

• 药理与临床 •

灵芝双向发酵雷公藤的解毒持效作用

谢小梅^{1*}, 贺 婧², 罗闵丹¹, 苏明声¹, 张普照¹, 庄 毅¹

(1. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室菌物药研究中心, 江西 南昌 330004;

2. 山东师范大学生命科学院, 山东 济南 250014)

摘 要:目的 研究灵芝双向发酵对雷公藤的解毒持效作用。方法 运用双向发酵工程的原理和方法获得灵雷菌质(G30),用常规急性毒性试验、免疫学试验、自身免疫疾病动物模型试验等进行G30的毒性和药效学研究。结果 G30的LD₅₀较雷公藤生药组显著提高,并且能抑制小鼠T、B淋巴细胞的增殖和血清溶血素的分泌;G30降低阿霉素诱导的肾炎大鼠的24h尿蛋白量,同时改善肾炎大鼠的多项生化指标,且对各脏器的毒性要小于雷公藤生药;G30缓解佐剂性类风湿关节炎大鼠的足肿胀度,并改善大鼠的生存状况。结论 灵芝与雷公藤构成发酵组合所产灵雷菌质G30毒性降低并仍然保持免疫抑制作用,对佐剂性类风湿关节炎及阿霉素诱导的大鼠肾炎均有一定的治疗作用。显示双向发酵对雷公藤解毒持效是一条可行的途径。

关键词:灵芝;雷公藤;双向发酵;解毒持效;灵雷菌质

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)12-1925-05

Toxicity-reducing and efficacy-maintaining function of fungal fermentative products in *Tripterygium wilfordii* by *Ganoderma lucidum* bi-direction solid fermentation

XIE Xiao-mei¹, HE Jing², LUO Hong-dan¹, SU Ming-sheng¹, ZHANG Pu-zhao¹, ZHUANG Yi¹

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Chinese Materia Medica, Mycomedicine Research Center, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Department of Life Sciences of Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Abstract: **Objective** To survey the toxicity-reducing and efficacy-maintaining function of fungal fermentative products in *Tripterygium wilfordii* by *Ganoderma lucidum* bi-direction solid fermentation. **Methods** Bi-direction solid fermentation engineering was applied and Linglei fungal substance (G30) was obtained. Its toxicity and pharmacodynamics were detected with regular acute toxicity test, immunological test, and tests on autoimmune disease animal pattern. **Results** LD₅₀ of G30 was higher than that of crude drug. G30 had the inhibiting effect on proliferation of both T and B lymphocytes and could decrease the production of hemolysin in mice. G30 could decrease 24 h urine protein of nephritis model of rats caused by Adriamycin, and it had less toxicity on organs than *T. wilfordii*. G30 could alleviate foot swelling of rheumatoid arthritis model. **Conclusion** Linglei fungal substance is obtained from the fermentative composition of *G. lucidum* fungal and *T. wilfordii*. It shows low toxicity and effects of immunosuppression and also has some therapeutic effects on the model of autoimmune diseases. The pharmacological effects suggest that the bi-directional fermentation engineering may possibly provide a new way to prepare the toxicity-reducing and efficacy-maintaining function of fungal fermentative products in *T. wilfordii*.

Key words: *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.; *Tripterygium wilfordii* Hook; bi-direction solid fermentation; toxicity-reducing and efficacy-maintaining; Linglei fungal substance

双向发酵是20世纪90年代初庄毅教授等为了扩大槐耳菌质的适应症,独创的一项使药用真菌与植物类药材间有机结合的复合型中药生产工艺^[1]。

它是根据中药被某些真菌(大多为空气中曲霉、青霉等杂菌)污染霉变(实质上也就是发酵)后引起中药药性、药效变化的原理,用现代科学技术将药用真菌

收稿日期:2009-03-26

基金项目:科技部国际合作项目(与美国马里兰大学)“雷公藤固体发酵减毒持效的研究”(2006DFA33060);“973”课题(2009CB522801);江西省科技攻关项目;南昌市科技局攻关项目

