

玄参饮片质量控制方法研究

贾成友^{1,2}, 张传辉², 赵凤平¹, 傅亚³, 王云红^{2*}, 杨荣平^{1,2*}

¹成都中医药大学药学院, 成都 611137; ²重庆市中药研究院, 重庆 400065; ³重庆科技学院化学化工学院, 重庆 401331

摘要: 研究中药质量评价中一测多评与指纹图谱结合的考察模式, 以重庆市售玄参饮片为研究对象, 以肉桂酸为参照物建立玄参饮片 HPLC 指纹图谱及其与其余成分的相对校正因子, 并计算其含量, 实现一测多评。结合建立的玄参 HPLC 指纹图谱, 对饮片进行相似度评价, 并进行聚类分析和主成分分析。结果建立了玄参饮片 HPLC 指纹图谱, 标定了 18 个共有峰, 指认了其中 3 个共有峰, 11 批饮片相似度在 0.731 ~ 0.960 之间, 16 批饮片中只有 11 批饮片含量符合药典规定, 并将其有效地区分为三类。结果表明一测多评结合指纹图谱的质量控制模式适合于玄参饮片质量评价, 重庆市售玄参饮片质量参差不齐, 应加强中药饮片的规范化生产。

关键词: 指纹图谱; 含量测定; 聚类分析; 主成分分析; 玄参

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.08.013

Study on Quality Control Method of *Radix scrophulariae* Pieces

JIA Cheng-you^{1,2}, ZHANG Chuan-hui², ZHAO Feng-ping¹, FU Ya³, WANG Yun-hong^{2*}, YANG Rong-ping^{1,2*}

¹College of pharmacy Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; ²Chongqing academy of Chinese Traditional Materia Medica, Chongqing 400065, China; ³College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University of Science and Technology, Chongqing 401331, China

Abstract: To establish a new method for quality evaluation of traditional Chinese medicine by fingerprinting analysis and quantitative analysis of multi-components by single marker method (QAMS). The quality evaluation method was established and validated with the prepared pieces of *Radix scrophulariae* that were commercially available in Chongqing. Cinnamic acid was selected as markers of ingredients to establish HPLC fingerprint and was used as internal reference standard to determine the contents of other 2 components (harpagide, harpagoside) according to the relative correction factor. HPLC fingerprint of *R. scrophulariae* was finally established. All the tested samples contained 18 common characteristic peaks, 3 of which was verified to be harpagide, cinnamic acid and harpagoside. Only 11 of the 16 batches samples conformed to the requirement of pharmacopoeia of Chinese. The similarities of 11 batches of prepared pieces of *R. scrophulariae* were between 0.731-0.960. In addition, the principal component analysis (PCA) showed that samples were divided into 3 groups efficiently. The method of QAMS combined with fingerprinting analysis was to be a new quality evaluation pattern for *R. scrophulariae* pieces. The quality of prepared pieces of *R. scrophulariae* commercially available in Chongqing was uneven. Accordingly, production procedures should be normalized.

Key words: fingerprint; determination; cluster analysis; principal component analysis; *Radix Scrophulariae*

玄参系玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根, 具有凉血滋阴、泻火解毒的功效, 主产于浙江、四川、湖北、安徽、江苏等地。玄参药用历史悠久, 栽培地区广泛, 具有多种类型的种质^[1], 且炮制方法多样, 具有净制、切制、单纯加热制、辅料制等^[2]。2010 年版《中国药典》(一部) 规定玄参饮片中哈巴昔和哈巴俄昔的总量不得少于 0.45%^[3],

鉴于中药成分的复杂性, 多指标成分同时测定也并非能将所有活性成分定量。因此, 本研究在测定 16 批重庆市售玄参饮片中哈巴昔和哈巴俄昔含量的基础上, 对其合格者进行了指纹图谱研究^[4-7], 并采用聚类分析 (Cluster analysis)、主成分分析 (Principal component analysis) 等方法^[8-10] 探究重庆市售玄参饮片质量情况, 以为玄参饮片质量控制和标准提升提供更好的技术手段和科学依据。

收稿日期: 2015-01-19 接受日期: 2015-05-26

基金项目: 国家科技支撑计划 (2011BAI13B03)

