

截留相对分子质量 $\leq 1\ 000$ 半夏白术天麻汤4种提取液对原发性高血压大鼠血清中单胺类递质的影响

王淑玲¹, 徐 男², 孙云廷³, 孙剑锋¹, 周晓晓¹, 谢 恬^{1*}

1. 杭州师范大学 医学院, 浙江 杭州 310012

2. 山东中医药研究院 国家中医药管理局中药分析重点学科, 山东 济南 250014

3. 杭州市中医院 (浙江中医药大学附属广兴医院), 浙江 杭州 310012

摘要:目的 比较半夏白术天麻汤不同提取方法对大鼠血清中单胺类递质水平的影响。方法 原发性痰湿壅盛型高血压大鼠, 随机分为模型组、半仿生-酶法提取液(SBEE)组、水提液(SBE)组、醇提液(WE)组、半仿生提取液(AE)组, 4种提取液均过中空纤维膜截留相对分子质量 $\leq 1\ 000$ 。模型组饮用去离子水, 不限量; SBEE组、SBE组、WE组、AE组分别ig相应提取液, 每天1 mL(2.83 g/mL); 正常血压大鼠8只作为对照组。喂养4周后, 采用高效液相色谱-电化学(HPLC-ECD)法测定血清中单胺递质去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)水平。结果 4种提取液均可降低高血压大鼠NE和5-HT水平, 与模型组比较差异显著($P < 0.01$), 对NE影响顺序是: SBEE>SBE>AE>WE, 对5-HT影响顺序是: SBEE>SBE>WE>AE。结论 半夏白术天麻汤4种方法提取均可降低高血压大鼠单胺递质水平, 且加入酶解过程的SBEE提取方法效果最好。

关键词: 半夏白术天麻汤; 单胺类递质; 去甲肾上腺素; 5-羟色胺; 高效液相色谱-电化学法

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2016)05-0772-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.05.013

Effect of four extracting solutions in Banxia Baizhu Tianma Decoction with relative molecular mass $\leq 1\ 000$ on monoamines neurotransmitters in serum of rats with primary hypertension

WANG Shu-ling¹, XU Nan², SUN Yun-ting³, SUN Jian-feng¹, ZHOU Xiao-xiao¹, XIE Tian¹

1. Medicine College of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310012, China

2. Key disciplines on Analysis of Traditional Chinese Medicine, Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China

3. Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine (Guangxing Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University), Hangzhou 310012, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of four extracting solutions in Banxia Baizhu Tianma Decoction (BBTD) with relative molecular mass $\leq 1\ 000$ on levels of monoamine neurotransmitters in rat plasma. **Method** Primary phlegm dampness type hypertensive rats were randomly divided into model group, SBEE group, SBE group, WE group, and AE group, respectively, by ig administration of corresponding semi-bionic enzymatic extract, water extract, alcohol extract, and semi-bionic extraction liquid, 1 mL (2.83 g/mL) daily. Rats with normal blood pressure were used as control group. After four weeks, the norepinephrine (NE) and 5-serotonin (5-HT) content of serum were determined by HPLC method. **Results** Compared with model group, totally four extracting solutions of BBTD could reduce NE and 5-HT levels significantly in hypertension rats ($P < 0.01$), order of the effect was SBEE > SBE > AE > WE and SBEE > SBE > WE > AE, respectively. **Conclusion** Totally four extracting solutions of BBD can reduce monoamine transmitters in hypertension rats and SBEE extraction is better.

Key words: BanxiaBaizhu Tianma Decoction; monoamines neurotransmitters; norepinephrine; 5-serotonin; HPLC-ECD

收稿日期: 2016-05-16

基金项目: 浙江省自然科学基金 (No. LY16H270018); 国家科技部国际合作项目 (2007DFA31180)

作者简介: 王淑玲, 博士, 研究方向为中药新制剂与中药复方研究。Tel: 0571-28868269 E-mail: wsling222@163.com

*通信作者 谢 恬, Tel: 0571-28868269 E-mail: xbs@dljg.sina.net

高血压病在中医学中属于“眩晕”范畴^[1]。按中医辨证分型,高血压分为肝火亢盛、肝肾阴虚、痰湿壅盛、瘀血阻络四型,痰湿壅盛是高血压重要证型之一。现代研究表明,高脂血症与中医痰浊密切相关,痰浊是高血压病的重要病机之一。痰证与血液流变学、氧自由基、糖代谢、能量代谢酶等皆密切相关^[2]。半夏白术天麻汤来源于《医学心悟》,由半夏、天麻、茯苓、橘红、白术、甘草组成,是在“化痰祖方”二陈汤(半夏、橘红、茯苓、甘草)的基础上加天麻、白术而成,具有燥湿化痰,平肝息风的功效,临床主要用于治疗高血压病痰湿壅盛证^[3-5]。

