

牛耳枫提取物的抗炎作用

宋青¹, 朱粉霞², 李冬玉^{2,3}, 张浩², 陈家全^{3*}

(1. 西安交通大学第一附属医院妇产科, 陕西 西安 710061; 2. 江苏省中医药研究院, 国家中医药管理局中药释药系统重点研究室, 江苏 南京 210028; 3. 中国药科大学分析化学教研室, 江苏 南京 210009)

摘要:**目的** 研究牛耳枫 *Daphniphyllum calycinum* Benth 提取物的体内外抗炎作用及其作用机制。**方法** 以脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 模型和小鼠内毒素血症模型观察牛耳枫提取物对 NO、肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白细胞介素 IL-1 β 及 IL-10 水平的影响。MTT 法检测牛耳枫提取物对 RAW264.7 巨噬细胞的毒性。50 只雌性 BALB/c 小鼠灌胃牛耳枫提取物, 14 d 后小鼠腹腔注射 LPS, 用 Griess 和 ELISA 试剂盒对血清中 NO、TNF- α 、IL-1 β 及 IL-10 水平进行测定, 免疫组化法研究小鼠肝脏中 NO 和 TNF- α 蛋白的表达。**结果** 牛耳枫提取物可显著抑制 NO、TNF- α 、IL-1 β 及 IL-10 的释放, 免疫组化结果显示提取物可抑制一氧化氮合成酶 (iNOS) 和 TNF- α 蛋白的表达。**结论** 牛耳枫提取物抗炎作用显著, 其机制可能与减少炎症因子的释放有关。

关键词: 牛耳枫; 抗炎; 脂多糖; RAW264.7 巨噬细胞; 内毒素血症

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2017)09-1771-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.09.003

Anti-inflammatory effects of *Daphniphyllum calycinum* extract

SONG Qing¹, ZHU Fen-xia², LI Dong-yu^{2,3}, ZHANG Hao², CHEN Jia-quan^{3*}

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; 2. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Meteria Medica, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 3. Department of Analytical Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the *in vitro* and *in vivo* anti-inflammatory effects of extract from *Daphniphyllum calycinum* Benth and its mechanism of action. **METHODS** LPS-induced mouse RAW264.7 macrophage and mouse endotoxemia model were used to observe the influences of *D. calycinum* extract on the levels of NO, TNF- α , IL-1 β and IL-10. The toxicity of *D. calycinum* extract on RAW264.7 macrophage was determined by MTT assay. Fifty female BALB/c mice were administered with *D. calycinum* extract by gavage. Fourteen days later, the mice were intraperitoneally injected with LPS, the levels of NO, TNF- α , IL-1 β and IL-10 in serum were determined by Griess and ELISA kit. The protein expressions of NO and TNF- α in mouse liver were studied by immunohistochemistry method. **RESULTS** *D. calycinum* extract could significantly inhibit the release of NO, TNF- α , IL-1 β and IL-10. Immunohistochemistry results showed that the extract could inhibit the protein expressions of iNOS and TNF- α . **CONCLUSION** *D. calycinum* extract has a significant anti-inflammatory effect, and its mechanism may be related to decreasing the release of inflammatory factors.

KEY WORDS: *Daphniphyllum calycinum* Benth; anti-inflammatory; lipopolysaccharide; RAW264.7 macrophage; endotoxemia

牛耳枫 (*Daphniphyllum calycinum* Benth) 又名楠属植物, 常绿灌木, 夏、秋两季可采收, 晒干或南岭虎皮楠、山羊屎、牛耳铃等, 为虎皮楠科虎皮鲜用, 其广泛分布于海南、广西、广东等地, 为黎

收稿日期: 2017-04-19
作者简介: 宋青 (1976—), 女, 博士, 副主任医师, 从事妇产科以及抗炎相关研究。Tel: (029)85323838, E-mail: songqing@mail.xjtu.edu.cn
* 通信作者: 陈家全, 副教授, 从事中药药效物质基础和质量控制研究。E-mail: brunochen@cpu.edu.cn