* 通讯作者 Tel: 86-23-89029056; E-mail: yangrp@cqacmm.com

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

20A 系列 HPLC 仪(配备二元泵,在线脱气, DAD 检测器,自动进样器,柱温箱,日本岛津公司), CPA 225D 型电子天平(十万分之一,德国 Sartorius 公司), BS 224S 型电子天平(万分之一,德国 Sartorius 公司), DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱(巩义市予华仪器有限责任公司)。

哈巴昔(批号 FY12871128)、哈巴俄昔(批号 FY12861116)对照品购自南通飞宇生物科技有限公司,肉桂酸(批号 110786-200503)对照品购自中国药品生物制品检定所,所有对照品经 HPLC 峰面积归一化法检测纯度均高于 98%,乙腈、甲醇均为色谱纯,磷酸、冰醋酸为分析纯,水为自制超纯水。

1.2 样品来源

玄参饮片购于重庆桐君阁中药批发商及桐君阁药房、万鑫药房、和平药房、康济大药房等各大药店,经重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根。

1.3 实验方法

1.3.1 一测多评法测定肉桂酸、哈巴昔和哈巴俄昔的含量

1.3.1.1 色谱条件

色谱柱: Inertsustain C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱, 0~10 min, 3% B; 10~20 min, 3%~22% B; 20~60 min, 22% B; 60~70 min, 22%~3% B, 进样量 10 μL, 流速 0.8 mL/min, 检测波长 210 nm, 柱温 35 °C。

1.3.1.2 对照品溶液的制备

精密称取经五氧化二磷干燥 10 h 的肉桂酸、哈巴俄昔和哈巴昔对照品适量,加 30% 甲醇制成每 1 mL 含肉桂酸 4.098 μg、哈巴俄昔 9.6 μg、和哈巴昔 58.2 μg 的混合对照品溶液,即得。

1.3.1.3 供试品溶液的制备

取玄参药材粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,密塞,称定重量,浸泡 1 h,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz)45 min,放冷,再称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

笔者在前期研究中已建立采用 HPLC 法同时测定玄参药材及饮片中哈巴昔和哈巴俄昔含量的一测多评评价模式^[11],鉴于已另文发表,这里仅作简要阐述:以肉桂酸为内标物质,按照公式 $f_{s/k} = f_s/f_k =$

$(C_s \times A_k)/(C_k \times A_s)$ (式中 C_s 为内标物浓度, A_s 为内标物峰面积, C_k 为待测成分对照品 k 的浓度, A_k 为待测成分对照品 k 的峰面积) 计算得到肉桂酸对照品和哈巴昔和哈巴俄昔的校正因子(RCF)分别为 $f_{\text{肉桂酸/哈巴昔}} = 0.0607$, $f_{\text{肉桂酸/哈巴俄昔}} = 0.3040$ 。精密吸取肉桂酸系列浓度对照品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,以峰面积(Y)为纵坐标,对照品质量(X, μg)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 6465700X - 4021.3$ ($r = 0.9999$),线性范围 0.008196 ~ 0.122940 μg,结果表明,肉桂酸在相应范围内线性关系良好。

1.3.2 玄参饮片指纹图谱分析

1.3.2.1 色谱条件

色谱柱: Inertsustain C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 1% 冰醋酸水溶液(A)-甲醇(B), 梯度洗脱, 0~20 min, 5%~30% B; 20~40 min, 30%~45% B; 40~50 min, 45%~65% B; 50~60 min, 65%~100% B; 进样量 10 μL, 检测波长 290 nm, 流速 1 mL/min, 柱温 30 °C。

1.3.2.2 对照品溶液的制备

对照品溶液的制备方法同“1.3.1.2”。

1.3.2.3 供试品溶液的制备

取玄参药材粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 20 mL,密塞,称定重量,浸泡 1 h,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz)60 min,放冷,再称定重量,用 80% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

1.3.2.4 精密度试验

精密吸取同一份供试品溶液 10 μL,连续进样 6 次,依法测定,记录峰面积。结果以肉桂酸峰的保留时间和峰面积为对照,各共有峰的相对保留时间和峰面积比值基本一致,其 RSD 均小于 3.0%,相似度均在 0.99 以上,符合指纹图谱技术的要求,表明仪器精密度良好。

1.3.2.5 稳定性试验

分别于 0、4、8、12、24、36 h,精密吸取同一份供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,依法测定,记录峰面积。结果以肉桂酸峰的保留时间和峰面积为对照,各共有峰的相对保留时间和峰面积比值基本一致,其 RSD 均小于 3.0%,相似度均在 0.99 以上,符合指纹图谱技术的要求,表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

