

• 药理与临床 •

评价中药寒热药性的实验方法研究

程薇薇, 刘建利*, 张 宁, 李红民, 王翠玲, 贾敬芬

(西北大学生命科学学院 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 陕西 西安 710069)

摘要:目的 通过考察寒凉药与温热药对人乳腺癌细胞 MCF-7 体外生长增殖的影响来建立评价中药寒热药性的实验方法。方法 用噻唑蓝比色法 (MTT 法) 考察 4 种寒凉药和 5 种温热药对人乳腺癌细胞 MCF-7 体外生长增殖的影响, 倒置显微镜观察寒凉药、温热药对细胞形态特征的影响, 台盼蓝染色法分析所选寒凉药和温热药的细胞毒性作用。结果 寒凉药 (50~ 800 $\mu\text{g/mL}$ 黄连、虎杖、竹叶、夏枯草) 抑制 MCF-7 生长增殖, 随质量浓度增大抑制作用增强。温热药干姜和白胡椒 (50~ 800 $\mu\text{g/mL}$) 促进 MCF-7 生长增殖, 干姜的促进作用随质量浓度增大而增强, 白胡椒的促进作用先增大后减小。其余温热药低质量浓度 (肉桂与花椒 50~ 200 $\mu\text{g/mL}$ 、仙茅 50~ 400 $\mu\text{g/mL}$) 促进 MCF-7 生长增殖, 促进作用随质量浓度增大而增强; 高质量浓度 (肉桂与花椒 400~ 800 $\mu\text{g/mL}$ 、仙茅 600~ 800 $\mu\text{g/mL}$) 抑制 MCF-7 生长增殖, 抑制作用随质量浓度增大而增强。形态学观察表明寒凉药 (黄连、虎杖、竹叶、夏枯草) 在所选质量浓度范围内使 MCF-7 密度减小, 细胞固缩变圆; 温热药 (干姜、白胡椒、肉桂、仙茅、花椒) 在各自起促进作用的质量浓度范围内使 MCF-7 密度增大, 生长旺盛。台盼蓝染色表明各寒凉药与温热药对 MCF-7 没有细胞毒性作用。结论 本方法有可能用于中药寒热药性的实验评价。

关键词:寒凉药; 温热药; 人乳腺癌细胞 MCF-7; MTT 法; 台盼蓝染色

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)07-1122-05

Experimental method for evaluating cold and hot characteristic of traditional Chinese medicine

CHENG Wei-wei, LIU Jian-li, ZHANG Ning, LI Hong-min, WANG Cui-ling, JIA Jing-fen

(Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China, Ministry of Education,
College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: Objective To set up the experimental method of evaluating the cold and hot characteristic of traditional Chinese medicine (TCM) through investigating the different effects of TCM with cold and hot characteristic on the growth and proliferation of human breast cancer cell line MCF-7 [WTBX] in vitro. [WTBZ] **Methods** MTT Assay was used to investigate the effect of four herbal drugs of TCM with cold and cool characteristic (cold drug) and five herbal drugs of TCM with hot and warm characteristic (hot drug) on the growth and proliferation of MCF-7 [WTBX] in vitro. [WTBZ] Morphological changes of MCF-7 treated with cold and hot herbal drugs were observed through inverted microscope. Trypan-blue staining was used to analyze the cytotoxicity of herbal drugs we have chosen. **Results** The cold drugs ([WTBX] *Coptis chinensis*, *Polygonum cuspidatum*, *Phyllostachys nigra* [WTBZ] var. [WTBX] *henonis*, and *Prunella vulgaris* [WTBZ]) could inhibit the growth and proliferation of MCF-7 in the concentration range of 50—800 $\mu\text{g/mL}$ and the inhibitory effect is dependent on the concentration. The hot drugs ([WTBX] *Zingiber officinale* [WTBZ] and [WTBX] *Piper nigrum* [WTBZ]) could promote the growth and proliferation of MCF-7 in a concentration-dependent manner. The concentration range is 50—800 $\mu\text{g/mL}$. The promotive effect of [WTBX] *Z. officinale* [WTBZ] could increase along with the increasing of the drug concentration. The promotive effect of [WTBX] *P. nigrum* [WTBZ] could increase firstly but then decrease along with the increasing of the drug concentration. The rest of the herbal drug with hot characteristic could promote the growth and proliferation of MCF-7 in the low concentration range ([WTBX] *Cinnamomum cassia* [WTBZ] and [WTBX] *Zanthoxylum bungeanum* [WTBZ] 50—200 $\mu\text{g/mL}$, [WTBX] *Curculigo orchioides* 50—400 $\mu\text{g/mL}$), the promotive effect could increase along with