族、壮族的常用药材^[14]。该植物具有清热解毒、祛风活血、止痛消肿之功效，主治风湿骨痛、无名肿痛、跌打骨折、毒蛇咬伤、久痢，临床上常用于治疗急性胃肠炎、消化不良等胃肠疾病^[5-7]。国内外关于牛耳枫的研究也有相关报道，但大多集中于化学成分研究^[8-11]，对于药理药效等方面的关注较少，其体内外抗炎作用及机制均不清楚。本实验拟建立脂多糖诱导 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型和小鼠内毒素血症模型，通过研究牛耳枫提取物的体内外抗炎作用及其机制，为其开发提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 药材及试剂 牛耳枫（批次 150201，广西荔浦陈氏原生中草药种植有限公司）经朱粉霞副研究员鉴定为交让木科交让木属植物牛耳枫的干燥带叶茎枝。DMEM 不完全高糖培养基、HyClone 胎牛血清、胰蛋白酶、 $1 \times \text{PBS}$ 、MTT（南京凯基生物科技发展有限公司）；Griess 试剂、DMSO、LPS（美国 Sigma-Aldrich 公司）；乙醇、 NaNO_2 （南京南澳科技有限公司）；小鼠 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 ELISA 试剂盒（杭州联科生物技术有限公司）；EliVision plus 试剂盒、DAB Kit、多聚赖氨酸（福州迈新生物科技有限公司）；苏木素染色液（南京建成有限公司）；中性树胶（国药集团化学试剂有限公司）。二甲苯、甲醇、枸橼酸三钠等其他试剂均为国产分析纯。

1.2 动物和细胞株 清洁级健康雌性 BALB/c 小鼠，体质量 $18 \sim 22 \text{ g}$ ，由江苏省中医药研究院实验动物中心提供，实验动物许可证号 SCXK（沪）2015-0005；小鼠 RAW264.7 巨噬细胞，购自中国科学院上海细胞库。

1.3 仪器 CO_2 细胞培养箱（美国 Thermo Fisher 科技有限公司）；紫外消毒车（江苏巨光光电科技有限公司）；超净台（苏州净化设备有限公司）；LDZX-50KB 立式压力蒸汽灭菌器（安海申安医疗器械厂）；高速冷冻离心机（美国 Beckman 公司）；HH-60 数显恒温水浴锅（北京国华电器有限责任公司）；Nikon Eclipse TS100 倒置显微镜（日本 Nikon 公司）；Mettler Toledo 分析天平（Mettler Toledo 分析仪器公司）；全自动酶标仪（美国 Thermo Fisher 科技公司）；Milli-Q 纯水机（美国 Millipore 公司）；细胞计数器（XB-K-25， $1/400 \text{ mm}^2$ ）；切片机（美国 Reichert HistoSTAT 公司）；孵箱（上海精宏实验设备有限公司）；烤箱（上海圣欣科学仪器有限公司）；显微镜（日本 Olympus 公司）；

耐高温塑料染色架（福州迈新生物科技有限公司）。

2 方法

2.1 牛耳枫提取物的制备 牛耳枫粉碎，过 3 号筛，10 倍量 80% 乙醇提取 2 次，每次 1.5 h，过滤，挥干溶剂，得浸膏（得率为 9.94%）。

称取牛耳枫浸膏 5 mg，加入 50 μL DMSO 和 950 μL 不完全高糖 DMEM 培养基，得 5 000 $\mu\text{g/mL}$ 提取物原液，依次稀释，得到质量浓度分别为 500、200、100、50、25、10 $\mu\text{g/mL}$ 的给药溶液，DMSO 终体积分数小于 0.5%。

称取牛耳枫浸膏 60 g，加入 300 mL 0.9% 生理盐水，超声（250 W、33 kHz）溶解，得到 0.20 g/mL 的原液。实验过程中，高剂量组为 4 g/kg，中剂量组为 2 g/kg，低剂量组为 1 g/kg。

