

高乌头炮制前后镇痛抗炎活性部位 HPLC 指纹图谱建立及质量研究

张立军¹, 戴海蓉¹, 杨志军¹, 李芸^{1*}, 张艳霞², 马骏²

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中藏药化学与质量研究省级重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要:目的 建立高乌头炮制前后镇痛抗炎活性部位指纹图谱,从物质基础上揭示高乌头炮制后镇痛抗炎活性增强的原因。方法 通过 HPLC 梯度洗脱分别建立 10 批不同地区高乌头药材炮制前后三氯甲烷萃取部分的指纹图谱,并采用中药指纹图谱相似度评价系统(2012 版)进行分析。结果 建立了生、制高乌头三氯甲烷活性部位 HPLC 指纹图谱;在生、制品三氯甲烷活性部位图谱中分别标出 3 个共有峰、15 个共有峰,制品新增 12 个峰,其中 1、2、7 号峰增加特别明显,占新增峰面积的 72.3%~84.5%;同时对生、制品三氯甲烷部分 2 个共有成分(高乌甲素、冉乌头碱)进行定量测定,炮制后其量均降低,冉乌头碱量降低至原来的 1/3。结论 该方法重现性好、特征性强,可用于高乌头生、制品镇痛抗炎活性部位的质量评价,为阐明高乌头炮制前后物质基础变化及炮制原理提供科学依据。

关键词:高乌头;甘草汁蒸制;三氯甲烷萃取部分;指纹图谱;高乌甲素;冉乌头碱;镇痛;抗炎;活性部位

中图分类号:R283.1 **文献标志码:**A **文章编号:**0253-2670(2017)12-2442-06

DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2017.12.012

Study on HPLC fingerprint and quality control of analgesic and anti-inflammatory effective parts in crude and processed roots of *Aconitum sinomontanum*

ZHANG Li-jun¹, DAI Hai-rong¹, YANG Zhi-jun¹, LI Yun¹, ZHANG Yan-xia², MA Jun²

1. Gansu University of TCM, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicines of the College of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To set up an analysis method of fingerprints for analgesic and anti-inflammatory effective parts from crude and processed roots of *Aconitum sinomontanum* (AS), and to discuss the chemical composition changes after processing that enhance the analgesic and anti-inflammatory effect. **Methods** HPLC gradient elution method was developed to establish fingerprints for 10 batches of chloroform extract from crude and processed the roots of AS in different areas. And the fingerprint were analyzed and compared by *Chinese Materia Medica (CMM) Fingerprint Similarity Evaluation System* (2012 edition). **Results** The fingerprints of chloroform extract from crude and processed the roots of AS were set up by HPLC. The gained 3 and 15 common peaks from crude and processed roots of AS, respectively. processed product added 12 peaks, including 1 peak, 2 peak, 7 peak increase were significant, accounting for the new peak area of 72.3%—84.5%. And determination of lappacontine and ranaconitine of chloroform extract from crude and proceed products, after processing the content were reduced, ranaconitine content reduced to the original one-third. **Conclusion** This method with good reproducibility, and strong characteristic, and could be used for the full quality evaluation of analgesic and anti-inflammatory effect parts from crude and processed the roots of AS. To provide scientific basis for elucidating the chemical substance base and processing principle of crude and processed roots of AS.

Key words: *Aconitum sinomontanum* Nakai; licorice steaming; chloroform extract; fingerprint; lappacontine; ranaconitine; analgesic activities; anti-inflammatory activities; active fraction

收稿日期: 2017-02-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(81560650); 甘肃省自然科学基金项目(1107RJZA242)

作者简介: 张立军, 男, 硕士生, 研究方向为中药制药工艺研究。Tel: 18791071858 E-mail: 1570914816@qq.com

*通信作者 李芸, 女, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药活性成分分析、中药加工炮制及制剂工艺研究。

