

等量附子不同组方中药制剂中碱性物质质量比较研究

杨霖, 范哲贤, 李孝栋*

福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122

摘要: **目的** 比较等量附子不同组方的 4 种中药制剂(单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液)中碱性物质的质量浓度。**方法** 以乌头碱为对照品, 通过紫外可见光谱扫描或检测, 分别获得单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液(质量浓度均为附子生药 0.2 g/mL)中的碱性物质在 200~600 nm 波长下的吸光度(A)-波长曲线下面积(吸波面积)和 415 nm 下溴甲酚绿比色法的 A 值, 计算碱性物质质量, 并对 2 种方法得到的结果进行比较。**结果** 吸波面积法和溴甲酚绿比色法获得的结果均准确可信、方法可行, 线性方程分别为吸波面积法 $Y=0.145\ 42\ X+3.240\ 4$, $r=0.999\ 3$; 溴甲酚绿比色法 $Y=0.008\ 63\ X+0.006\ 57$, $r=0.999\ 5$; 吸波面积法获得的单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液中的整体碱性物质质量浓度分别为 1 137.992、2 907.120、2 455.611、298.208 $\mu\text{g/mL}$, 而溴甲酚绿比色法测得的只是乌头碱类的碱性物质, 质量浓度分别为 293.824、447.767、343.804、38.382 $\mu\text{g/mL}$; 前者的质量浓度比后者的大得多, 但均符合姜附汤>四逆汤>单一附子汤>参附注射液的质量浓度趋势。**结论** 等量附子不同组方的中药制剂中碱性物质的质量浓度不同, 吸波面积法测得的整体碱性物质质量浓度比溴甲酚绿比色法测得的乌头碱类碱性物质质量浓度更全面, 对附子中药制剂的配伍机制、量效关系和安全性研究将提供更科学的理论基础。

关键词: 附子; 单一附子汤; 姜附汤; 四逆汤; 参附注射液; 吸波面积; 溴甲酚绿比色法; 中药制剂; 碱性物质; 配伍机制; 量效关系; 安全性

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)24-4364-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.012

Comparative studies of contents of alkaline substances from different prescription of formulations of Chinese material medica with same dose of aconite

YANG Lin, FAN Zhe-xian, LI Xiao-dong

College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China

Abstract: **Objective** To compare with the contents of alkaline substances from four different prescription of formulations of traditional Chinese medicine (single aconite decoction, Jiangfu Decoction, Sini Decoction, and Shenfu Injection) with the same dose of aconite. **Methods** Taken aconitine as the standard substance, the area under absorbance-wavelength curve (AUAWC) and absorption values of alkaline substances from four formulations, namely single aconite decoction, Jiangfu Decoction, Sini Decoction and Shenfu Injection (every concentration of aconite crude herb for 0.2 g/mL as the same dose), were obtained, respectively, which were determined by the method of AUAWC after the scanning for the wavelength from 200~600 nm and the method of bromocresol green colorimetric at 415 nm, and the data calculated were compared. **Results** The results are accurate and reliable, and the methods of both AUAWC and bromocresol green colorimetric are feasible. The linear equations were $Y=0.145\ 42\ X+3.240\ 4$, $r=0.999\ 3$ for the AUAWC and $Y=0.008\ 63\ X+0.006\ 57$, $r=0.999\ 5$ for the bromocresol green colorimetric, respectively. The contents of alkaline substances from single aconite decoction, Jiangfu Decoction, Sini Decoction and Shenfu Injection were acquired through the method of AUAWC, which were 1 137.992, 2 907.120, 2 455.611, and 298.208 $\mu\text{g/mL}$, respectively, and the contents of aconitum alkaline substances were obtained by bromocresol green colorimetric with the concentration of 293.824, 447.767, 343.804

收稿日期: 2016-08-10

基金项目: 福建省科技厅引导性项目 (2017Y01010229)

作者简介: 杨霖 (1990—), 男, 在读硕士, 研究方向为中药制剂及质量控制。Tel: 15205030446 E-mail: gmyonglin757@163.com

*通信作者 李孝栋, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药物质基础、药物制剂及其药代动力学研究。

Tel: (0591)22861135 Fax: (0591)22861322 E-mail: lxdctm@163.com

and 38.382 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The content determined by the former method was much larger than that of the latter method, but the trend of the contents from two methods was the same, which was Jiangfu Decoction > Sini Decoction > single aconite decoction > Shenfu Injection. **Conclusion** The contents of alkaline substances from different prescription of formulations of traditional Chinese medicine with the same dose of aconite are different, and the concentration of overall alkaline substances from AUAWC is more comprehensive than that of aconitum alkaline substances determined by bromocresol green colorimetric, which will provide more scientific theory interpretation for compatibility mechanism and dose-effect relationship as well as security research of Chinese medicine preparation of aconite.