* 收稿日期: 2009-11-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20872118, 30070905); 教育部科学技术研究重点基金资助项目 (203164); 陕西省科技创新工程重大专项 (2008ZDKG67)

作者简介: 程薇薇 (1985—), 女, 陕西榆林人, 在读硕士, 中药学专业, 研究方向为天然药物化学。

Tel: 13468824074 E-mail: chengweiwei_abc@163.com

* 通讯作者 刘建利 E-mail: jiliu@nwu.edu.cn

the increasing of the concentration; but inhibit in the high concentration range ([WTBX] *C. cassia*, [WTBZ] and [WTBX] *Z. bungeanum* [WTBZ] 400—800 $\mu\text{g/mL}$, [WTBX] *C. orchoides* [WTBZ] 600—800 $\mu\text{g/mL}$), the inhibitory effect could increase along with the increasing of the concentration. Morphological observation showed that the cold drugs in the concentration range we have chosen could decrease the density of MCF-7 and condense the cell, while hot drugs make MCF-7 grow well and the density rise in a certain concentration range. Trypan-blue staining showed that the drugs we have chosen had no cytotoxicity on MCF-7. **Conclusion** All these results show that the method in this paper may be used to evaluate the cold and hot characteristic of TCM.

Key words: cold and cool drug; hot and warm drug; human breast cancer cell line MCF-7; MTT assay; Trypan-blue staining

中药的一个重要特征是其必须在中医理论指导下辨证用药,热者寒之,寒者热之;疗寒以热药,疗热以寒药。中药药性的存在是辨证用药法则的基础。寒热温凉四性是由药物作用于人体所产生的不同反应和所获得的不同疗效总结出来的,它反映了药物对人体阴阳盛衰、寒热变化的作用趋向。所谓寒凉药物能减轻或消除热证,一般具有清热、泻火、解毒等作用;温热药物能减轻或消除寒证,一般具有散寒、温里、助阳等作用。此外还有大热、大寒、微温、微寒、平性等。中药药性是对临床用药经验的总结,由于时代不同、地域不同,对同一种中药的药性认识存在差异。为了准确把握中药药性,使药性研究更加深入,因此需要有评价中药药性的实验方法。

虽然在中医证本质研究中应用热药(附子、肉桂、干姜)、寒药(知母、石膏、龙胆草、黄连、黄柏、黄芩、金银花、连翘等)及其组成的复方给动物灌服来复制证的动物模型,这些实验结果反过来也能说明从临床总结出来的中药寒热药性能够用动物实验来验证和评价,但真正为了研究中药寒热药性而进行的动物实验则非常少见^[1]。用整体动物进行实验研究不但费时费力、费用较大,而且动物之间的差异导致实验结果的差异较大。近年来利用中药对细菌产热的影响通过微量量热技术评价中药寒热药性研究是方法学上的一个很大突破,使得药性研究从临床总结进入了实验研究阶段,必将对中药药性研究产生巨大的推动作用。已有的研究结果也证明该方法切实可行、具有巨大的潜力^[2~7]。但也应认识到中药对人的作用与对微生物的作用可能会有差异。本研究试图应用中药对培养的人肿瘤细胞生长情况的影响来建立评价寒热药性的新方法。

中医对寒热药性的认识一般来说,温热药作用于机体表现为生理功能的亢奋,而寒凉药则表现为抑制^[8]。这在用寒、热中药所复制的寒证和热证动物模型上也有体现,如热药使动物体温上升、中枢兴

奋、代谢增强;而寒药则相反^[9,10]。这些都说明了中药寒、热药性的差异是客观存在的。由此推测寒、热中药对于离体培养细胞的生长代谢也应该有一定的影响,即在一定浓度范围内,热药可能会促进细胞生长、代谢、增殖,而寒药会表现为抑制作用。如果能够用实验证明中药寒热药性与培养细胞的生长情况有相关性,则无疑会提供一种新的评价中药寒、热药性的简便方法。由于人肿瘤细胞相对于正常细胞容易培养,因此,特别适合于这项研究。这项研究也将从细胞水平认识中药药性开辟新的思路。