Tel: (0931)8765585 E-mail: liyunherb@163.com

高乌头为毛茛科乌头属植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的根, 是我国甘肃等中西部地区民间习用中药, 在《中华本草》《中药大辞典》等本草著作中均有记载^[1-2]。其药性辛、苦、温, 有毒, 具有祛风除湿、理气止痛、活血散瘀的功效, 用于治疗风湿痹痛、关节肿痛、跌打劳伤、急慢性菌痢等^[3-4], 现收载于《甘肃省中药材标准》2009 年版^[5]。高乌头含有生物碱、黄酮、甾体、糖苷类等化学成分^[6-9]。现代药理研究表明高乌头具有镇痛、抗炎、解热、局麻、抗心律失常等广泛的药理作用, 临床上常用于治疗类风湿性关节炎和局部镇痛^[10]。课题组前期已经对其进行了炮制工艺研究^[11], 表明通过炮制可以降低其毒性, 并且增强其镇痛抗炎作用, 又进一步通过系统溶剂法、急性毒性实验和镇痛抗炎实验对其进行研究, 筛选出毒性部位与药效部位均为三氯甲烷萃取部分^[12]。而目前有关高乌头炮制前后镇痛抗炎活性部位(三氯甲烷萃取部分)指纹图谱研究尚未见报道。故本实验采用 HPLC 法对高乌头炮制前后镇痛抗炎活性部位进行研究, 为生、制高乌头活性部位建立指纹图谱, 区分高乌头生品及炮制品, 同时对比分析高乌头生、制品活性部位

指纹图谱, 为阐明生、制高乌头活性部位的化学物质基础提供科学依据。

1 仪器与材料

BT125D 电子天平, 十万分之一, 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; KQ3200DB 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; FW-400A 高建万能粉碎机, 北京科伟永兴仪器有限公司; HHS-11S 数显恒温水浴锅, 上海宜昌仪器纱筛厂; Agilent 1100 Series 型高效液相色谱仪, DAD 检测器, 美国 Agilent 科技有限公司。

高乌头药材分别购于甘肃、青海、西藏等地, 均由药农采挖, 经甘肃中医药大学药学院杨扶德教授鉴定为毛茛科乌头属植物高乌头 *Aconitum sinomontanum* Nakai 的干燥根, 结果见表 1。

高乌甲素对照品, 甘肃神龙药业股份有限公司, 批号 20001001, HPLC 测定质量分数 $\geq 97.50\%$; 冉乌头碱对照品, 成都克洛玛生物科技有限公司, 批号 150404, HPLC 测定质量分数 $\geq 98.00\%$; 乙腈、甲醇、三乙胺、磷酸二氢钠均为色谱纯; 石油醚(60~90 ℃)、正丁醇、三氯甲烷、氨水、异丙醇、醋酸乙酯、95%乙醇均为分析纯。

表 1 高乌头药材样品来源

Table 1 Source of medicinal *A. sinomontanum* samples

购买时间	采购地点	生品编号	对应制品编号
2016-04-27	青海省海北藏族自治州海晏县	S1	Z1
2016-08-29	青海省海南藏族自治州贵德县	S2	Z2
2016-09-08	青海省黄南藏族自治州同仁县	S3	Z3
2015-05-05	甘肃省天祝藏族自治县先明峡	S4	Z4
2016-04-27	甘肃省天祝藏族自治县朱岔峡	S5	Z5
2016-09-16	甘肃省临夏州和政县松鸣岩	S6	Z6
2016-09-10	西藏自治区日喀则地区日喀则	S7	Z7
2016-09-20	青海省西宁市大通回族土族自治县	S8	Z8
2016-04-27	青海省互助土族自治县加定乡	S9	Z9
2015-03-29	甘肃省天祝藏族自治县炭山岭	S10	Z10

2 方法与结果

2.1 色谱条件

迪马 C₁₈ 钻石色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.05 mol/L 磷酸二氢钠水溶液-乙腈; 梯度洗脱: 0~10 min, 4%~10%乙腈, 体积流量 1.0 mL/min; 10~23 min, 10%乙腈, 体积流量 1.0 mL/min; 23~30 min, 10%~25%乙腈, 体积流量 1.0 mL/min; 30~35 min, 25%~30%乙腈, 体积分