作者简介:谢小梅(1964—),女,江西永新人,教授,博士,主要从事菌物药研究以及中药药理学研究。

Tel: (0791) 7118707 E-mail: 1990xxm@sohu.com

* 通讯作者 谢小梅

(发酵菌种)与具有一定活性成分的中药材(药性基质)构成发酵组合,在特定条件下进行发酵,基质在提供真菌生长所需营养的同时又能被真菌的酶改变组织、成分,从而产生新的性味功能的药性菌质(简称菌质),该药性菌质是人工制造的新药材^[2]。

双向发酵创建10余年来,已证明其增效、扩用、解毒的作用。20世纪90年代中后期,本课题组初步研究了雷公藤的生物技术处理,即采用为药用真菌新型固体发酵工程(双向发酵)所建立的“发酵组合三层优选法”,选出了有效发酵菌种,为进一步进行雷公藤生物技术解毒持效研究奠定了基础^[3]。

本研究在此基础上,运用双向发酵的原理和方法筛选出最佳发酵菌种灵芝,并用“发酵过程成分、药效动态比较法”,通过急性毒性实验、免疫抑制实验及化学成分的动态变化研究,优化了发酵条件确立了发酵终点,得到了毒性降低并且仍然保持免疫抑制效果的灵雷菌质(G30);进一步研究了G30对佐剂性类风湿关节炎及阿霉素诱导的大鼠肾炎的作用,为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 实验动物:昆明种小鼠,雌雄各半,体质量18~22 g,由江西医学院实验动物中心提供;雄性SD大鼠,清洁级,体质量(220±20) g,由江西医学院实验动物中心提供。

1.2 实验药物:灵雷菌质(G30),本实验室采用“发酵过程成分、药效动态比较法”获得。将灵芝接种在雷公藤基质上,在特定的条件下进行发酵,每递增5~10 d为一阶段,从每阶段的菌质中抽取一定样本,对此一系列样品进行雷公藤甲素、总生物碱、总二萜等有效成分分析,同时进行急性毒性和免疫功能的药效实验,最后对成分量及毒性、药效的动态数据进行联系比较、分析,最终确定合理的发酵终点。经分析,双向发酵雷公藤解毒持效的发酵终点应在菌丝长满瓶后第30天,将发酵第30天所获得的灵雷菌质称为G30。生药采自福建泰宁GAP种植基地6年生雷公藤带皮根部;灭菌药由雷公藤生药经121℃、21 min高压灭菌后获得;注射用盐酸阿霉素(浙江海正药业股份有限公司,批号H33021980);雷公藤多苷(湖南协力药业有限公司,批号Z43020138);地塞米松片剂(浙江仙琚制药股份有限公司);RPMI 1640培养基(Gibco公司);脂多糖(LPS)、刀豆蛋白(ConA)及MTT(Sigma公司);DMSO(分析纯,天津福晨化学试剂厂);卡介苗(上海生物制品研究所,批号

200703001)。

1.3 主要仪器:CO₂培养箱(美国Thermo公司);2—16K冷冻离心机(Sigma公司);超纯水机(美国Millipore公司)、倒置显微镜(Olympus公司);自动酶标仪(美国Thermo公司);UV—2102C型紫外分光光度计(尤尼柯上海仪器设备有限公司);BS系列电子天平(塞多利斯);全自动生化仪(江西省儿童医院提供)。

2 方法

2.1 急性毒性实验^[4]:参照改进寇式法。将小鼠随机分组,每组10只,根据预实验测得的剂量范围进行正式实验,小鼠按照0.4 mL/10 g ig给药1次,即刻起连续观察7 d之内的动物反应情况,记录动物死亡数,计算各药物的半数致死量(LD₅₀), $LD_{50} = \lg^{-1}[X_m - i(\Sigma P - 0.5)]$,其中 X_m 为最大剂量组剂量的对数值, i 为相邻两组剂量对数值之差, P 为各组动物的死亡率)。