单胺类神经递质及其代谢产物主要有肾上腺素(E)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)和5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)等,其中结构为儿茶酚胺类的有E、NE、DA等,结构为吲哚胺的有5-HT、5-HIAA。NE是重要的单胺类神经递质,可以直接作用于心血管系统,也可通过影响其他递质的释放,如与血管紧张素II(Ang II)相互影响,使血管收缩、血容量增加、引起血压升高^[6]。已知交感神经异常兴奋参与高血压的发病机制,而5-HT升高是交感神经兴奋的始动因素之一。当交感神经兴奋时,儿茶酚胺分泌增加可使血小板激活,释放5-HT又起到传播继发性聚集和加强释放反应的作用,以构成自身维持及不断升高的恶性循环。外周5-HT主要储存在血小板中,于血小板激活时释放出来使血浆浓度升高。因此准确测定血浆中NE和5-HT的浓度变化对于高血压等相关疾病的诊断和转归变化有重要意义^[7]。

基于“化学等值不一定生物等效,重在机体药效学反应”的原则,本实验在一定规格中空纤维膜截留相对分子质量 $\leq 1\,000$ 提取液作为最终产物,优选出半仿生-酶(SBEE)法提取工艺条件的基础上,采用痰湿壅盛型高血压大鼠模型,观察SBEE、半仿生提取(SBE)、醇提(AE)和水提(WE)4种方法的半夏白术天麻汤相对分子质量 ≤ 1000 提取液对模型大鼠单胺类神经递质及其代谢产物的影响,探讨半夏白术天麻汤用半仿生-酶(SBEE)法进行提取超滤膜截留相对分子质量 ≤ 1000 提取物的科学性和合理性。

1 材料

1.1 主要仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(二元泵、自动进样器、柱温箱、电子俘获(ECD)检测器,美国安

捷伦科技有限公司);BP-6型动物无创血压测试仪(成都泰盟科技有限公司);DDL-5低速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);Beckman CX7全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司);Cobase 411全自动化学发光分析仪(电化学发光免疫检测仪器,美国罗氏诊断有限公司);LXJ-②型离心沉淀机(上海第三分析仪器厂);BL-420E+型生物机能实验系统(四川成都泰盟电子公司);KL-A型双河颗粒饲料机(余杭双河机械厂);全自动血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);血清超滤器(上海德宏生物医学科技发展有限公司);ACS-6型电子秤(山东济南风华电子衡器有限公司);游标卡尺(中国宁波量具一厂);定量取液器(上海金林生化试剂仪器厂);环形塑料管(泰州市科华电器有限公司)。

1.2 药材

本实验所用中药材,均购置于山东省中医院药房。经张兆旺教授鉴定:半夏为天南星科植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.的干燥块茎;天麻为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl.的干燥块茎;茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核;橘红为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥外层果皮;白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz.的干燥根茎;甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的根及根茎。

1.3 动物

普通级雄性Wistar大鼠,体质量180~200 g,由山东中医药大学实验动物中心提供,生产许可证号SCXR(鲁)2011-0003。血压正常,分笼喂养,自由摄食饮水,每日早晚喂食,隔日换水。明暗时间间隔12 h,室温控制在25℃,湿度50%左右。

1.4 主要试剂

NE、5-HT对照品(SIGMA.A.R级)、乙酸钠、柠檬酸、正二丁胺、辛烷基磺酸钠、乙二胺四乙酸,美国AMRESCO公司;高效液相用甲醇、乙腈为色谱纯,天津市康科德科技有限公司;水为自制高纯水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 半夏白术天麻汤提取液的制备

SBEE液的制备^[8]:将处方中药分别粉碎,按比例称取10~20目的粗粉,将方药粗粉先用适宜的纤维素酶(以饮片质量计)预处理24 h;提取3次,

提取用水量依次为粗粉质量的 10、8、8 倍量；第 1 和 3 煎加入适宜的消化酶；水的 pH 值依次为 2.0、6.5、9.0；提取时间依次为 90、60、60 min；提取温度为 $(61 \pm 1)^\circ\text{C}$ ；提取液依次粗滤，3 500 r/min 离心 25 min，中空纤维膜（相对分子质量 ≤ 1000 ）滤过、浓缩、合并，浓缩至 2.83 g/mL，即得。其中主要有效成分天麻素的质量分数为 0.1%、甘草次酸的质量分数为 5%。