量 1.0~0.6 mL/min; 35~45 min, 30%乙腈, 体积流量 0.6 mL/min; 45~55 min, 30%~35%乙腈, 体积流量 0.6 mL/min; 55~75 min, 35%~100%乙腈, 体积流量 0.6 mL/min; 检测波长 290 nm; 柱温 30 ℃。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定冉乌头碱、高乌甲素对照品适量, 加甲醇溶解分别制备含有 0.296 0、0.800 4 mg/mL 的

混合对照品溶液, 存贮于 4 °C 冰箱中备用。

2.3 供试品溶液的制备^[11-12]

将高乌头药材净制, 润软, 然后切制约为 5 mm 的段, 自然干燥, 筛去碎屑, 制成高乌头生品。将其分成 2 份, 取其中 1 份用 10% 甘草汁 (3 mL 含 1 g 药材) 润透后, 置立式压力蒸汽灭菌器内, 在 127 °C、0.15 MPa 条件下蒸制 5 h, 取出, 晾干, 筛去碎屑, 制成高乌头制品。分别取上述高乌头生品和制品粉末 (过 4 号筛), 用 10 倍量 95% 乙醇冷浸超声 2 次, 每次冷浸 24 h 后超声 45 min (功率 300 W, 频率 40 kHz), 滤过, 合并 2 次滤液, 回收乙醇, 所得稠膏加水混悬, 依次用石油醚、三氯甲烷、水饱和醋酸乙酯、水饱和正丁醇分别萃取, 剩余的乙醇提取物回收溶剂称为乙醇部分。将各萃取部分回收溶剂, 分别进行冷冻干燥, 得到高乌头生、制品三氯甲烷萃取部分。分别精密称取生品 (出膏率 0.53%) 三氯甲烷萃取部分 10 mg, 及与生品部分等生药量的制品 (出膏率 0.56%) 三氯甲烷萃取部分, 加甲醇溶解定容至 10 mL, 密塞, 摇匀, 进样前用 0.45 μm 微孔膜滤过, 作为供试品溶液。

2.4 生、制高乌头三氯甲烷活性部位 HPLC 指纹图谱研究^[13]

2.4.1 空白溶剂的考察 取甲醇, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 进样量 5 μL, 结果表明溶剂无干扰。

2.4.2 精密度试验 取同一批供试品溶液 (S1) 5 μL, 按“2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 以高乌甲素色谱峰为参照峰, 计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 结果各共有峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 分别为 0.32%、1.48%, 表明仪器的精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一供试品溶液 (S1) 5 μL, 按“2.1”项下色谱条件进样, 分别于 0、3、6、9、12、24 h 测定, 记录色谱图, 结果各共有峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 分别为 0.46%、1.88%, 表明 24 h 内供试品溶液的稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批次样品粉末 (S1), 按“2.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 记录色谱图, 结果各共有峰的相对保留时间、相对峰面积的 RSD 分别为 0.52%、1.69%, 表明该方法有良好的重复性。

2.4.5 指纹图谱建立 取上述高乌头生品与制品三氯甲烷活性部位供试液各 10 批, 按“2.1”项下色

谱条件进样分析, 记录色谱图, 并将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012 版”软件, 采用中位数矢量法进行多点校正生成高乌头生品及制品三氯甲烷活性部位指纹图谱, 10 批高乌头生品、制品三氯甲烷活性部位 HPLC 指纹图谱共有模式、对照指纹图谱及混合对照品图谱分别见图 1。