Key words: aconite; single aconite decoction; Jiangfu Decoction; Sini Decoction; Shenfu Injection; AUAWC; bromocresol green colorimetry; Chinese material medica preparation; alkaline substances; compatibility mechanism; dose-effect relationship; safety

附子 *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* 为毛茛科乌头属植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根的加工品, 具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛等功效^[1]。干姜与附子配伍组成姜附汤, 二者是温通心阳的常用药对, 主治肾阳虚而烦躁、脉沉细等症, 临床上用于急救回阳^[2-4]。四逆汤由附子、干姜、炙甘草 3 味药材组成, 其功效为回阳救逆, 主治少阳病^[5-6]。参附注射液由人参、附子提取物组成, 具回阳救逆、益气固脱之功, 主要用于阳气暴脱、四肢厥逆、心力衰竭等症^[7-9]。

研究表明附子中的乌头碱、新乌头碱、次乌头碱等双酯型生物碱是主要药效成分, 同时也是毒性成分^[10-12], 但目前对附子配伍研究中, 多从其毒性角度进行研究, 未能充分阐明其配伍机制^[13-14]。等量附子获得的单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液 4 种制剂由于组方不同, 可能引起附子中碱性物质的质量浓度发生变化, 起到整体减毒增效和适用于不同适应症的作用。

吸波面积法是药物经紫外-可见吸收光谱全波长扫描后, 通过获得的吸光度 (A) 与波长曲线下的面积 (简称吸波面积) 求算整体药物浓度/质量浓度的一种分析方法, 前期研究表明^[15-21]吸波面积和中药复方中整体成分的总浓度呈正比。本实验拟采用吸波面积法和传统的溴甲酚绿比色法分别测定等量附子不同组方的 4 种制剂中碱性物质的质量浓度, 通过比较分析, 以期对含附子药对的配伍机制、量效关系和临床安全性研究提供有益的理论指导。

1 仪器与材料

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; AR-2140 十万分之一电子天平, 梅特勒-托利多仪器上海有限公司; VXH-3 型微型旋涡混合器, 上海跃进医疗器械厂; TDL-4 低速台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; HH-2 型数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司。

单一附子汤、姜附汤、四逆汤均由福建中医药大学中药制剂实验室自制; 黑附片、干姜和炙甘草均购自安徽协和成药业饮片有限公司, 并由福建中医药大学中药鉴定教研室杨成梓教授鉴定, 分别为毛茛科乌头属植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根的加工品、姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rose. 的干燥根茎、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎炮制加工品; 参附注射液, 雅安三九药业有限公司, 产品批号 150909010; 乌头碱对照品, 批号 110720-200410, 质量分数 $\geq 98\%$, 中国食品药品检定研究院; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 单一附子汤样品的制备 精密称取黑附片 90 g, 置烧杯中, 加 15 倍量蒸馏水, 浸泡 30 min, 煎煮 2 次 (第 1 次 2.0 h, 第 2 次 1.5 h), 滤过合并滤液, 水浴浓缩至 450 mL (相当于附子生药 0.2 g/mL), 加入 0.9 mL 的聚山梨酯-80, 即得单一附子汤样品溶液。

2.1.2 姜附汤样品的制备 精密称取黑附片 90 g、干姜 60 g, 置烧杯中, 按“2.1.1”项同法操作, 得姜附汤样品溶液。

2.1.3 四逆汤样品的制备 按照《中国药典》2015 年版一部中四逆汤的处方, 精密称取黑附片 90 g, 干姜 60 g, 炙甘草 90 g, 置烧杯中, 按“2.1.1”项同法操作, 得四逆汤样品溶液。

2.2 吸波面积法

2.2.1 对照品溶液的制备 称取乌头碱对照品 5.00 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加三氯甲烷溶解, 定容, 即得质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 分别精密移取单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液各 1 mL, 用 10% 氨水调 pH 值至 10~11, 静置, 加 4 mL 三氯甲烷,