2.2 牛耳枫提取物对 RAW264.7 巨噬细胞的影响

2.2.1 RAW264.7 细胞的培养及传代 取小鼠 RAW264.7 巨噬细胞，加入含 10% HyClone 胎牛血清、100 U/mL 青霉素及 100 mg/mL 链霉素的 DMEM 不完全培养基培养，置于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中培养及传代，实验用细胞均处于对数生长期。

2.2.2 MTT 法检测 将处于对数生长期的 RAW264.7 细胞接种于 96 孔培养板中（ $4 \times 10^6/\text{mL}$ ），每组 6 个复孔，每孔含 200 μL 不完全高糖 DMEM 培养基。对照组加入 DMEM 不完全高糖培养基，诱导组加入含 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 的 DMEM 不完全高糖培养基，给药组分别加牛耳枫提取物（10、25、50、100、200、500 $\mu\text{g/mL}$ ）和含 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 的 DMEM 不完全高糖培养基。37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 条件下孵育 24 h 后，加入 20 μL 5 mg/mL MTT 试剂孵育 4 h。弃掉培养液，用 PBS 洗涤细胞 1 次，加入 150 μL DMSO。微波振荡 15 min，用酶标仪在 570 nm 和 490 nm 处测定各孔的吸光度（ D ）。细胞活力

计算公式为细胞活力 = $\frac{(D_{570} - D_{490})_{\text{样品}}}{(D_{570} - D_{490})_{\text{空白}}} \times 100\%$ 。

2.2.3 牛耳枫提取物对炎性介质和细胞因子的影响 RAW264.7 细胞接种于 96 孔培养板中（ $4 \times 10^6/\text{mL}$ ），对照组加入 DMEM 不完全高糖培养基，诱导组加入含 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 的 DMEM 不完全高糖培养基，给药组分别加牛耳枫提取物（10、20、50、100 $\mu\text{g/mL}$ ）和含 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 的 DMEM 不完全高糖培养基。孵育 24 h 后，吸取上清液，分别采用 Griess 和 ELISA 试剂盒进行 NO 和 $\text{TNF-}\alpha$ 、

IL-1 β 及 IL-10 含有量测定,具体方法按试剂盒说明进行。

2.3 牛耳枫提取物对内毒素血症模型小鼠^[12]的影响

2.3.1 小鼠分组及给药 取健康雌性 BALB/c 小鼠 50 只,随机分成 5 组,每组 10 只,给药前自由进食。高、中、低剂量给药组每天按剂量灌胃牛耳枫提取物溶液;空白组和模型组每天灌胃生理盐水,连续 14 d。第 14 天灌胃后 1 h,模型组和给药组分别腹腔注射 10 mg/kg LPS 溶液。空白组腹腔注射等量 0.9% 生理盐水,1 h 后,小鼠摘眼球取血,室温离心,每只小鼠得到 50 μ L 血清,-70 $^{\circ}$ C 保存,备用。分别采用 Griess 和 ELISA 试剂盒进行 NO 和 TNF- α 的含有量测定,具体方法按试剂盒说明进行。