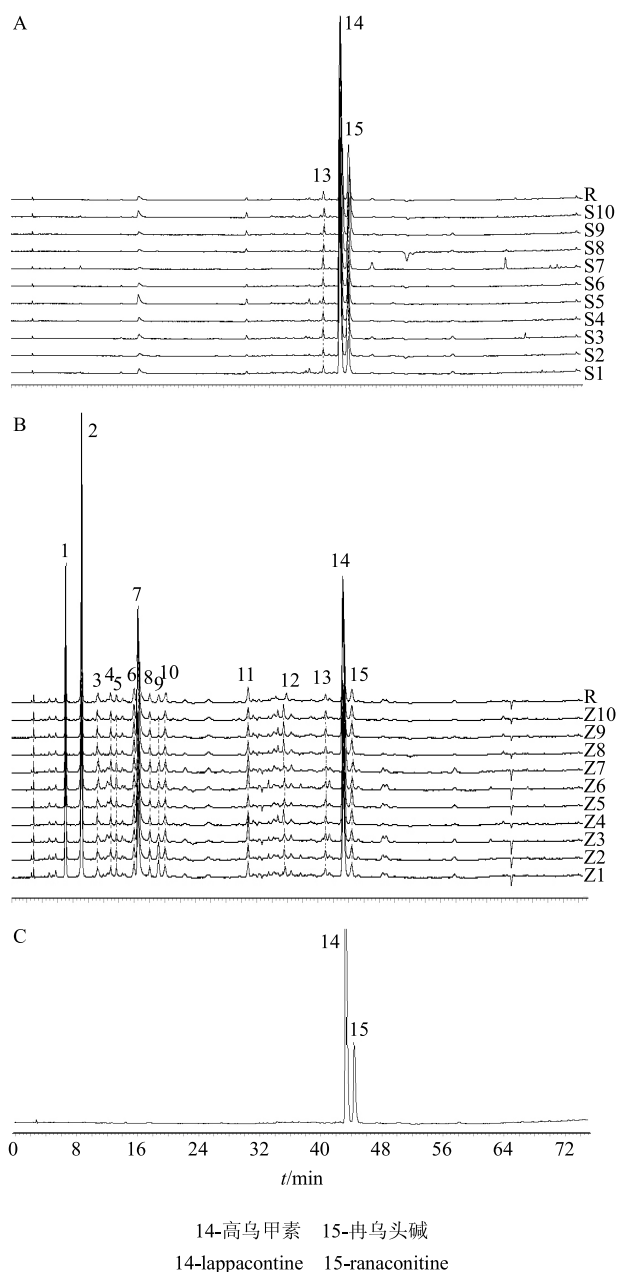


图 1 10 批生高乌头 (S1~S10, A)、制高乌头 (Z1~Z10, B) 三氯甲烷活性部位指纹图谱共有模式、对照指纹图谱 (R) 及混合对照品图谱 (C)

Fig. 1 Fingerprint patterns and control fingerprints (R) of 10 batches of chloroform extract of crude (S1—S10, A) and processed (Z1—Z10, B) *A. sinomontanum* and mixed reference substances (C)

2.4.6 共有峰相对保留时间和相对峰面积的测定根据 10 批高乌头生、制品三氯甲烷活性部位 HPLC 图谱分析,发现生品三氯甲烷活性部位中有 3 个共有峰,占总峰面积的 90.5%~96.2%,制品中有 15 个共有峰,占总峰面积的 89.1%~95.3%,二者均有的共有峰 3 个,其中 14 号峰响应最强,相对稳定,故选择 14 号峰作为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果高乌头生品和制品三氯甲烷活性部位指纹图谱中各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 2%,相对峰面积 RSD 均在 8%~40%,表明各产地高乌头药材三氯甲烷活性部位化学成分相似,共有成分的相对质量分数差异较大,推测可能与产地、采集时间等因素有关。

2.4.7 色谱峰指认与生、制品三氯甲烷活性部位图谱对比 通过与对照品图谱(图 1)比对,在制品三氯甲烷活性部位图谱已确认的 15 个共有峰中,指认出 2 个成分,其中 14 号峰为高乌甲素,15 号峰为冉乌头碱,其余 13 个为未知峰。高乌头生、制品三氯甲烷活性部位 HPLC 指纹图谱之间差异显著,一些成分发生了明显的变化,从无到有,增加非常明显,如新增的 1、2、7 号峰十分明显,占新增峰面积的 72.3%~84.5%。生、制品三氯甲烷活性部位指纹图谱镜像图(图 2)中标出了变化较大的 3 个色谱峰。