涡旋 2 min, 3 800 r/min 离心 10 min, 取三氯甲烷层, 即得上述 4 种制剂的供试品溶液 (相当于附子生药 0.05 g/mL)。另精密移取 0.2% 聚山梨酯-80 水溶液 1 mL, 同法操作, 即为空白参比溶液。

2.2.3 检测条件的选择 取供试品溶液与对照品溶液, 在紫外 200~600 nm 波长下进行全波长扫描, 结果见图 1。

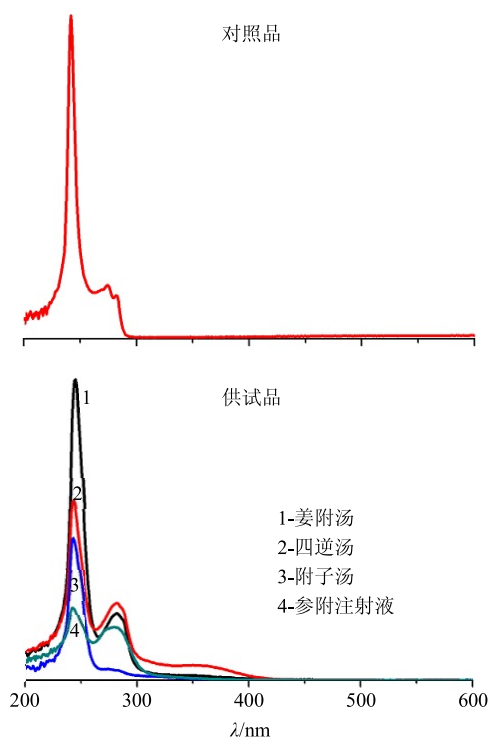


图1 吸波面积法对照品与供试品紫外全波长扫描图

Fig. 1 Scanning profile on ultraviolet full wavelength for reference and test samples

2.2.4 标准曲线的制备 精密移取乌头碱对照品溶液 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、5.0 mL 于 5 mL 的量瓶中, 加三氯甲烷定容至刻度, 即得质量浓度分别为 10、20、40、60、80、120、200 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液, 以三氯甲烷作空白对照, 在 200~600 nm 波长下进行紫外扫描, 通过 Origin 8.0 软件求算 200~600 nm 波长下的吸波面积。以吸波面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 建立乌头碱的吸波面积法线性方程 $Y=0.145\ 42\ X+3.240\ 4$, $r=0.999\ 3$, 结果表明, 乌头碱在 10~200 $\mu\text{g/mL}$ 吸波面积和质量浓度呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取 80 $\mu\text{g/mL}$ 的乌头碱对照品溶液, 在 200~600 nm 波长下连续测定 6 次, RSD 为 1.05%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取单一附子汤、姜附汤、四逆

汤和参附注射液样品, 按“2.2.2”项下操作, 分别制得 6 份, 于 200~600 nm 波长下进行紫外扫描, RSD 分别为 5.02%、2.82%、2.73%、0.60%, 表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 分别取单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液样品制得的供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10 h 进行紫外扫描, RSD 分别为 4.20%、4.08%、4.59%、2.14%, 表明各供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液样品溶液, 分别加入乌头碱对照品 187、374、374、120 μg , 混匀, 按“2.2.2”项下操作, 各制得 6 份, 在 200~600 nm 波长下扫描, 计算加样回收率和 RSD 值, 结果平均加样回收率分别为 105.14%、106.07%、107.37%、98.75%, RSD 分别为 3.78%、3.20%、5.03%、2.07%。

2.3 溴甲酚绿比色法

2.3.1 对照品溶液的制备 称取乌头碱对照品 2.56 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 0.01 mol/L 盐酸溶液溶解, 稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 102.40 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 分别移取单一附子汤、姜附汤、四逆汤样品溶液各 1.0 mL, 置于 3 个离心管中, 加 10% 氨水调 pH 值至 10~11, 三氯甲烷 (每次 3 mL) 涡旋提取 4 次, 静置, 取三氯甲烷层, 合并。回收三氯甲烷, 残渣加 0.01 mol/L 盐酸溶液适量, 溶解, 转入 10 mL 量瓶中, 0.01 mol/L 盐酸定容, 即得上述 3 种供试品溶液 (相当于附子生药 0.02 g/mL)。