2.2 免疫功能的测定:将小鼠随机分组,每组10只,分为对照(蒸馏水)组、生药组、G30组和地塞米松(7.5 mg/kg)组。小鼠按0.2 mL/10 g计算给药量,ig给药,T、B淋巴细胞增殖实验中生药组和G30组的药物剂量分别为其LD₅₀的1/5(0.18 g/kg)和LD₅₀的1/8(1.781 3 g/kg);血清溶血素实验中生药组和G30组的药物剂量分别为其LD₅₀的1/4(0.225 g/kg,3.562 5 g/kg)。对照组给予等量蒸馏水,连续7 d给药。MTT法^[4]检测小鼠T、B淋巴细胞的增殖,比色法测定小鼠的血清半数溶血值(HC₅₀)^[4]。

2.3 G30对阿霉素诱导的大鼠肾炎的作用:将大鼠随机分成对照组、生药对照组和造模组。造模组参照李波等^[5]方法在非麻醉下1次性尾iv 6.5 mg/kg阿霉素,对照组和生药对照组iv等量生理盐水。造模成功后将造模组随机分为模型组、G30组、生药组、灭菌药组,每组10只,置代谢笼中喂养。造模第15天开始ig给药,G30组剂量为LD₅₀的1/7,即2.035 7 g/kg;生药对照组、生药组和灭菌药组剂量分别为其LD₅₀的1/5,即0.18、0.18、0.833 g/kg;对照组、模型组ig等量蒸馏水,每日1次,共14 d。用考马斯亮蓝法^[6]检测各组大鼠24 h尿蛋白量;常规方法取血检测大鼠血液生化指标;取肾脏进行病理学检查。

2.4 G30对佐剂性类风湿关节炎模型大鼠的作用:将大鼠随机分成对照组和造模组。参照冯芳等^[7]方法制备佐剂性类风湿关节炎大鼠模型。将卡

介苗 (BCG) 加入到配好的弗氏不完全佐剂中 (终质量浓度 15 mg/mL), 充分混匀制成弗氏完全佐剂 (FCA), 在每只大鼠的左后足跖 sc FCA 0.1 mL 致炎, 诱发佐剂性关节炎, 对照组注射同等剂量的生理盐水。将造模成功的大鼠随机分为模型组、G30 组和雷公藤多苷 (75 mg/kg) 组。给药组大鼠按 1 mL/100 g 计算给药量, G30 组的给药剂量为其 LD₅₀ 的 1/8, 即 1.781 3 g/kg, 模型组和对照组给予蒸馏水, 连续给药 14 d。观察大鼠后足的肿胀情况及耳、尾巴等并发症, 并用排水法测后足体积, 并根据关节炎指数评分标准^[8] 评定关节的肿胀度。

2.5 统计学分析: 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS11.5 软件进行数据处理。

3 结果

3.1 灵芝双向发酵对雷公藤的解毒作用: 急性毒性实验研究表明, 不同发酵时间各菌质组 LD₅₀ 均高于雷公藤生药, 其中以 G30 的 LD₅₀ 最高。结果见图 1。

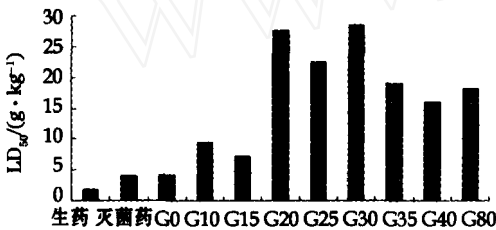


图 1 不同发酵时间各灵芝菌质的 LD₅₀ 值
Fig. 1 LD₅₀ Values of Linglei fungal substance in different fermentation time periods