2.4.8 指纹图谱的分析^[14] 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)分析处理,生成生、制高乌头三氯甲烷活性部位指纹图谱共有模式图,得到相似度评价结果。

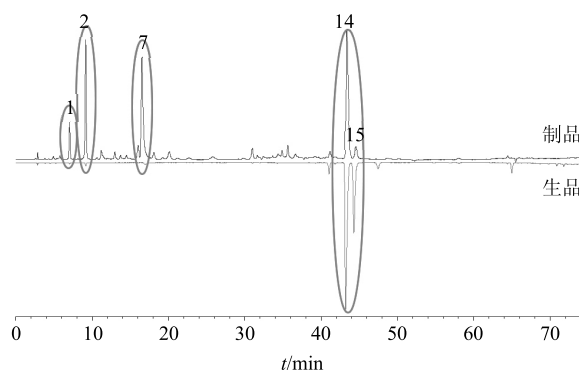


图 2 高乌头生品、制品三氯甲烷活性部位指纹图谱镜像 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mirror image of chloroform extract of crude and processed *A. sinomontanum*

相似度可以体现不同批次样品之间各成分在种类和相对含量上的相似程度;由于相似度不能反映不同批次样品间成分绝对质量分数的差异,所以同时采用总峰面积比(总峰面积比=样品所有峰面积之和/10 批样品所有峰面积之和的平均值)和相似度 2 个指标共同对样品的相似度进行评价。其中生品三氯甲烷活性部位相似度均>90%,制品相似度均>85%,表明各批次样品之间具有较高的相似性;而从总峰面积比值上分析,各批次之间比值不同,说明不同产地高乌头药材化学成分量存在一定的差异,可用于不同产地高乌头药材的质量评价,结果见表 2、3。

2.5 生、制高乌头三氯甲烷活性部位中高乌甲素与冉乌头碱定量测定

2.5.1 线性关系的考察 精密吸取混合对照品贮备

表 2 10 批高乌头生品三氯甲烷活性部位相似度评价结果

Table 2 Result of similarity comparison on chloroform extract of crude *A. sinomontanum* from 10 habitats

编号	相似度											总峰面积比
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	对照	
S1	1.000	0.981	0.998	0.986	0.998	0.978	0.995	0.999	0.966	0.965	0.998	0.802
S2		1.000	0.991	0.982	0.984	0.998	0.995	0.987	0.980	0.982	0.981	1.035
S3			1.000	0.998	0.998	0.989	0.999	0.991	0.997	0.998	0.986	1.218
S4				1.000	0.999	0.979	0.996	0.994	0.985	0.992	0.998	0.884
S5					1.000	0.981	0.996	0.999	0.999	0.999	0.998	0.985
S6						1.000	0.993	0.984	0.977	0.979	0.989	1.053
S7							1.000	0.998	0.994	0.996	0.999	0.887
S8								1.000	0.999	0.993	0.991	1.114
S9									1.000	0.991	0.998	1.138
S10										1.000	0.998	0.884

表 3 10 批高乌头制品三氯甲烷活性部位相似度评价结果

Table 3 Result of similarity comparison on chloroform extract of processed *A. sinomontanum* from 10 habitats

编号	相似度											总峰面积比
	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10	对照	
Z1	1.000	0.982	0.891	0.924	0.933	0.905	0.906	0.897	0.905	0.889	0.893	0.884
Z2		1.000	0.969	0.930	0.947	0.905	0.979	0.984	0.925	0.863	0.992	1.112
Z3			1.000	0.953	0.918	0.903	0.983	0.995	0.898	0.927	0.954	1.186
Z4				1.000	0.926	0.919	0.936	0.919	0.915	0.892	0.886	0.990
Z5					1.000	0.949	0.919	0.635	0.870	0.979	0.892	1.007
Z6						1.000	0.916	0.902	0.879	0.921	0.904	1.032
Z7							1.000	0.988	0.871	0.876	0.957	0.908
Z8								1.000	0.851	0.874	0.973	1.102
Z9									1.000	0.933	0.916	1.090
Z10										1.000	0.896	0.990

