

本文引用:刘源,张康乐,范仪铭,郭珈宜,李峰,郭艳幸. 苍黄散外敷治疗兔早期膝骨关节炎的实验研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(3): 286-291.

苍黄散外敷治疗兔早期膝骨关节炎的实验研究

刘源¹,张康乐²,范仪铭³,郭珈宜³,李峰³,郭艳幸^{3*}

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.明光市中医院,安徽滁州 239400;3.河南省洛阳正骨医院,河南洛阳 471002)

[摘要] **目的** 观察平乐郭氏正骨苍黄散外敷治疗兔早期膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)滑膜组织的病理改变,以及软骨组织中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase, MMP-13)的水平变化,探讨经验方苍黄散治疗早期 KOA 的作用机制。**方法** 将 30 只新西兰大白兔随机分为 3 组:平乐正骨苍黄散组(简称经验方组)、扶他林组、模型组,采用木瓜蛋白酶和半胱氨酸混合液兔关节腔内注射完成动物早期 KOA 造模,经验方组和扶他林组兔分别采用对应药物外敷治疗,治疗时间为 20 d。治疗结束后记录每组兔膝关节局部皮肤温度,HE 染色法观察关节滑膜组织,用 ELISA 和 Western blot 方法检测软骨组织中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP13 含量及蛋白的表达量。**结果** 治疗结束后,经验方组和扶他林组皮温改善程度优于模型组,差异具有统计学意义($P<0.05$);病理学观察发现:模型组膝关节滑膜大量增生,并且可见血管增生明显,其他两组中膝关节滑膜组织中血管增生较少,少量炎性细胞浸润;模型组滑膜组织及软骨组织中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 含量及蛋白表达量明显高于另外两组,差异明显($P<0.05$),经验方组与扶他林组之间 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 含量及蛋白表达量,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 平乐郭氏正骨经验方苍黄散外敷能缓解兔早期膝骨关节炎模型皮温高的症状,同时能降低软骨组织中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 含量,此结果为临床运用提供了实验依据。

[关键词] 膝骨关节炎;苍黄散;平乐正骨;白细胞介素-1 β ;肿瘤坏死因子- α ;金属蛋白酶-13

[中图分类号]R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.03.008

Experimental Research on External Application of Canghuang Powder in the Treatment of Early Knee Osteoarthritis in Rabbits

LIU Yuan¹, ZHANG Kangle², FAN Yiming³, GUO Jiayi³, LI Feng³, GUO Yanxing^{3*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Mingguang Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chuzhou, Anhui 239400, China; 3. Luoyang Orthopedic Traumatological Hospital, Luoyang, Henan 471002, China)

[Abstract] **Objective** To observe the pathological changes of synovial tissue in early knee osteoarthritis (KOA) treated with Pingle Guo's Bone-setting's Canghuang Powder external application, and the changes of interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and metalloproteinase-13 (MMP-13) levels in cartilage tissues, and to explore the mechanism of Canghuang Powder in treating early KOA. **Methods** A total of 30 New Zealand white rabbits were randomly divided into a Pingle bone-setting's Canghuang Powder group (experiential prescription group), a Votalin group and a model control group. The rabbits were injected with papain and cysteine mixture into articular cavity to complete early KOA model. The rabbits in the experiential prescription group and the Votalin group were treated with external application of corresponding drugs for 20 days. At the end of

[收稿日期]2019-09-18

[基金项目]国家中医药管理局建设项目((2012)228);河南省科技厅项目(112102310008);河南省中医药管理局项目(HNZYLJ20131009);2017河南省中医药科学研究专项(2017ZY2085)。