SBE 液的制备^[8]：将处方中药分别粉碎，按比例称取 10~20 目的粗粉，分别提取 3 次，加水量依次为 10、8、8 倍，3 煎用水的 pH 值依次为 2.0、6.5、8.5；提取时间依次为 120、90、90 min。提取液依次粗滤，3 500 r/min 离心 25 min，中空纤维膜（相对分子质量 ≤ 1000 ）滤过，浓缩、合并，浓缩至 2.83 g/mL，即得。主要有效成分天麻素的质量分数为 0.13%、甘草次酸的质量分数为 2.3%。

WE 液的制备^[8]：将处方中药分别粉碎，按比例称取 10~20 目的粗粉，分别提取 3 次，加水量依次为 10、8、8 倍，提取时间依次为 120、90、90 min，提取液依次粗滤，3 500 r/min 离心 25 min，中空纤维膜（相对分子质量 ≤ 1000 ）滤过，浓缩、合并，浓缩至 2.83 g/mL，即得。主要有效成分天麻素的质量分数为 0.095%、甘草次酸的质量分数为 2.7%。

AE 液的制备^[8]：将处方中药分别粉碎，按比例称取 10~20 目之间的粗粉，80%乙醇提取 3 次，加醇量依次为 10、8、8 倍，提取时间依次为 1、0.5、0.5 h，提取液依次粗滤，3 500 r/min 离心 25 min，中空纤维膜（相对分子质量 ≤ 1000 ）滤过、浓缩、合并，浓缩至 2.83 g/mL，即得。主要有效成分天麻素的质量分数为 0.08%、甘草次酸的质量分数为 1.6%。

2.2 造模方法

对照组喂普通饲料，模型组喂高脂高盐饲料，饲料配方见表 1。持续喂养 16 周后测量体质量、尾动脉收缩压、舒张压。收缩压 ≥ 140 mmHg（1 mmHg=0.133 kPa）和/或舒张压 ≥ 90 mmHg，同时形体肥胖、体质量明显增加、纳呆嗜睡、懒动、不思饮水、大便不成形者为痰湿壅盛型高血压大鼠动物模型^[9-10]。

2.3 药物干预方法

将痰湿壅盛型模型高血压大鼠按照血压随机分为 5 组：模型组、SBEE 组、SBE 组、WE 组、AE 组，另设对照组（正常大鼠），每组 8 只。对照组饮去离子水，不限量，SBEE 组、SBE 组、WE 组、AE 组分别 ig 给予相应的提取液，每天 1 mL（2.83 g/mL）。

表 1 饲料配方

Table 1 Feed formula

饲料组分	基础饲料/%	高脂高盐饲料/%
标准粉	35	35
麸皮	14	14
大豆粉	20	20
玉米粉	24	24
鱼粉	5	5
酵母粉	1	1
鱼肝油	1	1
猪油	0	15
猪胆盐	0	1
蔗糖	0	0
胆固醇	0	0
食盐	0	6

按以上方法喂养 4 周，取尾静脉血，血液凝固后，3 000 r/min 离心 10 min，用吸管分离出血清，用于测定。

2.4 大鼠血清中单胺类递质的水平测定^[11-13]

2.4.1 色谱条件 Diamonsil TM（钻石）C₁₈ 色谱柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μm ，Agilent）；缓冲液：乙酸钠 100 mmol/L、柠檬酸 85 mmol/L、正二丁胺 0.4 mmol/L、辛烷基磺酸钠 1.5 mmol/L、乙二胺四乙酸（EDTA）0.2 mmol/L，调 pH 值为 3.7；流动相为甲醇-缓冲液（18:82），抽滤、脱气；体积流量 0.9 mL/min；进样量 20 μL ；柱温 18 $^\circ\text{C}$ ；工作电压 0.4 mV、量程 1 μA 。

2.4.2 对照液及供试液的制备 分别精密称取 NE、5-HT 适量，用流动相溶解并稀释成 300 $\mu\text{g/mL}$ 的标准对照品液。

分别精密移取血清 200 μL 置于 1.5 mL EP 管内，再加入等体积的 5%高氯酸溶液，加盖后摇匀，室温放置 20 min 以充分沉淀血清中的蛋白质，10 000 r/min 离心 15 min，取上清液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得供试液。