3.2 灵芝双向发酵对雷公藤的特效作用

3.2.1 G30 对小鼠免疫功能的影响: 对小鼠血清

溶血素和淋巴细胞增殖功能的测定实验结果 (表 1) 表明, G30 可降低小鼠血清溶血素的分泌, 并且显著抑制 T、B 淋巴细胞的增殖。

3.2.2 G30 对阿霉素诱导的大鼠肾炎模型的影响: G30 能明显改善肾炎大鼠的生存状况, 降低肾炎大鼠 24 h 尿蛋白量, 降低血清中尿素氮 (BUN)、肌酐 (Scr)、胆固醇 (TC) 及甘油三酯 (TG) 水平, 升高大鼠血清总蛋白 (TP) 量。见图 2 和表 2。

表 1 G30 对小鼠 T、B 淋巴细胞增殖及血清溶血素分泌的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	T 细胞 (吸光度值)	B 细胞 (吸光度值)	HC ₅₀
对照	0.282 7±0.104 8	0.759 6±0.162 8	0.313 2±0.135 2
地塞米松	0.127 1±0.036 2*	0.380 3±0.251 3*	0.055 1±0.069 2*
G30	0.172 9±0.053 8*	0.374 3±0.063 0*	0.041 6±0.040 0*
生药	0.152 7±0.058 6*	0.407 3±0.149 5*	0.116 2±0.128 8*

与对照组比较: * P<0.05

* P<0.05 vs control group

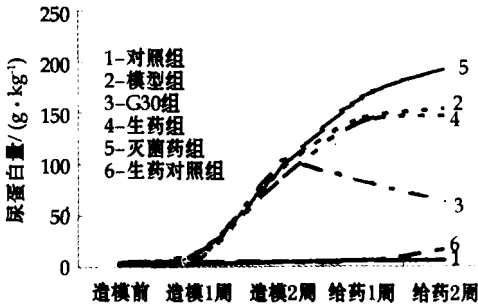


图 2 各组大鼠尿蛋白变化

Fig. 2 Changes of urine protein of rats in every group

表 2 各组大鼠血清 TP、BUN、Scr、TC、TG 的比较 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 2 Comparison of TP, BUN, Scr, TC, and TG of rats in every group ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	Scr/(μmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	75.88±6.05	5.65±0.82	29.53±6.01	1.55±0.26	12.33±0.35
模型	—	63.77±6.94**	6.95±0.76*	33.57±2.99*	6.36±0.96*	3.41±0.34*
G30	2.035 7	71.30±2.21△	5.53±0.83△△	28.10±2.22△	2.20±0.43*△△	1.73±0.31△△
生药	0.18	73.50±12.41△	9.55±1.32*	32.88±4.64*	5.58±2.54*	2.34±0.22*
灭菌药	0.833	56.15±12.56**	7.22±1.27*	34.02±3.88*	4.62±0.81*△△	2.59±0.72**
生药对照	0.18	58.50±8.37**	7.24±1.04*	33.05±3.38*	1.83±0.38△△	1.56±0.35△△

与对照组比较: * P<0.05 ** P<0.01; 与模型组比较: △ P<0.05 △△ P<0.01

* P<0.05 ** P<0.01 vs control group; △ P<0.05 △△ P<0.01 vs model group

肾脏的病理切片结果显示, 对照组肾小球、肾小管结构清晰, 未见明显病理改变。模型组可见系膜细胞增生、系膜基质增多, 肾小管空泡样变性明显; G30 组系膜细胞增生明显减轻、系膜基质减少, 肾小管空泡样变性有所改善; 生药组和生药对照组均可见肾小球内少量充血。见图 3。

从表 3 可见, 对照组比较, 生药、灭菌药、生药对

照组的丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、血清肌酸激酶 (CK) 等明显升高 (P<0.05), G30 组的 ALT、CK 等与对照组比较差异无显著性意义 (P>0.05)。