[作者简介]刘源,男,医师,在读博士研究生,研究方向:中医药防治骨与关节疾病。

[通讯作者]*郭艳幸,女,主任医师,教授,博士研究生导师,E-mail:772187349@qq.com。

treatment, local skin temperature of knee joint was recorded, synovial tissue was observed by HE staining, and IL-1 β , TNF- α , MMP13 content and protein expression in cartilage tissues were detected by ELISA and Western blot. **Results** After the treatment, the improvement of skin temperature in the empirical prescription group and the Votalin group was better than that in the model group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Histopathological observation of synovium showed that the synovium of the knee joint in the model group had a large number of hyperplasia, and obvious vascular proliferation was seen. In the other two groups, synovial and vascular proliferation was less and inflammatory cell infiltration was small. The content and protein expression of IL-1 β , TNF- α , MMP-13 in synovial tissue and cartilage tissue of the model group were significantly higher than those of other two groups ($P<0.05$). There was no significant difference in the content and protein expression of IL-1 β , TNF- α , MMP-13 between the experiential prescription group and the Votalin group ($P>0.05$). **Conclusion** This study found that Pingle Guo's bone-setting's empirical prescription Canghuang Powder can alleviate the symptoms of high skin temperature in early knee joint model of rabbits, and reduce the contents of IL-1 β , TNF- α and MMP-13 in synovial tissue and cartilage tissue, which provides a experimental basis for clinical application.

[**Keywords**] knee osteoarthritis; Canghuang Powder; Pingle Bone-setting; IL-1 β ; TNF- α ; MMP-13

膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是临床常见的骨伤科疾病,尤其多见于老年人,症状以关节疼痛,活动障碍等为主,后期可见关节周围肌肉萎缩、关节畸形功能丧失等。该病的发生发展多伴随滑膜炎。膝关节拥有全身最大的滑膜组织,滑膜组织可分泌渗出液,渗出液中包含多种炎症因子,是导致膝关节疼痛的主要原因,该病的病因及发病机制复杂,临床缺乏特异性治疗。中医学将本病病因病机概括为本虚标实,本虚为体虚或机体劳损,标实为瘀血内停或风、寒、湿邪侵袭,致使经络不通,气血、水液循行不畅,治疗上以益气通经止痛、舒筋活络为主。当前中药内服外敷是治疗该病行之有效的方法,本团队在前期临床试验中已经明确平乐正骨经验方苍黄散外敷治疗膝关节的疗效,但是其作用机制尚不明确,本研究采用平乐正骨经验方外敷治疗木瓜蛋白酶诱导的兔早期 KOA,观察其对膝关节软骨中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β); 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF); 金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase, MMP-13)的影响,探讨其作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

新西兰大白兔 30 只,兔龄平均为 4 个月,体重(2.20 \pm 0.24) kg,由河南省实验动物中心提供,生产许可证编号:SCXK(豫)2017-0001。实验前喂养兔 7 d,观察无异常后开始造模和药物治疗。

1.2 主要试剂

木瓜蛋白酶(P4762-100MG)、L-半胱氨酸(YJ-B11909)试剂均由 Sigma 公司提供;ELISA 试剂盒

IL-1 β (BIO-(tw)-1622)、TNF- α (BIO-(tw)-0248)、MMP-13(YE-E1012)均由 R&D 公司提供;Western Blot 试剂盒 IL-1 β (GOY-KT1608)、TNF- α (Hk6959)、MMP-13(HK3954)均由 Santa 公司提供;HE 染液(G1120)购自 Solarbio 公司。

1.3 主要仪器

自动脱水机(Leica TP1020)、石蜡切片机(Leica 2235)、光学显微镜(Leica DM1000)、组织包埋中心(Tissue-Tek TEL)、酶标仪(北京普朗新技术 DNM-9606)、红外测温仪(科仪科技 KY1707168)。

1.4 实验药物

苍黄散其主要药物组成:苍术 30 g,黄柏 20 g,当归 15 g,土茯苓 30 g,木瓜 20 g 等。所有药物粉碎筛滤后用蜂蜜调和成糊状备用(由河南省洛阳正骨医院中药房提供);双氯芬酸二乙胺乳膏(北京诺华药业);造模试剂为 2%的木瓜蛋白酶和 0.03 mol/L L-半胱氨酸混合液。

2 方法

2.1 分组、造模与干预

模型制备方法:备皮消毒后以兔膝关节屈曲状态下髌骨下缘髌腱外缘为进针点,注射 2%木瓜蛋白酶和 0.03 mol/L L-半胱氨酸混合液 0.5 mL,注射时间分别为实验正式开始的第 1、4、7 天。造模后将所有兔随机分为 3 组:模型组、经验方组、扶他林组。模型组不治疗,经验方组给予苍黄散外敷,用药剂量与临床运用剂量相同,将蜂蜜调和好的苍黄散平铺到大小适宜到纱布上外敷到膝关节前方,并用