精密移取参附注射液 10 mL 置于离心管中, 加 10% 氨水调 pH 值至 10~11, 三氯甲烷涡旋提取 4 次 (每次 10 mL), 合并三氯甲烷液, 回收溶剂, 残渣加 0.01 mol/L 盐酸溶液适量, 溶解, 转入 10 mL 量瓶中, 0.01 mol/L 盐酸溶液定容, 得参附注射液供试品溶液。另精密移取 0.2% 聚山梨酯-80 水溶液, 同法操作, 即为空白参比溶液。

2.3.3 检测条件的选择 取在碱性条件下与溴甲酚绿发生显色反应后的对照品溶液、供试品溶液, 在紫外 200~600 nm 下进行全波长扫描, 确定 415 nm 为检测波长, 结果见图 2。

2.3.4 标准曲线的制备 精密移取 0.00、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50、1.75 mL 对照品溶液, 置离心管中, 分别加入 0.01 mol/L 盐酸溶液 2.00、1.50、1.25、

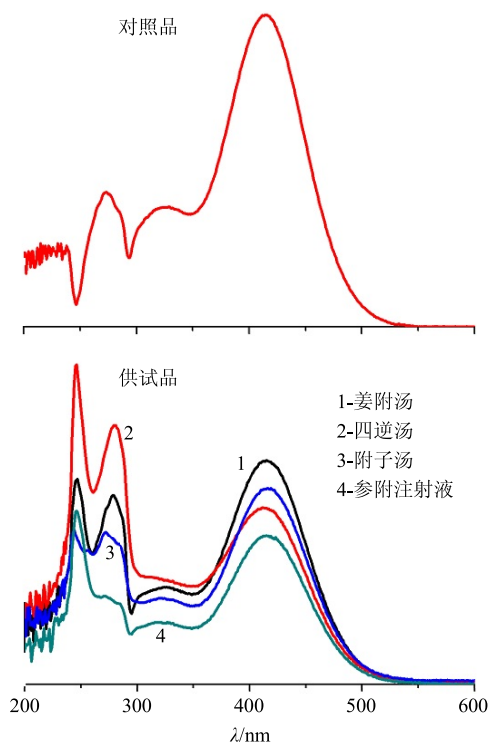


图2 溴甲酚绿比色法对照品与供试品紫外全波长扫描图
Fig. 2 Scanning profile on ultraviolet full wavelength for reference and test samples

1.00、0.75、0.50、0.25 mL, 再依次加醋酸-醋酸钠缓冲液 10 mL, 溴甲酚绿液 2 mL, 三氯甲烷 10 mL, 涡旋 3 min, 静置, 分取三氯甲烷液, 在紫外下 415 nm 波长处测定 A 值。以 A 值为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 建立溴甲酚绿比色法线性方程 $Y=0.008\ 63\ X+0.006\ 57$, $r=0.999\ 5$, 结果表明, 乌头碱在 25.6~89.6 $\mu\text{g/mL}$ 时 A 值和质量浓度呈良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验 取 51.2 $\mu\text{g/mL}$ 乌头碱对照品溶液, 按“2.3.4”项下方法, 连续测定 6 次, RSD 为 0.12%, 表明仪器精密度良好。

2.3.6 重复性试验 取单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液样品溶液, 按“2.3.2”项和“2.3.4”项下方法操作, 分别制得 6 份, 在紫外下 415 nm 波长处测定, RSD 分别为 3.70%、1.49%、1.48%、1.76%, 表明该方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 取单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液样品制得的供试品溶液, 按“2.3.4”项下方法操作, 分别在 0、20、40、60、80、100 min 进行测定, RSD 分别为 2.80%、1.78%、1.45%、1.89%, 表明供试品溶液在 100 min 内稳定性良好。

2.3.8 加样回收率试验 取单一附子汤、姜附汤、

四逆汤和参附注射液样品溶液, 分别加入乌头碱对照品 30.72、40.96、40.96、38.40 μg , 混匀, 按“2.3.2”项和“2.3.4”项下方法操作, 各制得 6 份, 在紫外下 415 nm 波长处测定, 计算加样回收率和 RSD 值, 结果平均加样回收率分别为 102.98%、116.72%、96.64%、112.61%, RSD 分别为 5.49%、1.81%、2.87%、4.51%。