2.4.3 系统适用性试验 以 5-HT 峰计，理论塔板数不得少于 900、以 NE 峰计，理论塔板数不得少于 2 000；5-HT、NE 色谱峰与相邻色谱峰分离度均大于 1.5；灵敏度试验结果信噪比均大于 10；拖尾因子 T 值在 0.95~1.05，符合药典要求。

2.4.4 专属性考察 取“2.4.2”项对照液和供试液上样，进行专属性考察试验，结果见图 1。大鼠血清样品中 5-HT、NE 分离度良好。

2.4.5 线性关系考察 取“2.4.2”项下对照液，分别稀释成 NE：0.03、0.30、0.60、1.50、3.00 $\mu\text{g/mL}$ ，

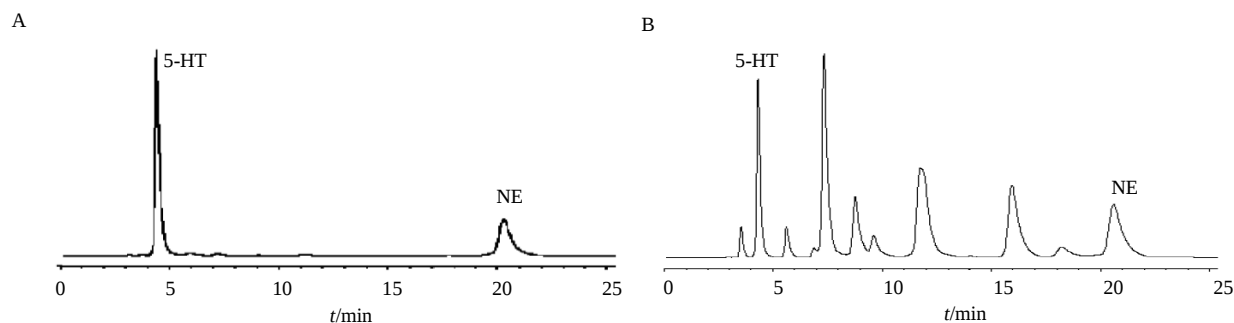


图1 对照溶液(A)和大鼠血清样品(B) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of standard substance (A) and rat serum samples (B)

5-HT: 0.03、0.15、0.60、1.50、3.00 $\mu\text{g/mL}$ 。按“2.4.1”项下色谱条件测定,以对照品溶液的质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。NE 回归方程为: $Y=2\,661.5 X+14.943$, $R=0.999\,8$, 在 0.03~3.00 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好;5-HT 回归方程为: $Y=3\,375.4 X+469.82$, $R=0.999\,5$, 在 0.03~3.00 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好;信噪比 $S/N=3$ 时,最低检测限为 0.008 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.6 精密度、稳定性试验 取“2.4.5”项下 NE (0.6 $\mu\text{g/mL}$)、5-HT (0.15 $\mu\text{g/mL}$) 溶液,按“2.4.1”项下色谱条件,分别于 0、1、2、4、6、8 h 各进样 1 次,每次 20 μL ,测定峰面积,代入“2.4.5”项回归方程,计算 NE 和 5-HT 质量浓度。结果表明,仪器精密度良好,NE 和 5-HT 的 RSD 分别为 2.47%、1.34%,且 NE 和 5-HT 对照品至少在 8 h 内稳定性良好。

2.4.7 重复性试验 按“2.4.2”项下供试液的制备方法平行制备 5 次,按“2.4.1”项下色谱条件,测定 NE、5-HT 峰面积,代入“2.4.5”项回归方程,计算 NE 和 5-HT 的质量浓度。NE 和 5-HT 的 RSD 分别为 1.85%、1.58%,表明供试品溶液的制备方法重复性良好。

2.4.8 回收率试验

1) 相对回收率试验 将不同大鼠的血清混合,作为相对回收率试验用样品,进样测定 4 次,求出平均水平作为空白值。取同量血清,加入高、中、低不同量的 NE、5-HT 对照品进样测定,代入“2.4.5”项回归方程,计算质量浓度,每个浓度平行测定 5 份,求平均值。计算相对回收率,相对回收率=(测定量-空白值)/对照品加入量,结果见表 2。可见,各组分的相对回收率在 98%~102%,效果良好。