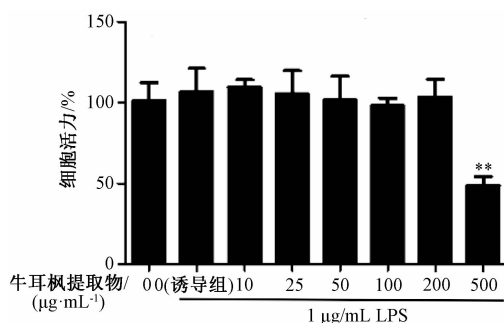
2.3.2 小鼠肝脏处理 将小鼠肝脏取出,直接冻存于 -70 $^{\circ}$ C 中,备用。肝脏免疫组化试验:肝脏切片,60 $^{\circ}$ C 恒温箱中烘烤 60 min 后,二甲苯浸泡 10 min,更换二甲苯再浸泡 10 min,85% 乙醇中浸泡 5 min,70% 乙醇中浸泡 5 min,PBS 浸洗 3 次,每次 3 min。将放有切片的耐高温塑料染色架放入盛有抗原修复缓冲液的烧杯中,煮沸,取出烧杯,置于电热器上保持微沸状态 20 min,烧杯浸入流水中,自然冷却后,PBS 浸洗 3 次,每张切片滴加 2 滴 3% H₂O₂-甲醇溶液,封闭 10 min,PBS 浸洗 3 次,滴加一抗 50 ~ 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 湿盒孵育 2 h,PBS 浸洗 3 次,滴加即用型山羊血清 50 ~ 100 μ L,室温孵育 20 min,滴加增强剂 50 μ L,室温湿盒孵育 30 min,PBS 浸洗 3 次,滴加通用型 IgG 抗体-Fab 段-HRP 多聚体 50 μ L,室温 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,PBS 浸洗 3 次。每张片子加 2 滴新鲜配制的 DAB 溶液,镜下观察染色深浅,染完立即中止,自来水轻柔冲洗 15 min,蒸馏水终止显色反应,切片放入苏木素染液染色 10 min,蒸馏水冲洗干净,分别用 70% 乙醇、85% 乙醇、95% 乙醇、无水乙醇各浸泡 5 min,二甲苯浸泡 10 min,更换二甲苯再浸泡 10 min,晾干后在切片上加中性树胶,加盖玻片。光学显微镜下观察组织细胞中 iNOS 及 TNF- α 蛋白的表达情况,取 3 ~ 4 个高表达区域拍照保存,显微镜的放大倍数为 10 倍 $\times$ 40 倍。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件分析实验结果,数据以平均数 $\pm$ 标准差表示。组间差异采用单因素方差和 Tukey's test 进行分析。 $P < 0.05$ 表示显著差异, $P < 0.01$ 表示极显著差异。

3 结果

3.1 牛耳枫提取物对 RAW264.7 巨噬细胞的作用

3.1.1 对细胞活力的影响 采用 MTT 法检测牛耳枫提取物对巨噬细胞活力的影响,结果如图 1 所示。对照组以及 10、25、50、100、200 μ g/mL 给药组的细胞活性与诱导组 (1 μ g/mL LPS) 相比,无明显差异 ($P > 0.05$),而 500 μ g/mL 给药组的细胞活性与诱导组相比,有显著差异 ($P < 0.01$),表明质量浓度为 10 ~ 200 μ g/mL 的牛耳枫提取物对 LPS 诱导的小鼠 RAW264.7 巨噬细胞没有细胞毒性作用,而 500 μ g/mL 下对细胞损伤较大,故后续实验给药组质量浓度分别设为 10、25、50、100 μ g/mL。



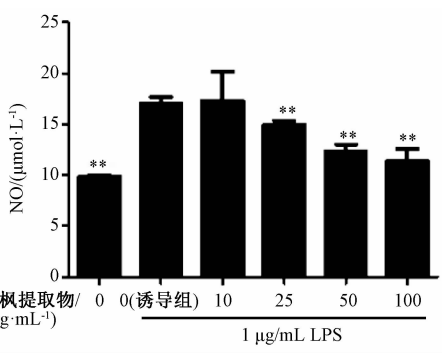
注:与诱导组比较,** $P < 0.01$

图 1 牛耳枫提取物对 RAW264.7 巨噬细胞活力的影响

Fig. 1 Effect of *Daphniphyllum calycinum* Benth extract on the cell viability of RAW264.7 macrophage

