基于肥大细胞的浙江蜡梅精油缓解类风湿性关节炎功效研究

李枢航,王文翠,姚　雷*

上海交通大学设计学院,上海 200240

摘　要:为探究浙江蜡梅精油对类风湿性关节炎中肥大细胞活化的抑制作用及主要单体的功效性,采用水蒸气蒸馏法提取精油,GC-MS 检测精油成分,利用 CCK-8 法检验精油与主成分对细胞的毒性,使用 C48/80 刺激肥大细胞活化,通过 ELISA 法检测精油和主成分对肥大细胞活化的影响。结果表明,浙江蜡梅的主要成分为桉叶油醇;精油及桉叶油醇在低、中、高浓度下均能抑制肥大细胞脱颗粒,使细胞因子释放量显著降低;相同浓度下,精油对肥大细胞脱颗粒及细胞因子的抑制作用优于桉叶油醇。可推测浙江蜡梅精油应具有缓解类风湿性关节炎的效果,其中的主成分桉叶油醇发挥重要作用。

关键词:精油;浙江蜡梅;类风湿性关节炎;肥大细胞;桉叶油醇;脱颗粒

中图分类号:R965　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1001-6880(2022)Suppl-0033-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.S.005

An study on the anti-rheumatoid arthritis effects of *Chimonanthus zhejiangensis* essential oil based on human mast cells

LI Shu-hang, WANG Wen-cui, YAO Lei*

School of Design, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: This study is aimed to explore the inhibitory effect of essential oil from *Chimonanthus zhejiangensis* on mast cell activation in rheumatoid arthritis and the efficacy of its main monomer. The essential oil was extracted by hydrodistillation, and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the volatile chemical compositions and determine the content of the main component. The cell toxicity of essential oil and the main component was tested by cell counting kit 8 (CCK-8). LAD2 was stimulated by C48/80. The degranulation and release of cytokines from LAD2 at different concentrations of essential oil and its main component were detected by linked immunosorbent assay (ELISA). The positive drug methotrexate was selected as the control. The results showed that the main component of essential oil from *C. zhejiangensis* was eucalyptol, and its content was 0.805 g/mL; essential oil and eucalyptol could inhibit mast cell degranulation at low, medium and high concentrations, and significantly reduced the release of cytokines including IL-4, IL-8, TNF-α and VEGF; the inhibitory effect of essential oil was better than that of eucalyptol at the same concentration, which was close to the effect of the positive drug. In a conclusion, both the essential oil from *C. zhejiangensis* and eucalyptol can inhibit the degranulation and inflammatory reaction of mast cells. It can be inferred that the essential oil from *C. zhejiangensis* has the effect on relieving rheumatoid arthritis, in which eucalyptol plays an important role as the main component.

Key words: essential oil; *Chimonanthus zhejiangensis*; rheumatoid arthritis; mast cells; eucalyptol; degranulation

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性、炎性、系统性的全身性自身免疫疾病,目前广泛存在于世界各地区和各种族,世界成年人 RA 发病率高达 1%,国内成年人 RA 发病率已达 0.34%[1]。症状严重可导致关节软骨损害和侵蚀,造成关节畸形和功能丧失,严重损害病人的身心健康[2,3]。RA 的发病机制非常复杂,近年来,肥大细胞(mast cells, MCs)在 RA 中的作用逐渐受到关注。肥大细胞是先天免疫系统的重要组成部分[4,5],通过多种途径参与 RA 的发病过程,其由自身抗体 IgE/FCγR 无序激活造成的异常脱颗粒是 RA 致病的重要因素[6]。MCs 激活脱颗粒后迅速释放到滑

收稿日期:2021-07-07　　接受日期:2021-08-17

基金项目:精油成分测定、分析、评价与功效研究横向项目(17H100000466)

*通信作者 Tel:86-013801837763;E-mail:yaolei@sjtu.edu.cn

天然产物研究与开发

膜液中的效应因子会引起关节腔内环境变化,导致RA炎症反应和组织损伤[7-9]。以MCs为核心的靶向治疗成为RA治疗的新方向[6],目前,抑制MCs活化及脱颗粒的新途径仍在探索中。

