物的吸收。这些因素导致临床外用制剂的不安全性。例如乌头碱毒性极大,成人口服乌头碱0.2 mg中毒,2~5 mg可以致死^[10-13]。因口服的毒性限制了临床广泛的引用,为达到减毒增效的目的,透皮给药是理想给药方式。乌头碱透皮给药最小致死量为15.6 mg/kg。乌头碱镇痛作用强度随着用药量的增加而加强,当用量达到18.75 mg/kg时,乌头碱镇痛作用达到平台期^[14-16]。因此,乌头碱透皮给药方式优于内服,但必须做相关的毒性实验,以便了解其毒性反应,为临床安全用药提供指导。

我们通过复方乌头微乳的皮肤刺激性实验和急性毒性实验,证实了复方乌头微乳对皮肤单次给药和多次给药,对完整皮肤均无刺激性。多次给药后,复方乌头微乳和空白微乳对破损皮肤均有轻度刺激性,但用药后刺激性消失。这种轻度的刺激既可以是药物中的活性成分,也可以是基质本身。因复方乌头微乳与空白微乳对破损皮肤刺激比较无差异,考虑到可能是基质所致,因此进一步选择良好的基质是我们努力的方向。通过急性毒性实验表明:除了高剂量组有2只大鼠出现腹泻,体质量下降,其余大鼠外观、行为体征、活动、精神状态均无明显异常;饮食、粪便及尿液正常,无大鼠死亡情况发生。体质量,血常规和血生化组间比较差异无统计学意义。

类风湿等关节炎患者因为长期服药,出现许多并发症,中药外用虽有疗效,但制剂往往落后,再加上中药复方制剂的成分复杂,且容易发生水解、氧化、挥发等因素,通常不提取单一纯品。提起的成分中有些是脂溶性,有些是水溶性的,故一时难以借用某些先进的外用新剂型^[17-18]。然而微乳可以避免这些不利因素。微乳具有表面张力较低,易于湿润皮肤,组织透过性好等优点^[19-21]。微乳本身具有良好的稳定性,对于水溶性、脂溶性及难溶性药物均

有较好的溶解能力,既可以克服“首过效应”促进药物吸收,又能提高生物利用度。其特定的纳米尺度使微乳剂具有一定的缓释和靶向作用^[22-23]。微乳具有良好的透皮吸收能力,主要是通过其作用于角质层而促进药物透皮吸收。另外,微乳也可通过提高药物溶解度、作用于皮肤附属器来促进药物透皮吸收。

参考文献

- [1] 王北婴,李义奎. 中药新药研究开发技术与方法[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001:810.
- [2] 毛丽珠,黄丽华,吴定奇. 二藤乌头汤治疗活动期类风湿关节炎的疗效及护理[J]. 黑龙江医学,2013,37(3):220-223.
- [3] 曹欢,管庆霞,张亮,等. 马钱子新型制剂研究[J]. 长春中医药大学学报,2014,30(4):622-624.
- [4] 何任. 我国有毒生物中毒文献分析与北乌头中乌头碱类毒素含量影响因素实验研究[D]. 北京:中国疾病预防控制中心,2014.
- [5] 孙虎,王平. 乌头碱经皮给药的急性毒性及相关的镇痛作用研究[J]. 中成药,2012,34(11):2064-2066.
- [6] 刘彩艳,宋英. 微乳透皮给药系统的研究进展[J]. 中药与临床,2014,5(1):57-59.
- [7] 张世忠,吴博威. 乌头碱与钾离子通道激动剂合用对离体大鼠心脏的正性肌力作用研究[J]. 中国药理学通报,2011,15(3):2331-2333.
- [8] 李建强. 急性乌头碱中毒所致室性“电风暴”抢救分析[J]. 中国社区医师,2016,17(2):78-79.
- [9] 杨华生,梁秉文,黎晓丽,等. 制川乌配伍白芍对6种乌头生物碱经皮吸收的影响[J]. 中成药,2015,37(9):1917-1921.
- [10] 郑志杰. 乌头汤中苯甲酰新乌头胺及麻黄碱的代动力学研究[D]. 广州:南方医科大学,2013.
- [11] 朱凡. 乌头碱醇质体的制备及抗炎镇痛作用研究[D]. 武汉:武汉理工大学,2011.
- [12] 欧水平. 基于“一体多用”的乌头新药用部位及制剂研究——川乌头茎叶治疗类风湿性关节炎的成药性研究[D]. 成都:成都中医药大学,2013.
- [13] 陈晓薇,陈丽珊. 1例外敷中药膏药致急性乌头碱中毒患者的抢救配合[J]. 护理学报,2012,19(6):53-54.
- [14] 夏西超,袁国卿,马瑜红,等. 乌头半夏混剂促进大鼠创面愈合的研究[J]. 成都中医药大学学报,2015,38(2):21-24.
- [15] 努尔拉江·帕合尔丁,吐鲁洪卡德尔,沈腾,等. 川乌中乌头碱的体外透皮实验研究[J]. 中国民族医药杂志,2011,17(12):46-49.
- [16] 刘明. 乌头碱中毒致室性心动过速1例[J]. 临床合理用药杂志,2011,4(20):10.
- [17] 冯健清,陆燕洪,庄丽华,等. 含乌头碱类中药致重症药疹2例报告[J]. 吉林中医药,2012,32(4):414-415.
- [18] 李成皇. 乌头碱中毒致心律失常1例报告[J]. 中国保健营养(下旬刊),2013,23(3):1166.
- [19] 刘宗瑛. “天然植物抗菌液”镇痛作用及机理研究[D]. 成都:西南交通大学,2015.