1.3.2.6 重复性试验

取同一批次的玄参药材粉末(过三号筛)6份,每份约0.5 g,依法制备供试品溶液,分别进行测定,记录峰面积。结果以肉桂酸峰的保留时间和峰面积为对照,各共有峰的相对保留时间和峰面积比值基本一致,其RSD均小于3.0%,相似度均在0.99以上,符合指纹图谱技术的要求,表明本方法稳定,可靠,具有较好的重复性。

1.3.2.7 耐用性试验

分别考察一定范围内流动相梯度、柱温、检测波长、流速变化,以及采用3根不同的色谱柱 Inertsustain C18、Waters C18、Diamonsil C18(均为4.6 mm × 250 mm, 5 μm)进行测定对仪器色谱行为变化的影响,结果各条件下所测各主要色谱峰相对保留时间RSD在0.812% ~ 2.671%之间,相对峰面积比值RSD在0.99% ~ 2.74%之间,表明本方法具有较好的耐用性。

1.3.3 聚类分析^[8]

根据指纹图谱分析结果,将筛选出的11批玄参饮片主要共有峰面积导入SPSS 19.0软件,采用欧式距离平方、组间平均连接法对11批饮片进行聚类分析。

1.3.4 主成分分析^[9,10]

将11批重庆市售玄参饮片指纹图谱中所确定的主要共有峰面积导入SPSS 19.0软件,依法分析,取特征值较为明显的两个组成成分(方差贡献率≥60%)的得分做向量图,进行主成分分析。

2 结果与分析

2.1 16批玄参饮片中肉桂酸、哈巴昔和哈巴俄昔的含量测定

采用所建立的一测多评法对所购16批玄参饮片中哈巴昔和哈巴俄昔含量进行测定,结果见表1。

表1 玄参饮片中哈巴昔、肉桂酸、哈巴俄昔含量

Table 1 The contents of harpagide, cinnamic acid and harpagoside in *R. scrophulariae* pieces

编号 No.	批次 Batch	百分含量 Content (%)				规格 Specification
		哈巴昔 Harpagide	肉桂酸 Cinnamic acid	哈巴俄昔 Harpagoside	哈巴昔、哈巴俄昔总量 Total amount of harpagide and harpagoside	
1	S1	0.379	0.0432	0.131	0.510	合格
2	S2	0.422	0.0459	0.126	0.548	合格
3	S3	0.534	0.0703	0.140	0.674	合格
4		0.274	0.0658	0.108	0.382	不合格
5	S4	0.453	0.1133	0.173	0.626	合格
6	S5	0.383	0.0583	0.090	0.472	合格
7		0.135	0.0599	0.160	0.295	不合格
8		0.309	0.0243	0.067	0.376	不合格
9		0.258	0.0522	0.097	0.355	不合格
10	S6	0.330	0.1053	0.293	0.623	合格
11	S7	0.123	0.0910	0.374	0.497	合格
12		0.038	0.0534	0.177	0.215	不合格
13	S8	0.302	0.0559	0.152	0.454	合格
14	S9	0.266	0.1351	0.304	0.570	合格
15	S10	0.199	0.0076	0.267	0.466	合格
16	S11	0.422	0.0507	0.127	0.549	合格

由表1可知,16批玄参饮片中只有11批满足2010年版《中国药典》(一部)玄参饮片含量测定项下要求,将合格饮片依次标为S1~S11表示。可见,合格饮片中哈巴昔、肉桂酸和哈巴俄昔含量均高于

不合格者,表明通过指标成分控制饮片质量具有一定的可行性。但合格玄参饮片中哈巴昔、肉桂酸、哈巴俄昔含量及哈巴昔哈巴俄昔总含量的RSD分别为34.22%、52.42%、47.53%、13.41%,表明不同