浙江蜡梅(*Chimonanthus zhejiangensis*)为蜡梅科(Calycanthaceae)蜡梅属(*Chimonanthus*)植物,其叶片是畲药食凉茶的重要原料。食凉茶作为一种历史悠久的传统畲药,具有抗炎、祛湿、增强免疫的功效[10],其中的挥发性成分与其功效密切相关,是食凉茶药材质量标准控制指标之一[11]。有学者对浙江蜡梅精油成分进行分析[12],其中成分桉叶油醇已有文献指出具有抗炎、镇痛等功效,可作用于多种免疫细胞发挥抗炎作用[13],治疗风湿病、肺炎等多种疾病,缓解炎症反应[14,15],但目前关于浙江蜡梅精油对肥大细胞的作用、缓解类风湿性关节炎的功效尚无报道。

本研究旨在探究浙江蜡梅精油与其主要成分对肥大细胞活化及脱颗粒的抑制作用,为类风湿性关节炎等与肥大细胞相关的炎症反应的辅助治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料

新鲜浙江蜡梅叶片于2020年12月采自福建省宁德市寿宁县。

1.1.2 细胞株

人肥大细胞系(LAD2)购自上海帅岳实业有限公司。

1.1.3 药物与试剂

桉叶油醇(E809036,上海麦克林生化科技有限公司);甲氨蝶呤(A600612-0001,生工生物工程(上海)股份有限公司);C48/80(C2313,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司);RPMI-1640培养基(生工生物工程(上海)股份有限公司);胎牛血清(C0234,美国Gibco公司);细胞培养用青霉素-链霉素(60162ES76,翌圣生物科技有限公司);二甲基亚砜(ST038,上海泰坦科技股份有限公司);CCK-8细胞增殖检测试剂盒(HY1210,上海恒远生物科技有限公司);人类胰蛋白酶(TPS)ELISA试剂盒(HB1059-Hu,上海恒远生物科技有限公司);人白细胞介素-4(IL-4)ELISA试剂盒(HB1949-Hu,上海恒远生物科技有限公司);人白细胞介素-8(IL-8)ELISA试剂盒(HB1944-Hu,上海恒远生物科技有限公司);人肿瘤坏死因子α(TNF-α)ELISA试剂盒(HB090-Hu,上海恒远生物科技有限公司);人血管内皮生长因子(VEGF)ELISA试剂盒(HB2473-Hu,上海恒远生物科技有限公司)。

1.1.4 仪器

水蒸气蒸馏装置(实验室自制);7890B-5977A气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司);DHG-9145A鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);HHB11500S电热恒温培养箱(上海博泰实验设备有限公司);Multiskan Go全波长酶标仪(上海赛默飞仪器有限公司);CA-1390-1垂直层流洁净工作台(上海上净净化设备有限公司);HF151 CO_2 培养箱(上海力申科学仪器有限公司);L550离心机(长沙湘仪仪器有限公司);BM-37XB显微镜(上海光学仪器厂);BSG.24型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 浙江蜡梅精油主要成分分析与定量

1.2.1.1 浙江蜡梅精油的提取与主要成分分析

称取新鲜浙江蜡梅枝叶500 g,剪碎处理后放置于5 L圆底烧瓶,加入3.5 L水后220 ℃加热5 h,至精油量不再增加,停止加热,收集油水分离器上层油层保存。

利用GC-MS(气相色谱质谱联用)分析其主成分。气相色谱条件:使用DB-WAX(30 m×250 μm×0.25 μm)色谱柱,以高纯氦气(99.999%)为载气,流速1 mL/min,程序升温(50 ℃维持3 min,再以4 ℃/min升至120 ℃,维持10 min,最后以2 ℃/min升至220 ℃,维持2 min),进样口260 ℃,进样量1.0 μL,分流比为10∶1。离子源:230 ℃,四级杆:150 ℃,检测器电压:2 047 V,电离方式:EI^+,70 eV,扫描方式:全扫描。