少量由肾上腺分泌。雌二醇浓度是检查下视丘—垂体—生殖腺轴功能的指标之一^[7]。孕酮(Progesterone, P)是一种重要性激素,不仅在月经周期的调节中起重要作用,也是维持妊娠所必须的重要激素之一, P由卵巢分泌,在卵巢内主要是由黄体产生,因此,临床上测定血清孕酮的含量,对于妇女卵巢排卵功能也有着重要的意义。本实验所反映出来的激素水平,可能预示着正常卵泡由正常到功能衰竭之间的一个过渡阶段。E₂的升高可作为早期卵巢功能不全或障碍的重要指标,可估计卵泡池中所剩卵泡的数量。本次实验表明,二仙汤能够升高P、E₂水平,进而改善卵巢功能。

二仙汤对顺铂损伤的卵巢颗粒细胞具有较好的疗效。以往研究表明,二仙汤可以作用于垂体,改善GTH细胞的结构促性腺激素的合成和分泌,有效的治疗绝经后高血压。可以调节自身性腺分泌,使性激素增加,临床治疗月经不调。也可以延缓老年大鼠弓状核退化,用于治疗女性更年期综合征^[8-11]。本次实验研究表明,二仙汤通过调节血清中激素含量,能降低顺铂干预后大鼠卵巢颗粒细胞中bax蛋白在卵泡颗粒细胞表达,增强bcl-2蛋白的表达,二仙汤可抑制卵巢颗粒细胞凋亡,降低顺铂对卵巢颗粒细胞的损害,从而促进卵泡发育,改善卵巢功能。

参考文献

- [1] 艾浩, 牛建昭, 薛晓鸥, 等. 化疗损伤性卵巢功能早衰小鼠动物模型的研究[J]. 中国实验动物学报, 2007, 15(1): 35-38.
- [2] 李长艳, 尤昭玲. 尤昭玲教授治疗卵巢早衰经验[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(3): 18-20.
- [3] 叶娜, 董晓英, 李冬华, 等. 卵巢早衰的颗粒细胞凋亡机制研究进展[J]. 首都医科大学学报, 2014, 35(3): 379-383.
- [4] 张丽娟, 陶仕英, 赵不文, 等. 顺铂建立大鼠卵巢早衰模型的实验研究[J]. 世界中医药, 2015, 10(10): 1563-1569.
- [5] 李鹏, 张威, 张奕, 等. 顺铂对豚鼠耳蜗及螺旋神经节细胞 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 30(1): 45-48.
- [6] 高瑛, 石坤和, 顾渊, 等. 二仙汤对乳腺癌细胞转移大鼠 Cdc42 的影响[J]. 中医学报, 2016, 31(214): 312-315.
- [7] 余芳, 姜涛, 赵晶晶, 等. 雌孕激素联合心理疏导治疗卵巢早衰的效果[J]. 中国医药导报, 2015, 12(26): 65-69.
- [8] 李黎. 二仙汤的现代临床运用[J]. 四川中医, 2014, 32(12): 182-184.
- [9] 王令军. 二仙汤合知柏地黄汤治疗卵巢早衰临床观察[J]. 中医学报, 2010, 25(148): 534-535.
- [10] 王影, 薛霁. 卵巢早衰的中西医研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(3): 2897-2898.
- [11] 高响, 翟玉祥, 高宝仁. 王灿晖二仙汤加减治疗围绝经期综合征经验[J]. 中医学报, 2012, 27(167): 419-420.

(2016-06-28 收稿 责任编辑:白桦)

(上接第 864 页)

- [20] 谢辉辉, 谢彤, 徐建亚, 等. 基于代谢组学方法研究乌头碱和苯甲酰乌头原碱对 BeWo 细胞的毒性机制[J]. 分析化学, 2015, 43(12): 1808-1813.
- [21] 李艳茸, 李春, 王智民, 等. 藏药甘青乌头化学成分研究(III)[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1163-1167.

- [22] 姜婷, 轩轶欢, 付玲, 等. 准噶尔乌头中 4 种生物碱在炮制过程中的含量变化[J]. 中成药, 2016, 38(12): 2641-2646.
- [23] 孙蕾, 王少辰, 孙明谦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 研究 6 种乌头生物碱类成分的裂解途径[J]. 中草药, 2016, 47(16): 2827-2831.

(2016-09-29 收稿 责任编辑:洪志强)