3.2.3 G30 对弗氏完全佐剂性类风湿关节炎模型大鼠的影响: 大鼠造模后, 即开始观察大鼠一般情况, 测量每只大鼠原发侧和继发侧踝关节的肿胀程度, 并根据未注射的其余 3 只肢体的病变程度以及

指间趾间关节是否发炎累计积分,算出关节炎指数。实验发现 G30 能明显减轻大鼠原发侧和继发侧关

节的肿胀程度,对佐剂性类风湿关节炎大鼠有一定的治疗作用。结果见表 4~6。

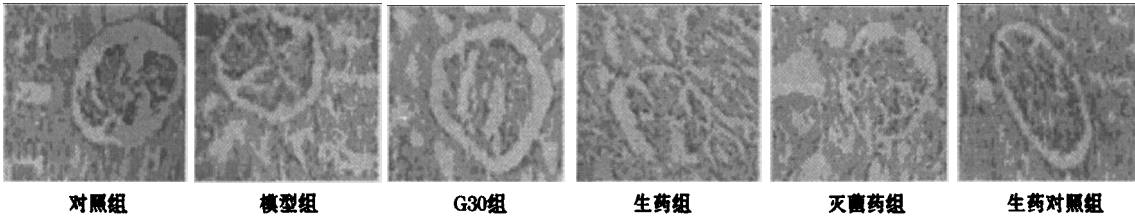


图 3 各组大鼠肾脏病理改变观察 (HE 染色)

Fig. 3 Pathologic changes of kidney tissues of rats in every group (HE staining)

表 3 各组大鼠转氨酶和心肌酶的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Comparison of aminotransferase of liver and myocardial enzyme of rats among groups ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)					
组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	ALT/(U · L ⁻¹)	AST/(U · L ⁻¹)	CK/(U · L ⁻¹)	CK-MB/(U · L ⁻¹)
对照	—	32.75 ± 10.781	144.70 ± 10.34	1 488.00 ± 49.66	601.50 ± 146.73
模型	—	31.83 ± 6.765	142.80 ± 46.44	1 126.40 ± 307.81	575.10 ± 98.99
G30	2.035 7	31.75 ± 4.520	115.00 ± 7.52	1 432.70 ± 46.94	525.50 ± 25.87
生药	0.18	64.66 ± 14.378* $\Delta\Delta$	124.80 ± 34.56	1 939.80 ± 525.92* $\Delta\Delta$	797.60 ± 124.35* Δ
灭菌药	0.833	66.80 ± 10.059* $\Delta\Delta$	133.60 ± 28.72	2 352.60 ± 285.71* $\Delta\Delta$	510.60 ± 80.17
生药对照	0.18	51.16 ± 3.763* $\Delta\Delta$	113.70 ± 13.51	1 697.80 ± 337.34* $\Delta\Delta$	597.00 ± 65.99

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs model group

表 4 各组佐剂性关节炎大鼠原发侧关节肿胀程度的变化 ($\bar{x} \pm s$)

		Table 4 Changes of original swelling of rheumatoid arthritis in rats among groups ($\bar{x} \pm s$)						
组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	动物/只	关节肿胀度/mL					
			造模前	造模第 2 天	造模 1 周	造模 2 周	给药 1 周	给药 2 周
对照	—	7	1.72 ± 0.12	1.80 ± 0.19	1.89 ± 0.19	1.96 ± 0.11	1.97 ± 0.07	2.01 ± 0.13
G30	1.781 3	9	1.71 ± 0.14	3.37 ± 0.37**	3.91 ± 0.34**	4.21 ± 0.37**	4.14 ± 0.54* Δ	3.71 ± 0.31* Δ
雷公藤多苷	0.075	9	1.73 ± 0.17	3.80 ± 0.56**	3.67 ± 0.52**	4.51 ± 0.60**	4.02 ± 0.75* Δ	3.41 ± 0.88* $\Delta\Delta$
模型	—	11	1.72 ± 0.14	3.75 ± 0.75**	4.02 ± 0.71**	4.40 ± 0.71**	4.83 ± 0.25**	4.68 ± 0.55**