表2 相对回收试验结果

Table 2 Results of relative recovery test

组别	空白值/ng	对照品加入量/ng	测定量/ng	相对回收率/%	平均相对回收率/%	RSD/%
NE	40.20	30.00	71.01	101.15	100.80	1.02
	40.20	60.00	99.84	99.64		
	40.20	90.00	132.29	101.61		
5-HT	61.30	30.00	92.16	100.94	100.18	1.91
	61.30	60.00	118.89	98.01		
	61.30	90.00	153.72	101.60		

2) 绝对回收率试验 分别精密称取 NE、5-HT 对照品,其中一份加到空白血清样品中,按“2.4.2”项下方法制备成供试液,按“2.4.1”项下色谱条件测定,测得 A_1 值;另一份用流动相溶解并稀释成

300 $\mu\text{g/mL}$ 的标准液,进样测得 A_2 ,按照公式计算绝对回收率= A_1/A_2 ,计算得绝对回收率。设置高、中、低 3 个浓度,绝对回收率达 60%~80%,效果良好。结果见表 3。

表 3 绝对回收试验结果
Table 3 Results of absolute recovery test

组别	空白值/ng	对照品加入量/ng	A ₁	A ₂	绝对回收率/%	平均绝对回收率/%	RSD/%
NE	20.10	10.00	19.85	30	66.17	66.01	1.82
	20.10	20.00	26.93	40	67.32		
	20.10	40.00	38.73	60	64.55		
5-HT	15.30	10.00	18.22	25	72.87	72.83	1.32
	15.30	25.00	29.36	40	73.41		
	15.30	45.00	43.33	60	72.21		

2.4.9 血清中单胺类递质水平测定结果

将各组大鼠血清按“2.4.2”项下方法制备成供试液,按“2.4.1”项下色谱条件测定,NE、5-HT 测定结果按照关系式: $R_{1,2} = \bar{x}_0 / \bar{x}$ ($\bar{x}_0$ 为模型组大鼠

NE、5-HT 的平均值, $\bar{x}$ 为各组 NE 或 5-HT 的平均值) 进行处理。 $R = R_1 + R_2$, R 值作为评判值,大者为优。结果见表 4。SBEE 法综合评判指标 R 值最大,即半夏白术天麻汤提取方法以 SBEE 法效果较好。

表 4 治疗后各组大鼠血浆中单胺类递质测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Determination results of plasma monoamine neurotransmitters in rat serum after treatment ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	NE/(ng·mL ⁻¹)	R ₁	5-HT/(ng·mL ⁻¹)	R ₂	R
对照	32.15 ± 0.49	—	51.19 ± 0.43	—	—
模型	43.04 ± 0.66*	1.00	85.66 ± 1.02*	1.00	2.00
SBEE	35.31 ± 0.67*#	1.22	55.19 ± 0.76*#	1.55	2.77
SBE	36.16 ± 0.52*#△	1.19	60.02 ± 0.52*#△	1.43	2.62
WE	40.52 ± 0.58*#△	1.06	65.69 ± 0.59*#△	1.30	2.36
AE	38.91 ± 0.67*#△	1.11	68.13 ± 0.60*#△	1.26	2.37

与对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.01$; 与 SBEE 组比较: △ $P < 0.01$

* $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.01$ vs SBEE group

4 讨论

结果表明,半夏白术天麻汤可降低痰湿壅盛型高血压大鼠血浆中 NE 和 5-HT 的水平, R_1 值的大小次序为 SBEE 组 > SBE 组 > AE 组 > WE 组, R_2 值的大小次序为 SBEE 组 > SBE 组 > AE 组 > WE 组。SBE 法的提取温度沿袭水提法的 100 °C,虽然高温条件可以提高提取效率,但是,也可能会影响某些药效成分的活性,而且过多的粗提物给精制和浓缩带来不便。SBEE 法是在 SBE 法的基础上,将生物酶提取技术引入 SBE 法的理论体系,仍然坚持“有成分论,不惟成分论,重在机体药效学反应”的 SBE 法观点,是 SBE 法的进一步“仿生化”研究设计。它与单纯的酶提取法不同,不是针对某个特定成分选择合适的酶以提高其提取率,也不考虑该成分是否被酶解,酶对其他活性成分是否有影响,即不以分解或转化一个或多个成分来判断提取效果的