1.2.1.2 标准曲线的测定

取4 μL浙江蜡梅精油于棕色瓶中,加入乙醇、正己烷(1∶1)定容至1 mL,稀释精油样品。分别取1、2、4、6、10 μL桉叶油醇标准样品,用乙醇、正己烷(1∶1)将样品定容至1 mL,稀释成一系列不同浓度的标准溶液,进行GC-MS分析,以峰面积(Y)为纵坐标,标准样品体积浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,进行线性回归。

1.2.2 LAD2细胞的培养

配置89% RPMI-1640培养基、10%胎牛血清、1%链霉素-青霉素的细胞培养液,培养LAD2细胞

天然产物研究与开发

于37℃、5% CO_2 培养箱中。选择处于对数期生长良好的细胞用于实验。

1.2.3　细胞毒性检测

将 LAD2 细胞以 5×10^4 个每孔接种于 96 孔板,静置 1 h 后,加入 50 μL 各浓度精油或桉叶油醇,使孔内最终浓度为 0.1、10、100、200、500、1 000、1 500 μg/mL,同时设置对照组(仅 RPMI-1640 培养基)和空白组(细胞加 RPMI-1640 培养基),每组设3个复孔。置于培养箱中继续培养 4 h 后,每孔加入 10 μL CCK-8 孵育 6 h,于酶标仪 450 nm 波长处测定吸光度(OD 值),按照以下公式计算细胞存活率。

$$细胞存活率 = [(OD_{样品}-OD_{对照})/(OD_{空白}-OD_{对照})]\times100\%$$

1.2.4　LAD2 活化脱颗粒及细胞因子分泌的影响

将 LAD2 细胞以 2×10^5 个每孔接种于 24 孔板,静置 1 h 后,加入 50 μL 各浓度精油及相应浓度桉叶油醇,置于培养箱中继续培养 4 h 后,加入致敏剂 100 μg/mL C48/80 刺激细胞 1 h,诱导其活化脱颗粒。实验设置空白组(RPMI-1640 培养基)、模型组(C48/80)、阳性药物组(20 μg/mL 甲氨蝶呤)、各浓度样品组(0.1、100、500 μg/mL 浙江蜡梅精油及相应浓度桉叶油醇),每组设 4 个复孔。4 ℃,1 000 g 离心 10 min,除去细胞碎片,收集上清液。利用 ELISA 法测定上清中的各指标含量。

$$细胞因子释放率 = 样品组释放量/模型组释放量\times100\%$$

1.3　统计学处理

利用 Microsoft Excel 2019 制作标准曲线。数据以均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 Graphpad Prism 8 进行统计学分析,组间比较采用单因素方差分析。

2　结果与分析

2.1　浙江蜡梅精油主要成分分析

对浙江蜡梅精油进行 GC-MS 成分分析,共鉴定出 39 种成分,其中相对百分含量大于 1% 的成分共 9 种,相对含量占精油总成分的 93.359 3%,具体成分见表 1。根据 GC-MS 分析结果,桉叶油醇(79.209 2%)是浙江蜡梅精油的主要成分。

表 1　浙江蜡梅精油主要成分

Table 1　The main compounds of essential oil from *C. zhejiangensis*

序号 No.	CAS 登录号 CAS registry number	化合物名称 Compound name	相对百分含量 Relative content(%)
1	7785-70-8	α-蒎烯 α-Pinene	2.447 7
2	1817-67-3	β-蒎烯 β-Pinene	1.064 4
3	123-35-3	月桂烯 Myrcene	1.287 5
4	5989-27-5	柠檬烯 Dipentene	1.027 3
5	470-82-6	桉叶油醇 Eucalyptol	79.209 2
6	78-70-6	芳樟醇 Linalool	1.364 6
7	80-26-2	乙酸松油酯 Terpinyl acetate	1.144 3
8	10482-56-1	α-松油醇 α-Terpineol	4.423 7
9	28254-53-7	喘诺木烯内酯 Reynosin	1.390 6

注:表中仅列出相对含量 > 1% 的化学成分。

Note: Only the chemical components with relative content > 1% are listed in the table.