噻唑蓝(MTT)法由于其简便、快速、高效、准确、经济的优点被广泛应用于抗癌药物的体外筛选^[11]。本实验将MTT法应用于中药药性的研究,即采用MTT法考察黄连、干姜等典型寒、热中药对离体培养的人乳腺癌细胞MCF-7生长增殖的影响,从细胞水平分析中药寒、热药性的差异,为中药寒、热药性的评价和研究提供新的实验方法和思路。

1 材料

1.1 细胞株:人乳腺癌细胞MCF-7的传代细胞,由西安交通大学医学院提供。

1.2 实验仪器:μQuant 酶标仪(美国Bio-Tek)、CO₂培养箱(Sanyo公司)、细胞96孔培养板、普通倒置光学显微镜、超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司)。

1.3 药品与试剂:黄连、虎杖、竹叶、夏枯草、干姜、肉桂、花椒、白胡椒、仙茅(购自西安怡康医药超市,经西北大学生命科学学院房敏峰高级工程师鉴定为正品药材);HyClone改良型RPMI 1640培养液(赛默飞世尔生物化学制品北京有限公司);四季青无支原体胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司);MTT、二甲基亚砷(DMSO)、PBS(磷酸缓冲液)、胰蛋白酶(西安舟鼎国生物技术有限公司);台盼蓝染料(西安沃尔森生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 受试药品溶液的制备: 称取生药 50 g, 煎煮 3 次, 每次 20 min, 合并煎液, 浓缩, 定容至 50 mL, 质量浓度为 1 g/mL。药液离心, 上清液微孔滤膜 (0.22 μm) 滤过, 无菌水稀释至 10 mg/mL, 备用。

2.2 细胞培养: MCF-7 细胞于含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液 (pH 7.0~7.5) 中, 在恒温培养箱中 37 ℃、5% CO₂ 及饱和湿度传代培养。

2.3 MTT 试验: 取对数生长期的 MCF-7 细胞, 调整细胞密度为 5×10^7 / L, 接种于 96 孔板, 每孔 200 μL, 置于恒温培养箱中, 37 ℃、5% CO₂ 及饱和湿度条件下培养 24 h, 细胞贴壁后, 换新鲜培养液 (200 μL), 实验组加入不同体积的药品溶液 (10 mg/mL), 使终质量浓度分别为 50、100、200、400、600、800 μg/mL; 同时设置对照组和调零孔, 每个处理组设置 3 个平行孔。96 孔板置于恒温培养箱中培养 48 h 后, 换新鲜培养液, 逐孔加入新鲜配制的 MTT 溶液 (5 g/L) 20 μL 继续培养 4 h。吸弃上清液, 每孔加入 150 μL DMSO, 震荡 10 min (60 次/min) 后, 用酶联免疫测定仪测定 490 nm 处吸光度 (A) 值。按下列公式计算细胞抑制率。抑制率为正值表示对细胞生长增殖有抑制作用, 负值表示对细胞有促增殖作用^[12]。实验重复 3 次。

细胞抑制率 = $(1 - \text{实验组 } A \text{ 值} / \text{对照组 } A \text{ 值}) \times 100\%$

2.4 台盼蓝染色: 对照组和实验组细胞, 2.5 g/L 胰蛋白酶消化制备单细胞悬液, 将 5×10^7 / L 细胞接种于 96 孔培养板内 (200 μL/孔), 每组设 3 个平行孔, 按 2.3 项中设定各组药物的质量浓度, 常规培养 48 h 后, 换新鲜培养基, 加入 20 μL 0.4% 台盼蓝染液, 作用 5 min 后在普通光镜下观察。

2.5 统计学处理: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 MTT 法检测寒、热药对 MCF-7 细胞体外增殖的影响: 以夏枯草和肉桂为例对比分析寒、热药对 MCF-7 细胞增殖的不同影响, 结果见图 1 和表 1。其余 3 味寒药和 4 味热药对 MCF-7 细胞增殖的影响结果分别见图 2、3 和表 2、3。由图 1 结果可知, 夏枯草各组抑制率为正值, 在 50~800 μg/mL 内随着质量浓度的增大抑制率增加; 肉桂在 50~200 μg/mL 内抑制率为负值, 抑制率随质量浓度增大而减小; 在 400~800 μg/mL 内抑制率为正值, 抑制率随质量浓度增大而增大。结果表明夏枯草和肉桂对 MCF-7 增殖的作用存在显著差异。