好坏,而是把一味中药或复方看成一个整体,以单体成分、活性混合物,指纹图谱和药效学等多指标综合判断。

本实验采用高效液相色谱-电化学(HPLC-ECD)法测定单胺类递质,灵敏度高,无需衍生化,操作过程简单、快速,且大鼠血清中单胺类递质水平较低,电化学检测器的检测限要比一般的紫外以及荧光检测器低,是一种灵敏度很高的检测器,可达到皮克级水平。可广泛应用于大鼠血清及组织中单胺类神经递质的研究,也可用于临床中检测人血清中单胺类神经递质的研究。

供试血样和对照液的储存:要储藏于一 20 °C 的冰箱中,以防止其分解。尤其是 5-HT 在血清中水平很低,对光、氧、酸碱环境很敏感^[14],极易分解。因此样品的处理就显得格外重要。

经对 380 余种常用中药中已知活性成分进行统

计,绝大多数相对分子质量 $\leq 1\,000$,这也与“中药活性成分分子量表”对245种成分的统计结果相符合^[15]。多数蛋白质、淀粉、多糖、树脂等大分子的物质没有药理活性,即使对有效成分一无所知的中药,也可以相对分子质量 $\leq 1\,000$ 的提取物为指标,选择提取工艺和控制其质量。以相对分子质量 $\leq 1\,000$ 提取物为最终产物,较通常以粗提物为最终产物,不仅能体现中药整体、综合、客观、模糊的特点,而且可降低提取物量,缩小服用量,也为选用现代药物新剂型提供了可能。对单体成分未知的中药及其复方,用相对分子质量 $\leq 1\,000$ 的提取物量为指标,选择提取工艺和控制质量,对中药现代化研究很有借鉴意义^[16-17]。

参考文献

- [1] 王永炎,严世芸.实用中医内科学[M].上海:上海科学技术出版社,2009:427.
- [2] 李运伦.高血压病与痰证[J].山东中医药大学学报,2000,24(6):412-414.
- [3] 熊兴江,王阶.论半夏白术天麻汤在高血压病中的运用[J].中华中医药杂志,2012,27(11):2862-2867.
- [4] 陈新宇,尹玲珑,刘紫轩,等.半夏白术天麻汤治疗原发性高血压临床疗效 Meta 分析[J].辽宁中医杂志,2014,41(2):196-199.
- [5] 朱梅,鞠建庆,李运伦.半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型原发性高血压随机对照试验系统评价[J].山东中医药大学学报,2014,38(2):105-108.
- [6] 王丽,支建梅,王朝阳,等.捻转补泻手法对应激性高血压大鼠 ET、NE 和 5-HT 的影响[J].北京中医药大学学报,2014,37(10):681-684.
- [7] 崔翰明,白鸽,黄世敬,等.高效液相-电化学法测定大鼠血浆中单胺类神经递质及其代谢产物[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(1):53-56.
- [8] 徐男.半夏白术天麻汤方药4种方法制备 ≤ 1000 Da 提取液的工艺及主要药效的研究[D].济南:山东中医药大学,2012.
- [9] 杨冬花.半夏白术天麻汤治疗原发性高血压痰湿壅盛型及对血脂素影响的临床及实验研究[D].贵州:贵阳中医学院,2001.
- [10] 吕志杰,王鑫国,王玉玲.百灵丹对高脂血症大鼠血脂作用的研究[J].河北中医,2000,22(12):953-954.
- [11] 苏晖,江开达,徐一峰.5-羟色胺与去甲肾上腺素再摄取抑制药是焦虑障碍的一线治疗药物[J].中国新药与临床杂志,2010,29(4):264-269.
- [12] 刘建芳,侯艳宁,吴红海,等.HPLC-电化学检测法测定大鼠脑内的去甲肾上腺素和5-羟吲哚乙酸[J].解放军药学报,2002,18(3):143-145.
- [13] 谭炳炎,郑琳,冯翔.高效液相色谱/电化学法测定大鼠血液和脑组织中单胺类物质的水平[J].分析测试学报,2006,25(2):90-92.
- [14] 王强,唐爱国.5-羟色胺的检测及临床意义[J].国外学临床生物化学与检验学分册,2004,25(2):151.
- [15] 曾建红,彭正松,宋经文,等.半夏总生物碱水平动态变化[J].中药材,2004,27(7):471-474.
- [16] 徐男,时海燕.论半仿生提取法内涵[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(12):38-40.
- [17] 王淑玲,孙秀梅,张兆旺,等.半夏白术天麻汤4种方法提取液指纹图谱比较[J].杭州师范大学学报:自然科学版,2010,9(2):127-129.