2.2　浙江蜡梅精油中桉叶油醇的定量分析

得到线性回归方程 $Y = 180\ 454\ 073.93\ X + 426\ 878\ 555.52$,$R^2 = 0.98$(图 1),结果表明标准品在相应浓度范围内线性关系良好。根据线性回归方程进行计算,浙江蜡梅精油中桉叶油醇含量为 0.805 g/mL。

2.3　浙江蜡梅精油与桉叶油醇的细胞毒性

浙江蜡梅精油与桉叶油醇的细胞毒性如图 2 所示。利用不同浓度样品处理LAD2细胞后,发现精油与桉叶油醇浓度在 0.1 ~ 500 μg/mL 浓度范围内对 LAD2 细胞生长与未处理组无显著差异($P > 0.05$),但分别于 1 000、1 500 μg/mL 时发现对细胞生长有明显抑制($P < 0.05$)。故确定精油与桉叶油醇的安全浓度范围为 0.1 ~ 500 μg/mL,从低到高选择 a、b、c 三个浓度进行实验,分别为 0.1、100、500 μg/mL 浙江蜡梅精油与其中相应浓度的桉叶油醇(0.08、80.5、402.5 μg/mL)。

天然产物研究与开发

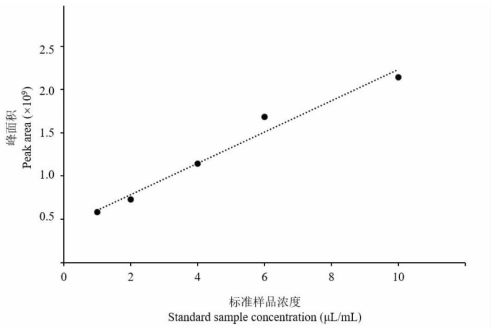

图 1 标准曲线

Fig. 1 Standard curve

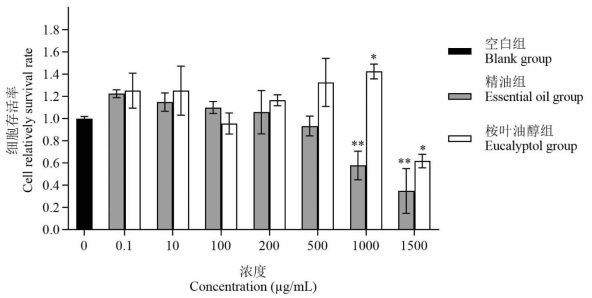

图 2 对 LAD2 细胞毒性的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect on cytotoxicity of LAD2 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与空白组比较,$^{*}P < 0.05$,$^{**}P < 0.01$。Note: Compared with blank group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$.

2.4 浙江蜡梅精油与桉叶油醇对 LAD2 细胞活化脱颗粒的影响

对 LAD2 细胞脱颗粒影响如图 3 所示。与空白组相比,C48/80诱导LAD2细胞发生脱颗粒,模型组类胰蛋白酶释放量显著提高($P < 0.001$);与模型组相比,各处理组类胰蛋白酶释放量均显著下降($P < 0.01$)。低、中、高浓度精油可显著抑制类胰蛋白酶的释放,抑制率为 17.07%(500 μg/mL)~18.92%(0.1 μg/mL),效果均不如阳性药,且不同浓度作用无显著差异($P > 0.05$)。低、中、高浓度桉叶油醇的抑制率分别为 16.80%、10.99%、7.12%,抑制作用随浓度增加而下降,且不同浓度间有显著差异($P < 0.01$)。低浓度精油和桉叶油醇对脱颗粒的抑制作用无显著差异,但中、高浓度精油抑制作用明显高于同浓度桉叶油醇($P < 0.01$)。推测中、高浓度精油中存在其他成分同时抑制肥大细胞脱颗粒。