饮片间哈巴苷、肉桂酸、哈巴俄苷含量的 RSD 差异较大,仅通过指标成分的方法控制药材的质量具有一定的局限性,并非可以反映所有活性成分的信息。

因此,研究拟将一测多评含量测定技术和指纹图谱技术相结合,用于玄参饮片质量控制和评价,旨在进一步探索玄参质量标准提升的科学方法。

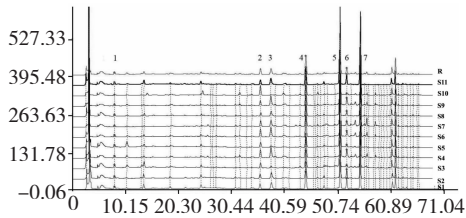


图 1 玄参饮片 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints for 11 batches of *R. scrophulariae* pieces

2.2 玄参的指纹图谱分析

2.2.1 指纹图谱的建立及相似度评价

按照所建立的方法,以肉桂酸为参照物,利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 A 版(国家药典委员会)软件对 11 批合格玄参饮片进行指纹图谱测定,所得 HPLC 指纹图谱及生成的玄参饮片对照指纹图谱见图 1、图 2,相似度计算结果见表 2。

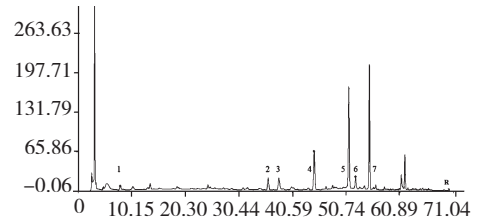


图 2 玄参饮片对照指纹图谱

Fig. 2 Typical fingerprint of *R. scrophulariae* pieces

表 2 相似度计算结果

Table 2 Results of Similarity calculation

批次 Batch	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
相似度 Similarity	0.924	0.911	0.882	0.957	0.859	0.881	0.939	0.960	0.886	0.801	0.731

2.2.2 共有特征峰的标定与色谱峰归属

对各批饮片进行特征图谱分析,共标定了 53 个共有峰,确定了 18 个主要共有指纹峰,峰面积结果

见表 3。指定了其中 7 个指纹图谱共有峰,并对 1、5、7 号色谱峰进行指认,分别为哈巴苷,肉桂酸和哈巴俄苷。

表 3 玄参饮片指纹图谱共有峰峰面积

Table 3 Peak area of common peaks in fingerprint of *R. scrophulariae* pieces

共有峰 Common peak	玄参饮片批次 Batches of <i>R. scrophulariae</i> pieces											RSD (%)
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	
1	143489	130196	178443	153130	131281	114904	50331	106273	94848	143399	74069	30.8
2	84714	79531	192967	158974	403115	76027	51681	79759	108239	58498	22512	88.3
3	228866	206906	326399	93105	154037	110263	47343	136415	67916	237075	3817	65.3
4	218210	213364	132817	103914	123193	120808	62086	102123	69430	162025	56525	44.6
5	265355	235850	293890	462404	301209	453601	348237	192282	280505	279509	557961	33.4
6	482495	452136	128320	775306	127241	681422	464527	402782	706371	488119	38090	56.9
7	84697	71419	65464	158037	52340	177349	131281	96451	136619	62696	180932	43.2
8	1096111	935214	1053281	1237614	829618	1231260	1253743	1237150	1162346	1024206	1107345	12.5
9	63922	99613	105194	80372	74149	85540	114684	94764	96165	58344	166417	31.1
10	198590	179279	176373	88789	169501	86587	99594	153390	91502	157047	108558	30.9
11	66409	59254	176839	120554	129223	128865	146876	63128	140364	34918	194747	45.2
12	73537	69159	182822	119709	123548	130629	174384	84921	128580	61725	118180	35.0
13	1612340	1520110	2471034	3978926	2049257	3699548	3196017	1963736	4743417	1780796	268109	52.4

14	508835	442098	115781	540810	110420	332804	438833	285226	564539	514891	136209	48.7
15	1461942	1519032	1620693	2018557	1031966	3430699	4389125	1666105	3564820	1472836	3126398	48.6
16	10860	5784	96374	201085	36267	227469	403807	21945	172339	14092	86466	107.5
17	350457	308299	391721	439269	399584	388527	407793	335169	366686	324119	267506	13.9
18	485991	457144	867673	658455	720235	674135	955645	501205	674734	462766	394686	29.0