图 2 和表 2 结果表明黄连、虎杖、竹叶在 50~800 μg/mL 内抑制 MCF-7 生长增殖, 随质量浓度增大抑制作用增强。在相同质量浓度下, 4 味寒药中以黄连对 MCF-7 的抑制作用最强。

图 3 和表 3 结果表明在一定质量浓度范围内, 干姜、白胡椒、花椒、仙茅均可促进 MCF-7 细胞增

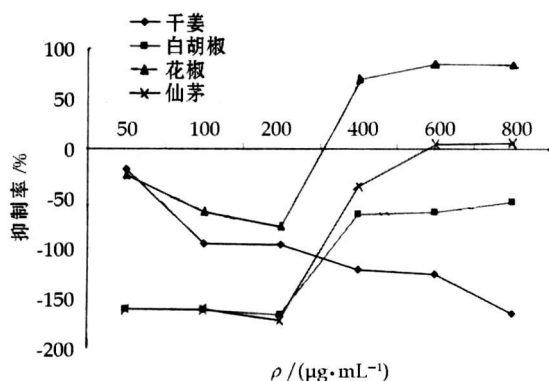


图3 干姜、白胡椒、花椒、仙茅对 MCF-7 细胞增殖抑制率

Fig. 3 Inhibitory rate of [WTHX] *Z. officinale*, *P. nigrum*, proliferation of MCF-7 cells

表1 肉桂和夏枯草对 MCF-7 细胞体外增殖的影响
on proliferation of MCF-7 cells
($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Effect of [WTHX] *C. cassia* [WTHZ] and [WTHX] *Y. vulgaris* [WTHZ] on proliferation of MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

of MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	ρ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值	组别	ρ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值	组别	ρ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值
肉桂	100	1.572 ± 0.028 *	虎杖	50	0.521 ± 0.069 *	竹叶	50	0.779 ± 0.032 *
黄莲	200	1.092 ± 0.180 *		100	0.195 ± 0.045 *		100	0.745 ± 0.058 *
	400	2.087 ± 0.046 *		200	0.183 ± 0.022 *		200	0.611 ± 0.048 *
	600	4.067 ± 0.040 *		400	0.156 ± 0.002 *		400	0.593 ± 0.067 *
	800	6.067 ± 0.058 *		600	0.142 ± 0.011 *		600	0.398 ± 0.086 *
对照	-	8.030 ± 0.077	对照	-	0.993 ± 0.060	对照	-	0.993 ± 0.060

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

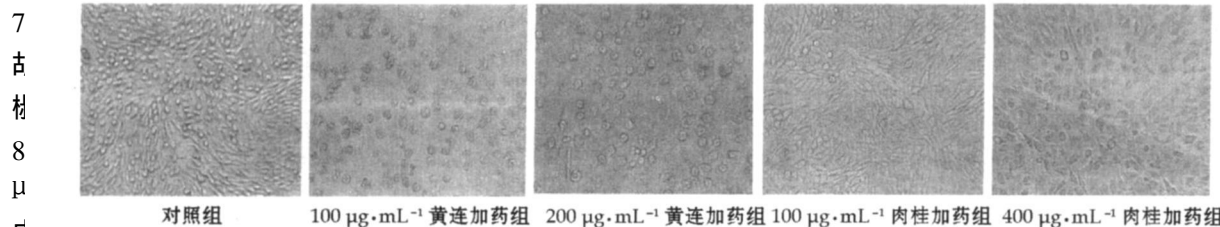
** $P < 0.01$ vs control group

表3 干姜、白胡椒、花椒、仙茅对 MCF-7 细胞体外增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)
Table 3 Effect of [WTHX] *Z. officinale*, *P. nigrum*, *Z. bungeanum*, and *C. orchoides* [WTHZ] on proliferation of MCF-7 cells in vitro ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	ρ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值	组别	ρ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值	组别	ρ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值	组别	ρ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值
干姜	50	1.068 ± 0.280	白胡椒	50	1.480 ± 0.050 *	花椒	50	0.716 ± 0.129	仙茅	50	1.475 ± 0.232 *
	100	2.374 ± 0.124 *		100	1.482 ± 0.135 *		100	0.930 ± 0.028 *		100	1.480 ± 0.263 *
	200	2.394 ± 0.073 *		200	1.510 ± 0.224 *		200	1.011 ± 0.205 *		200	1.543 ± 0.118 *
	400	2.696 ± 0.283 *		400	0.942 ± 0.023 *		400	0.176 ± 0.044 *		400	0.781 ± 0.140 *
	600	2.753 ± 0.002 *		600	0.926 ± 0.095 *		600	0.092 ± 0.016 *		600	0.546 ± 0.031 *
	800	3.236 ± 0.406		800	0.871 ± 0.058		800	0.094 ± 0.017 *		800	0.539 ± 0.070 *
对照	-	1.220 ± 0.677	对照	-	0.567 ± 0.015	对照	-	0.567 ± 0.015	对照	-	0.567 ± 0.015