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$
** $P<0.01$ vs control group; $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs model group

表 5 各组佐剂性关节炎大鼠继发侧关节肿胀程度的变化 ($\bar{x} \pm s$)

		Table 5 Changes of secondary swelling of rheumatoid arthritis in rats among groups ($\bar{x} \pm s$)						
组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	动物/只	关节肿胀度/mL					
			造模前	造模第 2 天	造模 1 周	造模 2 周	给药 1 周	给药 2 周
对照	—	7	1.71 ± 0.11	1.79 ± 0.15	1.89 ± 0.15	1.94 ± 0.14	1.97 ± 0.08	2.03 ± 0.14
G30	1.781 3	9	1.72 ± 0.10	1.80 ± 0.13	1.90 ± 0.14	2.77 ± 0.64**	2.67 ± 0.42**	2.58 ± 0.28* Δ
雷公藤多苷	0.075	9	1.72 ± 0.08	1.81 ± 0.17	1.88 ± 0.17	2.75 ± 0.47**	2.53 ± 0.19* Δ	2.46 ± 0.47* Δ
模型	—	11	1.71 ± 0.15	1.81 ± 0.14	1.90 ± 0.16	2.81 ± 0.76**	3.17 ± 0.76**	3.07 ± 0.61**

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: $\Delta P<0.05$
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; $\Delta P<0.05$ vs model group

表 6 各组佐剂性关节炎大鼠关节炎指数评分

		Table 6 Grade of rheumatoid arthritis index of rats among groups						
组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	动物/只	关节炎指数					
			造模前	造模第 2 天	造模 1 周	造模 2 周	给药 1 周	给药 2 周
对照	—	7	0	0	0	0	0	0
G30	1.781 3	9	0	0	0	4.44 ± 1.42	3.67 ± 1.12*	3.07 ± 1.12*
雷公藤多苷	0.075	9	0	0	0	4.35 ± 0.88	3.89 ± 0.93	2.89 ± 1.37*
模型	—	11	0	0	0	3.88 ± 1.45	4.91 ± 1.45	4.45 ± 1.81

与模型组比较: * $P<0.05$
* $P<0.05$ vs model group

4 讨论

目前雷公藤及其制剂在临床上已应用于类风湿性关节炎、肾病综合征、系统性红斑狼疮、器官移植排斥反应、肿瘤等50多种疾病,尤其是在多种自身免疫性疾病的治疗中疗效明确而独特,是首选的免疫抑制剂,具有广阔的应用前景。但其不良反应严重且发生率高,几乎成为近半个世纪以来报道发生中毒事件最多的中草药之一^[9]。因此如何降低雷公藤的毒性又保持其疗效已成为国内外学者关注的焦点。目前常用除去毒性最强的根皮部分、控制煎煮时间;通过固体脂质纳米粒技术改变雷公藤的剂型^[10];穴位贴敷剂改变雷公藤的给药途径^[11];间歇交替用药促进雷公藤在体内的代谢;中药不同配伍或复方联合应用^[12]以及针灸^[13]等方法降低雷公藤的毒性。通过活性单体生物转化技术^[14]对雷公藤进行解毒也取得了一定进展。虽然这些方法可以达到解毒的效果,但并不能从根本上解决雷公藤的毒性问题。

灵雷菌质是一种用中药生物技术(双向发酵)获得的药性菌质,它以灵芝为发酵菌种,雷公藤为药性基质,在特定条件下发酵后所得。对灵雷菌质的急性毒性实验发现,灵雷菌质的LD₅₀较雷公藤生药显著提高,说明其毒性降低,其中以G30的毒性最低。在免疫功能实验中,G30不仅能显著抑制小鼠T、B淋巴细胞的增殖,还能降低小鼠血清溶血素的分泌,显示出较好的细胞和体液免疫抑制功能。由此得出:G30较雷公藤生药比较,在毒性降低的同时保持了较好的免疫抑制功能。