经指纹图谱分析发现,11批玄参饮片相似度在0.731~0.960之间,除S11相似度为0.731外,其余10批次饮片整体上具有良好的相似性。然而,18个主要共有峰面积RSD在12.5%~107.5%之间,非共有峰面积的比例在21.7%~41.4%之间,表明不同批次玄参饮片的化学成分种类和含量均存在一定的差异性,药材质量参差不齐,仅仅利用相似度及峰面积RSD等方法无法全面客观地体现饮片之间存在的差异性和一致性。因此,拟采用CA和PCA相结合的方法对11批饮片进行共有模式识别研究。

2.3 聚类结果分析

采用上文方法,将18个主要共有峰面积导入SPSS 19.0软件进行聚类分析,结果如图3所示。

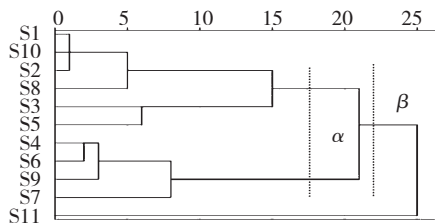


图3 聚类分析结果

Fig. 3 Results of cluster analysis

由图3可知,以 α 线为界,饮片可聚类为3类: I (S1、S10、S2、S8、S3、S5), II (S4、S6、S9、S7), III (S11)。其中, S1、S10、S2与S8聚为一类后又与S3、S5聚为一类,表明饮片S1、S10、S2、S8、S3、S5之间具有一定的统一性; I类中, S1、S10、S2聚为一类, S3、S5聚为一类, S8单独聚为一类,表明同一类别中饮片又存在一定的差异性。同样, S4、S6与S9聚为一类后又与S7聚为一类形成II,说明它们之间既有一定的统一性又存在一定的差异性。以 β 线为界,饮片可聚类为2类, S11被单独的分为一类(产地为浙江,其他饮片均来自川渝地区),其余样品被聚为另一类。根据前文计算结果, S11中哈巴昔与哈巴俄昔总含量为0.549%,高于S1、S2、S7、S8、S10,但与对照指纹图谱比较相似度为仅为0.731,表明通过指标成分控制药材质量具有局限性,不同产地的饮片之间存

在着较大的地域性差异,聚类分析对玄参进行化学模式识别具有一定的科学道理。

2.4 主成分结果分析

采用上文方法,将18个主要共有峰面积导入SPSS 19.0软件,取特征值较为明显的两个组成成分(方差贡献率63.62%)的得分做向量图,结果如图3所示。

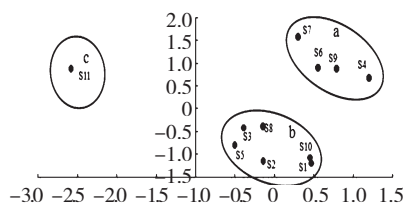


图4 主成分分析结果

Fig. 4 Results of principal component analysis

由图4可知,11批饮片相对集中地分散于3个部分, S4、S6、S7、S9集中于a部分, S1、S2、S3、S5、S8、S10集中于b部分, S11远离其它批次集中于c部分。a、b、c之间相对偏离较大,表明彼此之间成分差异性较大,该分析结果与聚类分析结果具有一致性。其中, a部分4个点分布较为离散,表明对应4个批次的饮片间存在着一定的差异性; b部分又可以相对地分为两部分: S10与S1极为接近,表明对应的饮片具有显著地相似性, S2、S3、S5、S8同样具有一定的相似性,表明S10与S1之间, S2、S3与S5、S8饮片之间成分较为接近,但是每一点之间又相对离散,说明各饮片之间存在一定的差异性; S11因哈巴昔与哈巴俄昔总含量较高而单独归为一类。可知,主成分分析在一定程度上反映了玄参饮片之间存在的统一性及差异性,与聚类分析吻合性较好。

3 结论

重庆市售16批玄参饮片中只有11批饮含量符合2010年版《中国药典》规定,合格率仅为68.75%,说明目前药材市场上玄参饮片质量参差不齐。笔者经过文献调研发现影响玄参质量的因素有很多,归纳起来主要有:玄参药材生产过程中缺少质量

管理规范,不能从源头上控制中药饮片质量,导致药材不能达到“真实、优质、稳定、可控”的标准;中药材市场经营缺乏规范化管理,一些不法商贩为牟取暴利以假掺杂或以次充好;玄参成分复杂,成分相互之间会发生很多化学反应,外界条件稍有变化,即可能造成其成分存在明显差异;玄参系大宗药材,经常与其他药材混合存储,储存条件落后且重庆地区多高温高湿天气,易于产生虫害和霉变而影响药材质量。以上种种皆可归根于生产缺少规范化标准,如饮片在炮制中可能存在炮制不规范、质量标准不统一等问题,笔者呼吁相关部门加大对玄参饮片炮制、质量检验地规范化管理。