绷带固定;扶他林组给与扶他林外敷患膝处,用药剂量与临床相同。所有到治疗从造模实验开始到第7天开始,每次外敷时间为8 h,每日1次,疗程为20 d。

2.2 膝关节局部皮温测定

在药物干预前后,使用红外测温仪对兔膝关节正前方皮肤测量温度,将红外测温仪探头中心处对准髌骨下缘,高度为1 cm,重复测量3次,取平均值。

2.3 取材

所有实验兔子在实验治疗结束后采用耳缘静脉空气栓塞法处死,并在无菌条件下取膝关节滑膜组织0.3 g,以及软骨组织0.3 g,将所取滑膜组织冲洗后立即放入10%中性福尔马林溶液中固定;所取软骨组织液氮冻存,然后转移至-80℃冰箱保存。

2.4 膝关节滑膜组织标本病理学检测

兔滑膜组织经过石蜡切片脱蜡至水,依次进行苏木素染色、伊红染色,最后脱水封片,然后在显微镜下观察滑膜切片的组织学变化情况。

2.5 ELISA法检测组织IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13水平

采用酶联免疫吸附法检测IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13的含量,将冻存组织从冰箱取出解冻,加入适量PBS液,捣碎后放置离心机离心,3 000 r/min离心10 min后取上清液,待检测。严格按照相关ELISA试剂盒说明书上进行操作,在450 nm波长处读吸光度值数(OD值),并用标准曲线计算出浓度。

2.6 采用Western-blot检测IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13蛋白表达水平

将家兔关节软骨组织从液氮中取出置于研钵中,加入液氮后迅速研磨,磨碎后加入RIPA蛋白裂解液裂解。然后依次完成蛋白提取、浓度测定、样品蛋白处理-上样及电泳-转膜、封闭、免疫反应-显影、检测分析,以特异性条带浓度与面积的乘积为有效值,反映蛋白表达水平。

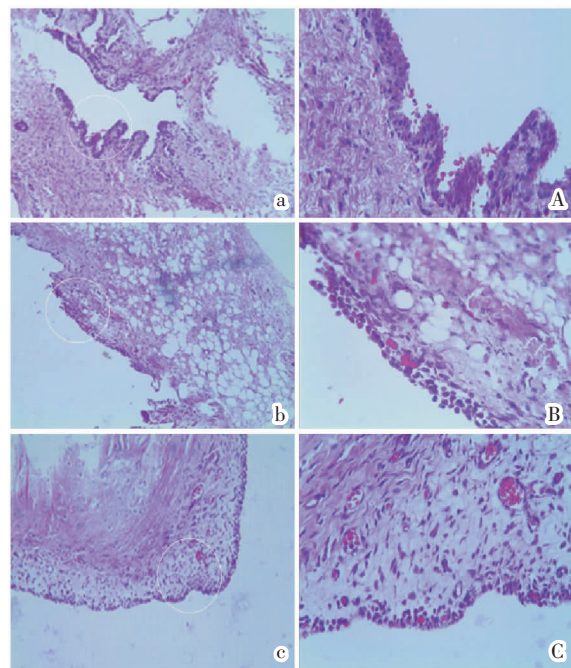
2.7 统计学分析

数据应用统计软件GraphPad Prism 7.00统计软件进行处理,计量资料数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,对于满足方差齐性的数据采用单因素方差(One-Way ANOVA)检验,若不满足,则用秩和检验法,组间两两比较采用LSD-t法检验。 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组兔滑膜组织光镜下病理观察

在光镜下观察滑膜组织HE染色显示:模型组滑膜组织增生明显,可达5~6层,细胞间及滑膜外层见大量炎性细胞浸润以淋巴细胞和单核细胞为主,间质纤维组织增生明显,在滑膜组织中可见大量血管增生(图a、A)。经验方组滑膜组织增生,可达2~3层,细胞间及滑膜外层见少量炎性细胞浸润以淋巴细胞和单核细胞为主,间质纤维组织增生明显,在滑膜组织中可见少量血管增生(图b、B)。扶他林组外敷组滑膜组织增生,可达2~3层,细胞间及滑膜外层见中量炎性细胞浸润以淋巴细胞和单核细胞为主,间质纤维组织增生较多,在滑膜组织中可见中量血管增生(图c、C)。