3.1.2 对巨噬细胞产生 NO 的影响 采用 Griess 试剂法测定牛耳枫提取物对 RAW264.7 细胞产生 NO 的影响,结果如图 2 所示。诱导组分泌的 NO 稳定氧化代谢产物亚硝酸盐 (NO_2^-) 水平为 (17.03 ± 0.65) μ mol/L,对照组为 (9.86 ± 0.14) μ mol/L,即诱导组细胞产生的 NO 含有量显著高于对照组 ($P < 0.01$)。与诱导组比较,10、25、50、100 μ g/mL 4 个牛耳枫提取物剂量组对 NO 的抑制率分别为 2.34% ($P > 0.05$)、12.29% ($P < 0.01$)、27.42% ($P < 0.01$)、33.11% ($P < 0.01$)。100 μ g/mL 给药组细胞产生的 NO 含有量 [(11.39 ± 1.1) μ mol/L] 非常接近对照组水平。上述结果表明,牛耳枫提取物呈剂量依赖性抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 小鼠巨噬细胞产生 NO,且 100 μ g/mL 牛耳枫提取物对其抑制作用非常明显。

3.1.3 对巨噬细胞产生 TNF- α 、IL-10 和 IL-1 β 的影响 采用 ELISA 试剂盒检测牛耳枫提取物对小鼠 RAW264.7 巨噬细胞产生的 TNF- α 、IL-10 和 IL-1 β 影响,结果如图 3 所示。与诱导组比较,10、

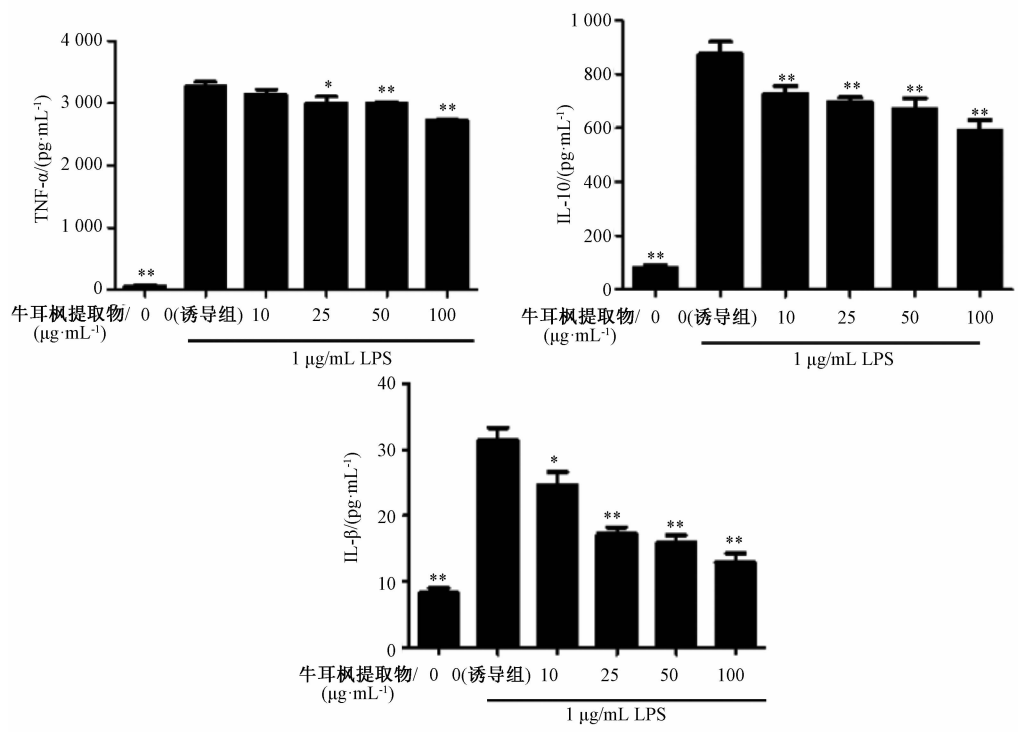


注：与诱导组比较，** $P < 0.01$

图 2 牛耳枫提取物对 LPS 诱导 RAW264.7 巨噬细胞 NO 产生的影响

Fig. 2 Effect of *Daphniphyllum calycinum* Benth extract on NO production in LPS-induced RAW264.7 macrophage

25、50、100 μg/mL 牛耳枫提取物对 TNF-α、IL-10 和 IL-1β 有抑制作用，且对 IL-1β 最强。上述结果表明，牛耳枫提取物在 10 ~ 100 μg/mL 时呈剂量