阿霉素诱导的大鼠肾炎及佐剂性类风湿关节炎是用于研究自身免疫性疾病肾炎和类风湿性关节炎的常见动物模型。研究结果表明:与肾炎模型组比较,G30组用药后降低其24 h尿蛋白量及血中BUN、Scr、TC和TG水平,升高TP量,同时AST、ALT、CK和CK-MB水平与对照组保持同一水平。与生药、灭菌药比较,G30能降低24 h尿蛋白量,使CK、ALT保持正常水平,而生药、灭菌药在生理和病理状态下均引起CK、ALT的升高。光镜下显示G30较生药、灭菌药改善了肾病大鼠肾脏的病理损害程度。生药在治疗肾病大鼠时效果较G30差,可能原因有剂量不够和毒性太大,致使生药在生理、病

理状态下都会引起CK、ALT升高,在生理状态下还会引起尿蛋白量的增加,引发心脏、肝脏、肾脏毒性。该结果表明G30比生药毒性低,同时对肾病大鼠有一定的治疗作用且效果比生药好,表明了G30对阿霉素诱导的大鼠肾病有一定的治疗作用。

佐剂性类风湿关节炎动物模型的实验表明G30能显著缓解模型大鼠原发侧及继发侧关节炎的肿胀程度,对佐剂性类风湿关节炎有一定的治疗作用。

本实验室正在继续探讨双向发酵对雷公藤解毒持效的机制,并进一步研究灵雷菌质的慢性毒性及其他药效学作用。

该研究对雷公藤的用药安全、扩大药用范围、节约大量的雷公藤原料资源都将有重要的实际意义,还可为“双向发酵”这项中药生物技术奠定理论和实践基础,对应用生物技术研制解毒而持效的雷公藤新药具有重要意义。

参考文献:

- [1] 庄毅. 药用真菌新型(双向性)固体发酵工程[J]. 中国食用菌, 2002, 21(4): 35.
- [2] 庄毅, 池玉梅, 陈慎宝, 等. 药用真菌新型固体发酵工程与槐芪菌质的研制[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(3): 175.
- [3] 庄毅, 谢小梅. 菌新型(双向性)固体发酵工程对雷公藤解毒持效的初步研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(15): 25.
- [4] 陈奇. 中药药理实验方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [5] 李波. 复方雷公藤对肾病大鼠减毒增效作用的实验研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2007.
- [6] 韩淑萍, 邢建设, 李桂芳, 等. 考马斯亮蓝测定24小时微量尿蛋白对糖尿病性肾病诊断的意义[J]. 老年学杂志, 1992, 12(2): 118.
- [7] 冯芳, 丁志健, 刘俊. 佐剂性关节炎大鼠模型的实验研究[J]. 天津药学, 2004, 16(2): 1.
- [8] 杨琴, 杨桂枝, 王蕾, 等. 雷公藤多苷对佐剂性关节炎模型大鼠的作用[J]. 四川解剖学杂志, 2006, 14(1): 11.
- [9] 喻丽珍, 卞慧敏. 雷公藤毒副作用的研究进展[J]. 黑龙江中医药, 2005, 2: 52.
- [10] 梅之南, 杨亚江, 徐辉碧, 等. 固体脂质纳米粒降低雷公藤内酯醇肝毒性的实验研究[J]. 中草药, 2003, 34(9): 817.
- [11] 张卫兵, 叶天申, 张秀华, 等. 雷公藤多苷片在穴位贴敷中的剂型改良[J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(11): 32.
- [12] 罗雪芹, 刘家玉, 陈东辉, 等. 对雷公藤的解毒增效作用研究[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(1): 17.
- [13] 李守栋, 顾一煌. 不同刺激量艾灸拮抗雷公藤甲素毒性反应的实验研究[J]. 浙江中医杂志, 2001, 7: 308.
- [14] 宁黎丽. 雷公藤甲素和雷公藤内酯酮的生物转化研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003.