注:a-c分别为模型组、经验方组、扶他林组(HE, $\times 100$);A-C分别为模型组、经验方组、扶他林组(HE, $\times 400$)

图1 各组滑膜组织病理学观察

3.2 各组兔膝关节局部皮温比较

3组治疗前分别比较局部皮温,结果显示皮温无差异($P>0.05$)。3组治疗前后皮温差比较,经验方组、扶他林组比较模型组,差异具有统计学意义($P<0.05$),经验方组与扶他林组比较皮温差,差异不具有统计学意义($P>0.05$)。具体结果见表1。

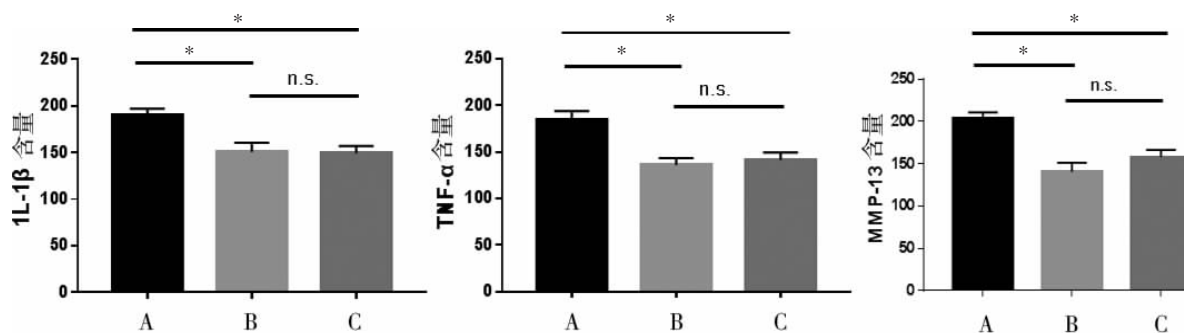
表 1 3 组兔治疗前及治疗前后皮温差比较 ($\bar{x}\pm s, ^\circ\text{C}$)

组别	n	治疗前	治疗前后皮温差
模型组	10	40.73±0.27	0.21±0.14
扶他林组	10	40.79±0.19	1.23±0.17*
经验方组	10	40.82±0.28	1.16±0.33*

注:与模型组比较,* $P<0.05$

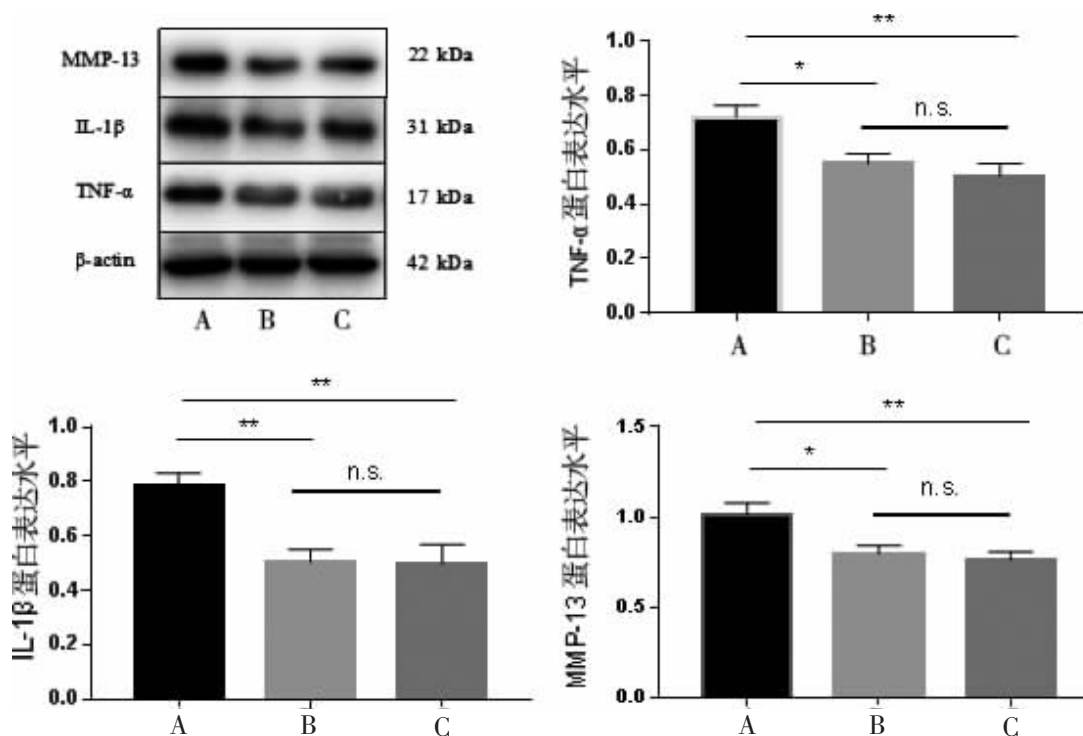
3.3 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 含量比较