一测多评法作为一种全新的多指标质量评价模式,实现了在对照品缺失的情况下,完成多指标成分定量,达到真正对中药内在质量进行有效表征、综合评价和全面控制的目的,对于中药的质量控制和评价模式具有重要作用。本研究在一测多评测定玄参饮片多指标成分含量的基础上,建立了玄参饮片的指纹图谱,并结合聚类分析、主成分分析方法对玄参的质量进行综合全面地评价,为玄参饮片质量的控制和评价提供更好的技术参考,为玄参饮片质量标准的提高研究提供了科学依据。

参考文献

- Chen DX(陈大霞), Li LY(李隆云), Peng R(彭锐), et al. Analysis of genetic difference among *Scrophularia ningpoensis* cultivars by SRAP. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2009, 34: 138-142.
- Zhang FK(张发科), Lv QT(吕青涛), Sun XM(孙秀梅), et al. The analysis of *Radix scrophulariae* processing history. *Shandong J Tradit Chin Med*(山东中医杂志), 2007, 26: 337-339.
- Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*(中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 109.
- State Drug Administration(国家药品监督管理局). An announcement of technical specifications for fingerprints of Chinese medical injection study, Temporary Execution. *Drug Stand China*(中国药品标准), 2000, 1(4): 3-7.
- Dong L(董礼), Xu L(许蕾), Zhou YQ(周永强), et al. Application of chromatographic fingerprint in traditional Chinese medicine injections. *Mod Med Health*(现代医药卫生), 2011, 27: 1830-1832.
- Liu HY(刘洪宇), Cai TQ(蔡铁全). A comparative study of HPLC fingerprints of *Radix Scrophulariae*. *Chin Med Mat*(中药材), 2006, 29: 1295-1299.
- Zhang H(张慧), Lv JL(吕洁丽), Zhang C(张崇), et al. Chemical fingerprinting of water extracts of *Radix angelicae Dahuricae* using high performance liquid chromatography. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2013, 25: 506-510.
- Wang Y(王砚), Wang SL(王书林). HPLC fingerprinting and cluster analysis of *Bupleurum* plants. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2014, 26: 704-708.
- Zhao G(赵刚), Du W(杜玮), Wei YH(魏玉辉), et al. HPLC-ELSD fingerprints of Yinhuang preparations. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2009, 40: 1053-1056.
- Cui HH(崔红花), Guo J(郭娇), Gao YH(高幼衡), et al. Principal component cluster analysis for *Citrus medica* var. *sarcodactylia* fruits and fingerprint identification of medicinal plants in *Citrus* L. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2010, 41: 978-984.
- Zhang CH(张传辉), Chen XC(陈小川), Fu Y(傅亚), et al. Optimization of processing technology for *Scrophularia ningpoensis* by QAMS. *World Sci Technol/Mod Tradit Chin Med Mater Med*(世界科学技术-中医药现代化), 2015, 17: 254-260.
- Deng LF(邓廉复), Chai BF(柴本甫), Yang QM(杨庆铭). Effects of tumor necrosis factor- α on proliferation and RNA expression of human osteoarthritic synoviocytes. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 1998, 14: 506-508.
- Li YN(李忆农). Cytokines and osteoarthritis. *Chin J Rheumatol*(中华风湿病学杂志), 2000, 4: 56-58.
- Jin DD(金大地), Sun W(孙炜), Wang JX(王吉兴), et al. Potential clinical evaluation of nitric oxide synthase inhibitor for the treatment of osteoarthritis. *Chin J Orthop*(中华骨科杂志), 2002, 22: 367-371.
- Yang XJ(杨晓军), Miao WL(苗文丽), Pei L(裴林), et al. Influence of the Tianxing Jiangu recipe on the serum interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha of adjuvant arthritis in rats. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*(中国中医基础医学杂志), 2013, 19: 1284-1286.
- Xu SY(徐叔云), Bian RL(卞如濂), Chen X(陈修). *Methodology in Pharmacological Experiment*, Third Edition. Beijing: People's Health Publishing House, 2003. 1785.

(上接第 1395 页)