2.4 样品定量测定

分别取 3 批样品, 采用上述 2 种方法测定等量附子不同组方的 4 种中药制剂中碱性物质的质量浓度, 结果见表 1。等量附子不同组方 (单一附子汤、姜附汤、四逆汤和参附注射液) 采用吸波面积法测得碱性物质质量浓度分别为 1 278.35、2 907.12、2 455.61、2 98.21 $\mu\text{g/mL}$; 而比色法测得的碱性物质质量浓度分别为 293.82、447.77、343.80、38.38 $\mu\text{g/mL}$; 前者方法测得碱性物质的质量浓度均为后者方法测得的 5 倍数值以上, 但其大小均符合姜附汤>四逆汤>单一附子汤>参附注射液的趋势。

表 1 样品定量测定结果

Table 1 Results of sample content

样品	质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	
	吸波面积法	比色法
单一附子汤	1 196.48	289.19
	1 365.60	291.51
	1 272.96	300.78
姜附汤	2 903.71	455.54
	2 933.09	449.91
	2 884.56	437.86
四逆汤	2 429.17	337.86
	2 428.83	344.46
	2 508.83	349.10
参附注射液	296.48	36.57
	293.51	40.28
	304.63	38.31

3 讨论

由 2 种方法测得 4 种制剂中碱性物质质量浓度的结果可得, 附子与干姜配伍后碱性物质的质量浓度增加, 与中医“附子无姜不热”的说法相一致; 佐以益气补中的甘草, 碱性物质有所减少, 体现了“遇甘草则缓”; 附子与人参配伍, 碱性物质减少, 又含有皂苷成分, 体现了“附子得人参则回阳而无燥热伤阴之弊, 人参得附子则补气而兼温里之功”。

单一附子汤、姜附汤、四逆汤煎煮方法和组方的确定主要参照《中国药典》2015年版一部中四逆汤的煎煮方法及处方。

由于市售的参附注射液处方中含有0.2%聚山梨酯-80,且规定每毫升的注射液中含0.2 g附子生药,考虑到同一性原则,故将单一附子汤、姜附汤、四逆汤浓缩至含附子生药0.2 g/mL,且加入0.2%的聚山梨酯-80。

在供试品溶液制备中采用涡旋而非萃取方法,前期课题组实验^[22]得出,涡旋能使溶剂与溶质混合更充分,有利于碱性物质的提取。在吸波面积法中,单一附子汤、姜附汤、四逆汤3个供试品溶液在进行紫外扫描时,其在241 nm处的 A 值均大于10,故将其稀释16倍后进行测定。另前期实验只取1 mL的参附注射液进行测定,发现在415 nm处 A 值很低(约0.03),故采用10 mL进行测定,这可能是加样回收率试验中,其生物碱量比单一附子汤和四逆汤中的量要大的原因。

吸收光谱体现了所有紫外可见波长内有吸收的所有成分的总和,在碱性条件下,经有机溶剂萃取得到的为碱性部分^[23],故显色前所得曲线(图1)与乌头碱对照品较为类似,但又稍有些不同。另酸性染料溴甲酚绿只与碱性条件下生成季铵阳离子的碱性物质发生反应^[24-26],生成的络合物 $[R_4N^+ + In^- = (R_4N^+ \cdot In^-)]$ 与显色后的乌头碱对照品比较,供试品同样在415 nm处有最大吸收,但在200~300 nm处仍有较多吸收峰,而对照品则没有,这正是碱性条件下不能生成季铵阳离子而未能与溴甲酚绿发生反应的其他碱性物质保留下来的特征,比如可能存在稠环氮杂缩醛体系的碱性物质,其在碱性条件下可被三氯甲烷萃取出,但不能生成季铵阳离子碱性物质。因此,所得的曲线能够代替制剂中的整体碱性物质,所选择的溴甲酚绿比色法可用于测定制剂中所含的乌头碱类生物碱^[27-29],其结果科学可行,选择性良好。

综上所述,针对现有乌头或附子类制剂的标准中多采用比色法进行生物碱限量测定可能不够完整,如果增加吸波面积法对制剂中整体碱性物质的定量测定,将对现有标准具有良好的补充作用。

参考文献

[1] 中国药典[S].一部.2015.

[2] 康宜兵.干姜附子汤的临床应用[J].内蒙古中医药,2015,34(5):88-89.