注：与诱导组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$

图 3 牛耳枫提取物对 LPS 诱导 RAW264.7 巨噬细胞 TNF-α、IL-10 和 IL-1β 的影响

Fig. 3 Effects of *Daphniphyllum calycinum* Benth extract on TNF-α, IL-10 and IL-1β in LPS-induced RAW264.7 macrophage

3.2.2 对内毒素血症模型小鼠体内 TNF-α 含有量的影响 采用 ELISA 试剂盒测定牛耳枫提取物对内毒素血症模型小鼠血清中 TNF-α 的影响，结果如图 5 所示。空白组小鼠血清中的 TNF-α 含有量为 (362.51 ± 193.52) pg/mL，模型组小鼠血清中

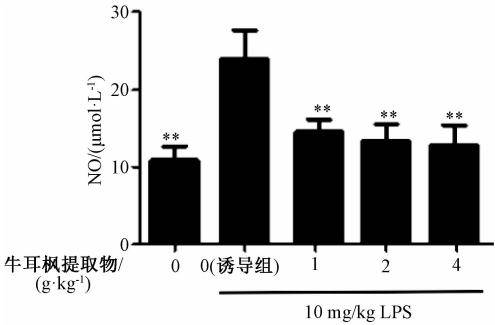
依赖性地抑制了 LPS 诱导的 RAW264.7 小鼠巨噬细胞产生 TNF-α、IL-10 和 IL-1β。

3.2 牛耳枫提取物对内毒素血症模型小鼠的作用

3.2.1 对内毒素血症模型小鼠体内 NO 含有量的影响

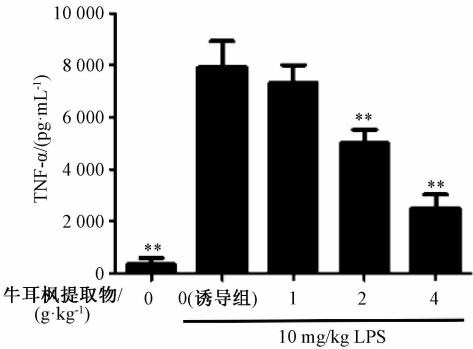
采用 Griess 试剂法测定牛耳枫提取物对内毒素血症模型小鼠中血清 NO 的影响，结果如图 4 所示。空白组小鼠血清中的 NO 含有量为 (9.081 9 ± 1.77) μmol/L，模型组小鼠血清中的 NO 含有量为 (19.95 ± 3.74) μmol/L，即模型组小鼠血清中的 NO 含有量显著高于空白组 ($P < 0.01$)，说明造模成功。低(1 g/kg)、中(2 g/kg)、高(4 g/kg)剂量组的小鼠血清中 NO 含有量与模型组相比有显著差异 ($P < 0.01$)，抑制率分别为 38.36%、42.50% 和 43.12%。上述结果表明，2、4 g/kg 牛耳枫提取物显著抑制了内毒素血症模型小鼠血清中 NO 的含有量，且抑制作用接近。

的 TNF-α 含有量为 (7 933.25 ± 978.68) pg/mL，即模型组小鼠血清中的 TNF-α 含有量显著高于空白组 ($P < 0.01$)，说明造模成功。低剂量组 (1 g/kg) 小鼠血清中 TNF-α 含有量与模型组相比无显著差异 ($P > 0.05$)，而中剂量 (2 g/kg) 和高



注：与诱导组比较，***P* < 0. 01

图 4 牛耳枫提取物对小鼠血清 NO 产生的影响
Fig. 4 Effect of *Daphniphyllum calycinum* Benth extract on NO production in mouse serum



注：与诱导组比较，***P* < 0. 01

图 5 牛耳枫提取物对小鼠血清 TNF-α 水平的影响
Fig. 5 Effect of *Daphniphyllum calycinum* Benth extract on TNF-α level in mouse serum