治疗结束后分别比较 3 组中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 的含量,结果显示经验方组和扶他林组软骨组织中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 的含量均低于模型组($P<0.05$),差异有统计学意义;扶他林组与经验方组比较软骨组织中三者含量,发现并无明显差异。($P>0.05$)。具体结果见图 2。



注:与模型组比较,* $P<0.05$,n.s.表示差异无统计学意义 $P>0.05$;A-C 分别为模型组、经验方组、扶他林组

图 2 3 组兔 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 含量比较图



注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;n.s.表示差异无统计学意义 $P>0.05$;A-C 分别为模型组、经验方组、扶他林组

图 3 3 组兔 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 蛋白表达水平比较图

3.4 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 蛋白量表达水平比较

治疗结束后分别比较 3 组中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 的蛋白表达水平,结果显示经验方组和扶他林组软骨组织中三者的蛋白表达水平均低于模型组($P<0.01$),差异有统计学意义;扶他林组与经验方组比较软骨组织中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 的蛋白表达水平发现并无明显差异($P>0.05$)。具体结果见图 3。

4 讨论

膝骨关节炎多发中老年人,是一种与年龄、性别、肥胖、遗传等因素相关的退行性疾病,该病的发生涉及关节软骨,软骨下骨,关节周围滑膜以及韧带组织,其中软骨组织是受累主要组织^[1]。苍黄散外

敷治疗 KOA 较好的临床疗效,故本研究设计动物实验探讨其作用机制,KOA 造模方式是采用木瓜蛋白酶和半胱氨酸混合液关节腔内注射完成,参照韩冠英等运用不同浓度木瓜蛋白酶建立兔 KOA 模型的方法^[2],木瓜蛋白酶可分解软骨基质中的蛋白多糖,促使其从软骨中丢失,木瓜蛋白酶诱发的模型与人体骨性关节炎类似^[3]。对照组药物选用扶他林,扶他林可用于骨关节炎的对症治疗,其适应症为用于缓解肌肉、软组织和关节的轻至中度疼痛,且其用法为外用,能与经验方外敷组形成很好对照。

软骨组织中包括软骨细胞和软骨细胞外基质,膝骨关节炎病变早期以软骨细胞外基质的降解为主,细胞外基质的降解以及其软骨细胞炎症反应诱发的凋亡是该病发生的主要方面^[4]。合成代谢与分解代谢是维持软骨细胞外基质的关键因素,正常情况下二者维持平衡关系,但当平衡被打破,分解代谢超过合成代谢时,软骨基质的丢失会加速软骨细胞的凋亡,加速疾病的发展^[5]。IL-1 β 发挥着对软骨基质的分解代谢与抗分解代谢作用,IL-1 β 与 IL-1 的受体 IL-1R II 存在某种平衡,骨关节炎的发生会打破这种平衡,导致软骨退变,有研究表明,IL-1 β 蛋白表达数量与软骨破坏程度呈正相关^[6]。本研究结果证明了这现象,模型组兔滑膜组织 HE 染色切片可见滑膜组织增生明显,细胞间及滑膜外层见大量炎性细胞浸润以淋巴细胞和单核细胞为主,并可见大量血管增生,模型组中 IL-1 β 的蛋白表达含量最高。TNF- α 是由激活的巨噬细胞产生,研究表明 TNF- α 能通过抑制成骨和刺激破骨细胞的作用来抑制软骨组织生成,并且能抑制蛋白聚糖产生,是体现骨关节炎和滑膜炎的敏感指标^[7-8]。研究显示 TNF- α 与 OA 的软骨破坏及滑膜炎有一定关系,并与 OA 和滑膜炎的严重程度呈正相关^[9-10]。TNF- α 和 IL-1 β 均可激活多型核细胞,刺激滑膜细胞的 PGE2 产生,加快骨与软骨的破坏^[6]。本研究结果显示模型组软骨组织中 TNF- α 明显高于另外两组,有统计学意义,而扶他林和苍黄散干预后,组织中 TNF- α 的含量明显降低。MMP-13 又称胶原酶 3,是金属蛋白酶类的主要成员,是家族中最有效的 II 型胶原降解酶,含有降解蛋白多糖基底膜成分,能有效的促进基质降解^[11],