液 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、5.0 mL 用甲醇定容至 5.0 mL，摇匀。分别按“2.1”项下色谱条件进样分析，进样量为 5 μ L，测定峰面积，以峰面积 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归。结果表明，高乌甲素在 0.200 1~4.00 2 μ g 线性关系良好，回归方程 $Y=1\ 867.2\ X-2.872\ 3$ ， $r=0.999\ 8$ ；冉乌头碱在 0.074~1.480 μ g 线性关系良好，回归方程 $Y=1\ 692.1\ X-2.124\ 7$ ， $r=0.998\ 9$ 。

2.5.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 5 μ L，按“2.1”项下色谱条件进样分析，连续进样 6 次，结果冉乌头碱、高乌甲素峰面积的 RSD 分别为 0.56%、0.68%，表明仪器的精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 取同一供试品溶液 (Z1)，按“2.1”项下色谱条件进样，分别于 0、3、6、9、12、24 h 测定，记录冉乌头碱与高乌甲素的峰面积。其峰面积的 RSD 分别为 1.16%、1.21%。表明 24 h 内供试品溶液的稳定性良好。

2.5.4 重复性试验 取同一批次样品粉末 (Z1)，按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，计算三氯甲烷活性部位中高乌甲素和冉乌头碱的量。表明该方法有良好的重复性，高乌甲素和冉乌头碱 RSD 分别为 2.01%、1.82%。

2.5.5 加样回收率试验 取已知待测成分量的 Z1 样品粉末 0.5 g (高乌甲素为 12.046%，冉乌头碱为 2.145%) 共 6 份，精密称定。分别加入相当于样品成分量 100% 的高乌甲素和冉乌头碱对照品，按“2.3”项下方法制备，依法测定，计算高乌甲素和

冉乌头碱的平均回收率分别为 96.84%、101.63%，RSD 分别为 1.52%、1.25%，表明该方法的回收率良好。

2.5.6 样品定量测定 取生、制高乌头三氯甲烷活性部位供试液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，结合不同产区生、制高乌头三氯甲烷萃取部分得率计算各产区生、制品三氯甲烷活性部位中高乌甲素和冉乌头碱的量，结果见表 4。不同产地的高乌头样品中高乌甲素和冉乌头碱成分均有不同程度的差异，推测可能由于受到药材产地、采集时间等因素

表 4 10 批生、制高乌头三氯甲烷活性部位中高乌甲素和冉乌头碱的量

Table 4 Contents of lappacontine and ranaconitine of 10 batches of chloroform extract of crude and processed *A. sinomontanum*

编号	质量分数/%		编号	质量分数/%	
	高乌甲素	冉乌头碱		高乌甲素	冉乌头碱
S1	31.431	7.563	Z1	12.046	2.145
S2	34.898	16.688	Z2	19.112	3.285
S3	39.551	12.471	Z3	21.120	4.193
S4	34.243	8.400	Z4	22.993	2.830
S5	37.896	10.167	Z5	26.751	3.254
S6	30.610	14.905	Z6	24.402	3.749
S7	28.651	7.019	Z7	17.436	2.255
S8	35.929	12.827	Z8	19.633	3.195
S9	38.149	10.730	Z9	22.169	3.040
S10	45.860	10.857	Z10	29.257	3.194
平均值	35.722	11.163	平均值	21.492	3.114

影响。炮制后高乌甲素和冉乌头碱量均降低,而冉乌头碱量降低至原来的1/3。

3 讨论

实验选择高乌甲素和冉乌头碱作为指标性成分并进行了定量测定,一方面由于高乌甲素和冉乌头碱具有很好镇痛、抗炎、解热、抗心律失常等药理作用^[3,15-17],而活性成分之一高乌甲素已开发出不同制剂应用于临床^[18-20];另一方面高乌头主要含有二萜类生物碱,目前研究已发现高乌头中含有28种生物碱成分,其中高乌甲素和冉乌头碱量最高,并且有市售的相应对照品,而其他生物碱量较低,研究较少且无市售对照品。