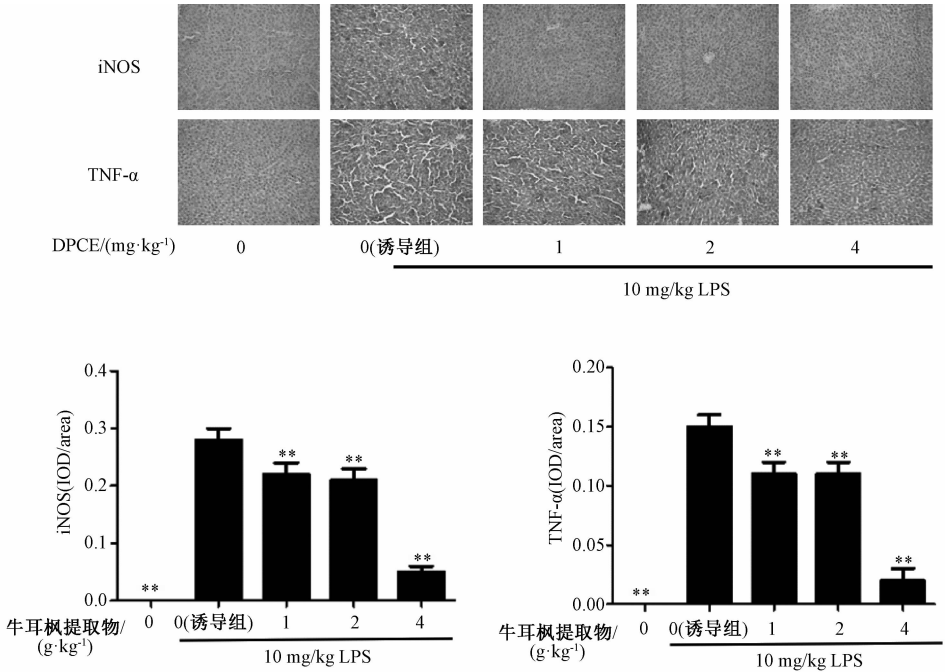
剂量（4 g/kg）组的小鼠血清中 TNF-α 含量极显著低于模型组（*P* < 0. 01），抑制率分别为 37. 03%、65. 59%。上述结果表明，2、4 g/kg 牛耳枫提取物显著抑制了内毒素血症模型小鼠血清中 TNF-α 的含有量。

3. 2. 3 肝脏中 NO 和 TNF-α 蛋白表达 IHC-Envision 法检测牛耳枫提取物抑制 LPS 诱导的小鼠肝脏中 iNOS 和 TNF-α 蛋白的表达，所有免疫组化图片经 IPP（Image-Pro Plus version7. 0）软件在统一条件下测定其平均光密度（IOD/area，IOD 为阳性积分光密度，area 为阳性区域面积）。

结果如图 6 所示。2 组照片中蓝色区域为肝脏正常情况，红褐色区域分别表示肝脏中 2 个炎症因子 iNOS 和 TNF-α 蛋白表达，且红褐色越深，表达越过度。从图中可看出，空白组大部分区域为蓝色，伴有少量红褐色，说明正常肝脏中 iNOS 和 TNF-α 蛋白表达较少；LPS 诱导的模型组中几乎全是红褐色区域，只有少量蓝色部分，说明 LPS 诱导的小鼠内毒素血症模型建立成功；2 组照片中 1~4 g/kg 牛耳枫提取物给药组的红褐色区域呈剂量依赖性减少，蓝色区域相应增加，说明其呈剂量依赖性抑制了肝脏中 iNOS 和 TNF-α 蛋白的表达。

4 讨论

LPS 是革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分，其可激活巨噬细胞释放多种细胞因子〔如肿瘤坏死因



注：与诱导组比较，***P* < 0. 01

图 6 牛耳枫提取物对小鼠肝脏中 iNOS 和 TNF-α 蛋白表达的影响（400 ×）

Fig. 6 Effects of *Daphniphyllum calycinum* Benth extract on the protein expressions of iNOS and TNF-α in mouse liver (400 ×)