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

殖:干姜和白胡椒在 50~800 $\mu\text{g/mL}$ 内促进 MCF-



对照组 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 黄莲加药组 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 黄莲加药组 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 肉桂加药组 400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 肉桂加药组

3.2 寒、热中药对 MCF-7 细胞形态的影响

置显微镜下, 对照组细胞呈上皮形贴壁生长, 细胞呈

椭圆形, 细胞胞膜透性明显, 细胞核仁清晰, 细胞表面粗糙, 细胞质透亮度下降, 颗粒感增强, 部分细胞脱落呈悬浮状, 并见细胞碎片, 以黄连 (终质量浓度 100 $\mu\text{g/mL}$) 为例, 见图 4。热药在对细胞生长增殖起促进作用的质量浓度范围内使细胞密度明显增大, 单个细胞略有变大, 与对照组相比细胞生长状态更加良好, 生长更加旺盛, 以肉桂 (终质量浓度 100 $\mu\text{g/mL}$) 为例, 见图 4。仙茅、花椒、肉桂在各自相对较高的质量浓度范围内使细胞密度减小, 细胞形态与寒药加药组类似, 以肉桂 (终质量浓度 400 $\mu\text{g/mL}$) 为例, 见图 4。

3.3 台盼蓝染色: 对照组、各加药组经台盼蓝染色后, 未见有着色的细胞。以黄连加药组 (终质量浓

度 100 $\mu\text{g/mL}$) 为例, 见图 4。

Figure 4: Trypan blue staining of MCF-7 cells treated with various herbs. The image shows cells stained with trypan blue, with labels indicating the treatment groups: 对照组 (Control), 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 黄莲加药组 (C. chinensis), 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 黄莲加药组 (C. chinensis), 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 肉桂加药组 (C. cassia), and 400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 肉桂加药组 (C. cassia).

度 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 为例, 见图 4。此结果说明无论是寒药 (黄连、虎杖、竹叶、夏枯草) 还是热药 (仙茅、白胡椒、花椒、干姜、肉桂) 在本实验所选的质量浓度范围内对 MCF-7 细胞均没有细胞毒性作用。

4 讨论

本研究采用 MTT 法考察了黄连、干姜等几味典型的寒、热中药对体外培养的人乳腺癌细胞 MCF-7 生长增殖的影响。结果表明, 在一定质量浓度范围内, 寒药抑制 MCF-7 生长增殖, 而热药在相对较低的质量浓度范围内促进 MCF-7 生长增殖, 当质量浓度增大到一定程度时, 抑制 MCF-7 生长增殖。药物对 MCF-7 生长增殖的作用与质量浓度有关, 在本实验考察质量浓度范围内, 寒药的抑制作用随药物质量浓度的增大而增强; 热药的促进作用也与药物质量浓度有关, 不同的药在各自不同的质量浓度范围内对细胞生长增殖起促进作用, 所以呈现出在固定的质量浓度 (50~800 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 内干姜、白胡椒、花椒、仙茅以及肉桂对 MCF-7 生长增殖的影响随浓度变化的不同关系。在相对较低的质量浓度范围内, 所选热药对 MCF-7 生长增殖均有促进作用, 当药物质量浓度增大到一定程度时产生抑制作用。

各寒药与热药对 MCF-7 细胞的形态也有一定的影响。与对照组相比, 寒药组 MCF-7 密度明显减小, 细胞固缩变圆, 而热药低质量浓度组 MCF-7 密度明显增大, 细胞生长状态良好, 生长旺盛。台盼蓝染色结果表明, 所选诸药对 MCF-7 没有细胞毒性作用, 只是抑制或促进 MCF-7 的生长增殖, 也可能是诱导其凋亡。作用机制将在后续研究中进一步探讨。