其作用机制大概与 MMPs/TIMP 比例失衡,关节软骨及其周围组织 MMPs 表达含量增高,关节软骨的分解代谢大于合成代谢,从而致使软骨细胞外基质的降解,最终导致软骨损伤。研究结果表明软骨细胞内 IL-1 β 和 TNF- α 产生 NF- κ B, NF- κ B 激活诱导炎症反应、凋亡反应和 MMPs 的产生,三者之间与膝骨关节炎的发生发展有着密切联系^[12-13]。

平乐正骨“平衡理论”学术思想认为该病的发生以脏腑失衡为本,气血失衡为标。脏腑失衡重在肝肾脾三脏,其病机以湿、瘀、虚为主要特点,瘀血、风、寒、湿邪为主要致病因素,病程缠绵,易复发,对于该病的治疗目前中药的应用颇为广泛,包括汤剂口服,中药熏洗,中药离子导入,中药外敷等。本研究采用的外敷方是平乐正骨第六代传承人郭维淮老先生经验方,在本院临床治疗中应用广泛。该方由苍术、黄柏、当归、土茯苓、木瓜、独活等组成。苍术燥湿健脾,祛风除湿散寒;苍术有效成分为倍半萜类化合物,具有有毛细血管透过性亢进的抑制作用很强的抗炎作用,其抗炎机制可能与其增强单核巨噬细胞系统吞噬功能、减少炎症部位的前列腺素 E2 有关^[14]。土茯苓利水消肿,通利关节,其有效成分具有消炎镇痛、免疫抑制的作用^[15]。黄柏清热燥湿,泻火解毒,其所含的黄柏酮可降低炎症因子(如 NO、IL-6、IL-1 β 和 MCP-1)的转录和翻译水平,同时具有抗菌、抗炎、解热、抑制细胞免疫反应的作用,还能抑制软骨细胞的凋亡,改善软骨病变^[16-17]。当归活血止痛,活血又止血,为治痹症要药,其挥发油有明显的镇痛、抗炎作用^[18-19]。木瓜归肝经,主要功效为舒筋通络,其有效成分木瓜叶乙醇提取物具有较高的抗炎活性,可以有效抑制白细 IL-6 以及 TNF- α 的产生^[20-21]。独活具有祛风湿、止痛、解表之功效,现代研究表明独活有效成分具有抗炎镇痛、抗老年痴呆以及抗氧化作用^[22-23]。诸药合用共奏益气通经止痛、舒筋活络之功效。

综上所述,平乐正骨经验方外敷治疗兔膝关节急性滑膜炎不仅能改善局部皮温高的症状,而且能有效降低组织中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 的含量,为临床运用提供实验基础,后期研究将对影响 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 的上游因子做检测,以便进一步明确对中药外敷治疗 KOA 的深层机制。