本实验收集了不同产地的10批高乌头药材,对其一一进行炮制,建立了生、制品高乌头三氯甲烷活性部位指纹图谱,其中生品高乌头三氯甲烷活性部位相似度均>90%,制品相似度均>85%,表明各批次样品之间具有较高的相似性,也验证了课题组前期筛选出的炮制工艺^[11]稳定可行。

前期研究表明三氯甲烷部分是高乌头的主要活性部位群,炮制后其毒性降低而镇痛抗炎活性有增强趋势^[12]。通过对比该部位指纹图谱发现,炮制后该部位化学成分发生了明显的变化,相对于生品该部位新增12个色谱峰,其中新产生的1、2、7号峰十分明显,这可能是高乌头“减毒存效”的物质基础之一,可以为进一步开展谱-毒关系与谱-效关系研究奠定基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 (第七卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 (下册) [M]. 上海: 上海科技出版社, 2001.
- [3] 高雅淇, 谢红, 陈玲. 高乌头生物碱高乌甲素对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用研究 [J]. 江苏中医药, 2015, 47(6): 79-81.
- [4] 牟得军, 刘静. 高乌头温敏凝胶外用辅助治疗局部癌性疼痛的临床研究 [J]. 中南药学, 2014, 12(9): 922-924.

- [5] 甘肃省中药材标准 [S]. 2009.
- [6] 乌力吉特古斯, 高艳红, 黄冬梅, 等. 乌头属植物化学成分研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2008, 14(4): 68-72.
- [7] Shrestha B B, Dall'Acqua S, Gewali M B, et al. New flavonoid glycosides from *Aconitum naviculare* (Brühl) Stapf, a medicinal herb from the trans-himalayan region of Nepal [J]. *Carbohydr Res*, 2006, 341(12): 2161-2165.
- [8] 谢斌, 周军辉, 石新卫, 等. 高乌头活性成分提取工艺的优化 [J]. 植物学报, 2014, 49(2): 198-202.
- [9] 桂香, 包海泉. 蒙药紫花高乌头的研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2012, 18(1): 73-75.
- [10] Wang Y Z, Xiao Y Q, Zhang C, et al. Study of analgesic and anti-inflammatory effects of *Lappaconitine gelata* [J]. *J Trad Chin Med*, 2009, 29(2): 141-145.
- [11] 李芸, 胡昌江, 侯桃霞, 等. 正交实验优选高乌头解毒的炮制工艺研究 [J]. 中成药, 2015, 37(4): 905-909.
- [12] 李芸, 张立军, 杨志军, 等. 甘草汁蒸制的高乌头不同溶剂萃取部分口服后在小鼠的急性毒性比较研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(1): 47-50.
- [13] 杨光明, 陈晓红, 刘路, 等. 女贞子生品及炮制品的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 760-766.
- [14] 刘芳, 张浩, 青琳森. 黄连 HPLC 数字化指纹图谱研究及7种生物碱含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21): 3713-3719.
- [15] Vakhitova I V, Farafontova E I, Khisamutdinova R I, et al. To the mechanisms of antiarrhythmic action of allapinine [J]. *Russ J Bioorg Chem*, 2013, 39(1): 105-116.
- [16] 张嘉宝. 高乌甲素镇痛过敏机制研究及羟考酮伍用高乌甲素药效学研究初探 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [17] 张慧灵, 王翔毅, 杨玉梅, 等. 冉乌头碱的镇痛作用及其对麻醉大鼠心电图的影响 [J]. 包头医学院学报, 2000, 16(4): 261-264.
- [18] 李思思, 张洪兵, 朱雪瑜, 等. 高乌甲素新型制剂的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(7): 818-823.
- [19] 高丽丽, 康爽. 高乌甲素用于甲状腺术后镇痛的临床观察 [J]. 黑龙江医学, 2015, 39(7): 771-773.
- [20] 张勇, 龚正寿, 黎志. 联用小剂量的氢溴酸高乌甲素片和甲氨蝶呤片治疗类风湿关节炎的效果观察 [J]. 当代医药论丛, 2015, 13(20): 189-190.