本实验选用癌细胞, 并且选用人乳腺癌细胞 MCF-7, 没有特别含义, 只是相对于细菌^[3,4]来说人体的癌细胞更接近于人体的情况, 而癌细胞比人体正常细胞较容易获得和培养, 所以选用人乳腺癌细胞进行了初步探讨和研究, 后续工作中将选用正常细胞进行进一步研究。

对于寒热药性未知的中药或复方, 利用该方法确定其寒热药性时, 可依据临床使用剂量折算初步确定较大的浓度范围, 如果在此范围内对细胞生长增殖有促进作用或低浓度促进、高浓度抑制则定为热性; 如果在此范围内表现为抑制, 有可能是寒性也有可能为热性的高浓度表现, 此时将浓度范围继续

向低浓度方向延伸, 如果还表现为抑制则为寒性, 如果表现为促进则确定为热性。本实验中药物质质量浓度范围的确定也是首先依据临床使用剂量初步确定较大浓度范围, 根据初步结果再调整浓度从而得出结果较为显著的浓度范围。

本实验所使用的方法具有新颖性, 同时也具有快速、简便、经济、重复性较好等优点, 但是由于目前只选取了少数已知药性的中药进行了验证, 所以方法还不够成熟, 大量的验证有待在后续研究中进一步进行。一旦大量的验证结果证实该方法确实可行之后, 就可用于未知药性的中药及复方的寒热药性评价, 这是最终目的。

总之, 本实验结果证实了寒、热中药对于离体培养的 MCF-7 的生长代谢有一定的影响, 即在一定浓度范围内, 热药能促进 MCF-7 生长、代谢、增殖, 而寒药表现为抑制。这与中医理论认识温热药作用于机体表现为生理功能的亢奋, 而寒凉药表现为抑制是一致的, 也与用寒、热药所造的寒、热证动物模型的机体表现也是一致的。这就为评价中药寒、热药性及从细胞水平认识中药的寒热药性开辟了新的思路, 在经过大量验证和细节完善之后有可能为评价中药寒热药性提供一种新的简便的实验方法。

参考文献:

- [1] 倪莉, 刘志彬, 黄光伟, 等. 美国大杏仁寒热性的研究[J]. 中国食品学报, 2008, 8(5): 58-64
- [2] 赵艳玲, 王伽伯, 肖小河. 微量热法研究板蓝根的生物热力学特征[J]. 中草药, 2007, 38(2): 193-196
- [3] 鄢丹, 魏丽, 肖小河, 等. 微量热法研究黄连中小檗碱类成分对肠道特征菌群生长代谢的影响[J]. 科学通报, 2008, 53(24): 3075-3079
- [4] 鄢丹, 肖小河, 金城, 等. 微量热法研究黄连小檗碱类生物碱对金黄色葡萄球菌生长代谢的影响[J]. 中国科学 B 辑: 化学, 2008, 38(6): 487-491
- [5] 代春美, 肖小河, 金城, 等. 微量热分析在中医药研究中的应用[J]. 中草药, 2005, 36(10): 1575-1577
- [6] 孔维军, 赵艳军, 山丽梅, 等. 用微量热法研究左金丸及类方药的药性差异[J]. 化学通报, 2008, (10): 787-792
- [7] 孔维军, 赵艳玲, 山丽梅, 等. 微量热法研究黄连与吴茱萸分煎后配伍时的药性差异[J]. 中草药, 2009, 40(12): 1893-1897
- [8] 余惠曼, 周红祖, 肖小河, 等. 中药四性的研究进展与展望[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(8): 621-624
- [9] 梁月华. 寒热本质研究进展[J]. 中医杂志, 1996, 37(12): 747-750
- [10] 袁永明, 陈晓, 潘志强, 等. 寒证热证大鼠模型的红外热图研究[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(5): 785-787
- [11] 李宇彬, 刘日嘉, 高世勇. 藻红蛋白诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞衰老研究[J]. 药物评价研究, 2009, 32(1): 13-18
- [12] Ye H, Wang K Q, Zhou C H, et al. Purification, antitumor, and antioxidant activities [WTBX] in vitro [WTBZ] of polysaccharides from the brown seaweed [WTBX] Sargassum pallidum [WTBZ] [J]. Food Chem, 2008 (111): 428-432