参考文献

- [1] 谭静雅,杨南萍.骨关节炎的发病机制及其诊治的研究进展[J].华西医学,2012,27(12):1828-1832.
- [2] 韩冠英,凌沛学,王凤山,等.不同浓度木瓜蛋白酶建立兔膝骨关节炎模型比较研究[J].中国骨伤,2012,25(5):424-429.
- [3] 张康乐,郭珈宜,刘源,等.低浓度木瓜蛋白酶诱导兔早期膝骨关节炎滑膜炎的时间曲线[J].中国组织工程研究,2017,21(36):5787-5792.
- [4] WANG C J, SUN Y C, WONG T, et al. Extracorporeal shockwave therapy shows time-dependent chondroprotective effects in osteoarthritis of the knee in rats[J]. Journal of Surgical Research. 2012,178(1):196-205.
- [5] 杨黎黎,王庆甫,王欢,等.通络止痛方对人膝骨性关节炎滑膜炎细胞上清IL-1 β 和TNF- α 的影响[J].辽宁中医药杂志,2017,44(5):1040-1042.
- [6] 李应池,王晓霞,邱桐,等.川芎嗪对鼠骨关节炎软骨组织病理学和IL-1 β 表达的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2011,29(7):7-10.
- [7] HE Q Z, ZENG H C, HUANG Y, et al. The type III secretion system (T3SS) of *Chlamydia psittaci* is involved in the host inflammatory response by activating the JNK/ERK signaling pathway[J]. Biomed Research International, 2015:652416.doi:10.1155/2015/652416.
- [8] LIU Y, ZHOU S, ASSAF M, et al. Impact of Renal Impairment on the Pharmacokinetics of Apremilast and Metabolite M12[J]. Clinical Pharmacology in Drug Development, 2016,5(6):469-479.
- [9] LUDIN A, SELA J J, SCHROEDER A, et al. Injection of vascular endothelial growth factor into knee joints induces osteoarthritis in mice [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2013,21(3):491-497.
- [10] JANSEN H, MEFFER R H, BIRKENFELD F, et al. Detection of vascular endothelial growth factor (VEGF) in moderate osteoarthritis in a rabbit model[J]. Annals of Anatomy-anatomischer Anzeiger, 2012,194(5):452-456.
- [11] 李保驰,王维山,董金波,等.MMP-3、MMP-13在骨性关节炎患者滑膜中的表达及意义[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(6):593-596,697.
- [12] HOSHI H, AKAGI R, YAMAGUCHI S, et al. Effect of inhibiting MMP13 and ADAMTS5 by intra-articular injection of small interfering RNA in a surgically induced osteoarthritis model of mice[J]. Cell and Tissue Research, 2017, 368(2):379-387.
- [13] SI H B, ZENG Y, LIU S Y, et al. Intra-articular injection of micro RNA-140 alleviates osteoarthritis progression by modulating extracellular matrix homeostasis in rats[J]. Osteoarthritis & Cartilage, 2017, 25(10):1698-1707.
- [14] 赵千里,王美娟,赵敏,等.关苍术的研究进展[J].中草药,2018,49(16):3797-3803.
- [15] 张白嘉,刘亚欧,刘榴,等.土茯苓及落新妇昔抗炎、镇痛、利尿作用研究[J].中国药理与临床,2004,20(1):11-12.
- [16] GAO Y, HOU R, LIU F, et al. Obacunone causes sustained expression of MKP-1 thus inactivating p38 MAPK to suppress pro-inflammatory mediators through intracellular MIF[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2017,119(1):837-819.
- [17] 董阳阳,钟泓玲,钱成,等.川黄柏的化学成分及药理活性研究进展[J].西北药学杂志,2018,33(5):710-712.
- [18] 王志旺,魏舒畅,冯祥瑞,等.不同提取工艺所得当归精油镇痛抗炎作用的对比研究[J].中药药理与临床,2012,28(5):87-90.
- [19] 吴国泰,王瑞琼,杜丽东,等.当归挥发油药理作用研究进展[J].甘肃中医药大学学报,2018,35(4):87-92.
- [20] 尹震花,赵晨,张娟娟,等.光皮木瓜的化学成分及药理活性研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(9):221-229.
- [21] HAN Y K, KIM Y S, NATARAJAN S B, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Chaenomeles sinensis* leaf extracts on LPS-stimulated RAW 264.7 cells[J]. Molecules, 2016, 21(4):422.
- [22] 陈宇.独活化学成分研究进展.辽宁中医药大学学报[J].2014,16(5):255-256.
- [23] 周刚,马宝花.中药独活的研究进展.中国当代医药[J].2012,19(16):15-16.

(本文编辑 杨 瑛)