- [3] 史琴,彭芳,赵云华,等.干姜附子汤对大鼠缺血-再灌注心肌细胞损伤的实验研究[J].贵阳中医学院学报,2014,36(5):5-8.
- [4] 王嫣,彭芳,陈天琪.干姜附子汤温通心阳作用的实验研究[J].贵州科学,2010,28(3):90-92.
- [5] 刘平,葛迎春,马天舒.四逆汤类方药理研究进展[J].辽宁中医杂志,2007,34(2):248-251.
- [6] 王晓林.中药方剂“四逆汤”分析[J].中国医药导报,2010,7(16):104-105.
- [7] 李正光.参附注射液治疗老年多器官功能不全综合征的研究[D].济南:山东大学,2014.
- [8] 杜婷,孙荣进,田华,等.参附注射液的药效学及作用机制研究进展[J].中国药师,2013,16(11):1732-1734.
- [9] 徐鹏.参附注射液对脓毒症大鼠肺损伤的保护作用[D].杭州:浙江中医药大学,2016.
- [10] 王彬辉,冯健,赵燕敏,等.附子中乌头类生物碱在大鼠体内的药动学研究[J].中国药学杂志,2009,44(18):1412-1415.
- [11] 武洁,沈红,朱玲英,等.液-质联用法同时测定大鼠血浆中的乌头碱、新乌头碱、次乌头碱及其药动学[J].中国医院药学杂志,2011,31(14):1162-1166.
- [12] 陶长戈,李文军,彭成.附子总生物碱中乌头碱、新乌头碱、次乌头碱在大鼠体内的药动学研究[J].云南中医中药杂志,2011,32(3):49-52.
- [13] 陈长勋,徐珊珊.甘草、干姜与附子配伍减毒的物质基础与作用环节研究进展[J].中药新药与临床药理,2006,17(6):472-476.
- [14] 张丽,李锦,王玉明,等.HPLC法测定附子配伍前后乌头类生物碱含量[J].天津中医药大学学报,2010,29(4):206-209.
- [15] 李孝栋,李素云,张丽红,等.吸光度-波长曲线下面积和药物浓度的线性关系及其在中药药动学中的应用[J].福建中医药大学学报,2012,22(6):26-31.
- [16] 张丽红,肖晓金,杨真真,等.吸波面积法对养血注射液在大鼠体内药代动力学研究[J].中医临床研究,2013,5(22):9-11.
- [17] 张丽红,李素云,肖晓金,等.阿魏酸钠和盐酸川芎嗪组成的组分中药大鼠体内药代动力学研究[A]//2012年上海市研究生学术论坛[C].上海:上海中医药大学,2012.
- [18] Zhang L, Xiao X, Yang Z, et al. A new method of area under the absorbance-wavelength curve for rats total metabolomic pharmacokinetics from Yangxue Injection with multicomponents[J]. *J Spectroscopy*, 2013, 2013(4): 4142-4146.
- [19] 赖宏强,胡悦,李孝栋.基于吸波面积法对川芎组分片整体成分溶出度的考察及其体内外相关性的研究

- [J]. 药学报, 2015, 50(6): 788-792.
- [20] 赖宏强, 胡悦, 李孝栋. 吸波面积法与 HPLC 法同步测定川芎组分制剂大鼠体内绝对生物利用度 [J]. 中草药, 2015, 46(16): 2421-2427.
- [21] 胡悦, 赖宏强, 范哲贤. 白花蛇舌草组分胶囊两种方法对大鼠体内药代动力学 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 42-46.
- [22] 杨真真, 姜梦丽, 张丽红, 等. 酸性染料涡旋比色法测定大鼠口服麻黄汤后血浆总生物碱 [J]. 中草药, 2015, 46(2): 231-235.
- [23] 匡海学. 中药化学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2011.
- [24] 张剑, 刘冰晶, 李超, 等. 紫外分光光度法测定乌药中总生物碱含量 [J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 266-267.
- [25] 周学良. 精细化工产品手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [26] 孙小玲, 何凡. 酸性染料比色法测定甘草附子药对中总生物碱的含量 [J]. 中国药师, 2013, 16(7): 1006-1007.
- [27] 叶强, 郭一平, 彭成, 等. 附子无姜不热的成分研究 [J]. 中成药, 2013, 35(5): 1035-1039.
- [28] 赵祥升, 侯大斌, 许源, 等. 附子离体苗中生物碱的测定 [J]. 中草药, 2009, 40(S1): 265-267.
- [29] 朱国雪, 张超, 肖志伟, 等. 四逆汤煮散工艺研究 [J]. 中草药, 2015, 46(10): 1470-1476.