子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-10 (IL-10) 等] 及炎性介质 [如一氧化氮 (NO)、前列腺素 E₂ (PGE₂) 等], 从而形成瀑布效应, 导致多种炎症疾病发生, 甚至死亡, 因此 LPS 激活的巨噬细胞以及内毒素血症模型已被广泛用于评价各种物质的抗炎作用。其中, NO 作为一种炎症因子, 可引发炎症部位出现渗出和水肿; TNF- α 可使粘附的中性粒细胞产生呼吸爆发, 并协同其他细胞因子 (IL-1 β 、IL-10 等) 的表达, 使其在致病过程中相互促进^[13-14], 这些都与转录因子 NF- κ B 的调控相关。

本实验首先通过建立 LPS 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 体外炎症模型, 研究了不同质量浓度牛耳枫提取物对细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-10 及炎性介质 NO 分泌的影响。结果显示, 牛耳枫提取物抑制了 TNF- α 、IL-10、IL-1 β 的分泌, 并呈现剂量依赖性。并且在体外实验中, 牛耳枫能够通过调节细胞因子和炎性介质的分泌而发挥抗炎作用。

在体外实验的基础上, 本实验进一步验证了牛耳枫提取物在体内的抗炎作用。通过 LPS 诱导建立了小鼠内毒素血症模型, 研究了牛耳枫提取物对小鼠血清中细胞因子 TNF- α 和炎性介质 NO 分泌的影响。结果显示, 牛耳枫提取物对小鼠血清细胞因子和炎性细胞因子有抑制作用; 免疫组化试验结果表明, 牛耳枫提取物呈剂量依赖性抑制了肝脏中 iNOS 和 TNF- α 蛋白的表达。综上所述, 牛耳枫提取物对小鼠内毒素血症产生较好的预防和治疗作用。

参考文献:

[1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编 (下册) [M]. 北京: 人民出版社, 1978: 114.

[2] 杨卫丽, 刘明生, 毛彩霓, 等. 黎族常用药牛耳枫生药学研究[J]. 海南医学院学报, 2009, 15(5): 401-402.

[3] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准 (第 1 卷) [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008: 63.

[4] 郑才成. 海南黎药发展研究概况[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 13(5): 2-3.

[5] 成 永, 廉云华, 陈 娟. 枫蓼肠胃康颗粒治疗儿童急性肠胃炎所致腹痛 104 例观察[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(21): 105-106.

[6] 张丽青. 枫蓼肠胃康片治疗急性胃肠炎 140 例[J]. 中国中医急症, 2011, 20(9): 1492-1492.

[7] 王兰君. 枫蓼肠胃康胶囊治疗急性胃肠炎的有效性及其安全性[J]. 中成药, 2012, 34(7): 1232-1234.

[8] 张小坡, 张俊清, 裴月湖, 等. 黎药牛耳枫化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2011, 13(10): 26-29.

[9] 李晶晶, 曾东强. 牛耳枫叶甲醇粗提物的生物活性及化学成分研究[J]. 广西大学学报: 自然科学版, 2013, 38(3): 559-568.

[10] 何远景, 陈国彪, 张金花. 高效液相色谱法测定牛耳枫中芦丁的含量[J]. 中国热带医学, 2007, 7(11): 2105-2106.

[11] 李海龙, 刘明生, 张俊清, 等. 牛耳枫药材中总黄酮含量测定[J]. 海南医学. 2012, 23(15): 106-108.

[12] 关 爽. 红景天苷的抗炎作用及其对炎症信号转导通路的调控[D]. 长春: 吉林大学, 2011.

[13] 罗 诚, 吴纯洁, 冉 东, 等. 羊蹄地上部分乙酸乙酯部位的抗炎作用[J]. 中成药, 2016, 38(9): 2042-2045.

[14] 张馨方, 王强松, 崔元璐. 痹祺胶囊提取物对 RAW264.7 细胞模型的抗炎作用[J]. 中成药, 2014, 36(1): 26-30.