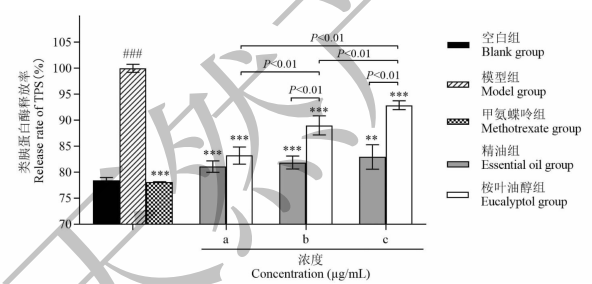

图 3 对 LAD2 细胞脱颗粒的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 3 Effect on cell degranulation of LAD2 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

注:a、b、c 为浓度梯度,相应精油和桉叶油醇浓度分别为:a:0.1、0.08 μg/mL;b:100、80.5 μg/mL;c:500、402.5 μg/mL。与空白组比较,$^{\#\#\#}P < 0.001$;与模型组比较,$^{**}P < 0.01$,$^{***}P < 0.001$。下同。Note: a, b and c are the concentration gradients, and the corresponding concentrations of essential oil and eucalyptol are respectively: a: 0.1, 0.08 μg/mL; b: 100, 80.5 μg/mL; c: 500, 402.5 μg/mL. Compared with blank group, $^{\#\#\#}P < 0.001$; Compared with model group, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$. The same below.

2.5 浙江蜡梅精油与桉叶油醇对 LAD2 细胞释放细胞因子的影响

浙江蜡梅精油与桉叶油醇对 LAD2 细胞释放细胞因子的影响见图 4。与空白组相比,C48/80 可以明显促进 LAD2 细胞各细胞因子的分泌($P < 0.01$),各处理组均可明显抑制细胞因子的分泌($P < 0.01$)。其中,低、中、高浓度精油对 IL-4 的抑制率分别为 18.86%、18.05%、32.75%,低、中浓度精油与阳性药效果相当,高浓度精油作用可优于阳性药,且中、高浓度精油间有显著差异($P < 0.01$),表明精油浓度在 100 μg/mL 以上时对 IL-4 的抑制作用有随浓度增大而增强的趋势。桉叶油醇对 IL-4 的抑制率为 5.65%(0.08 μg/mL)~25.03%(402.5 μg/mL),各浓度间作用有显著性差异,抑制作用与浓度变化成正比(图4A)。低、中、高浓度精油对 IL-8 的抑制率分别为 22.98%、14.23%、18.17%,中、高浓度精油效果接近阳性药,低浓度精油效果优于阳性药,且低、中浓度精油组间有显著差异,精油浓度在 100 μg/mL 以下时对 IL-8 的抑制作用有随浓度增大而减小的趋势。桉叶油醇对 IL-8 的抑制率为 7.56%(402.5 μg/mL)~16.90%(0.08 μg/mL),抑制作用有随浓度增大而减小的趋势(图4B)。精油与桉叶油醇对 IL-4、IL-8 的抑制作用均随浓度变化有相同趋势,低、高浓度精油抑制作用明显高于桉叶油醇($P < 0.01$)。低、中、高浓度精油对 TNF-α 的抑制率分别为 21.76%、31.01%、29.27%,低浓度精油效果不如阳性药,中、高浓度精油效果接近阳性药,精油浓度在 100 μg/mL 以下时对 TNF-α 的抑制作用有随浓度增大而增强的趋势。桉叶油醇对 TNF-α 的抑制率为 10.24%(402.5 μg/mL)~

天然产物研究与开发

22.24%(0.08 μg/mL),抑制作用有随浓度增大而减小的趋势(图4C)。精油与桉叶油醇对 TNF-α 的作用随浓度变化趋势不同,且中、高浓度精油抑制作用明显高于桉叶油醇($P<0.01$),低浓度精油和桉叶油醇作用效果无显著差异。推测精油浓度大于 100 μg/mL 时存在其他成分同时对 TNF-α 发挥抑制效果。低、中、高浓度精油对 VEGF 的抑制率分别为 14.65%、16.21%、16.15%,效果均不如阳性药,且各浓度精油间没有显著差异($P>0.05$)。桉叶油醇对 VEGF 的抑制率为 9.45%(402.5 μg/mL)~20.82%(0.08 μg/mL),抑制作用有随浓度增大而减小的趋势(图4D)。低浓度桉叶油醇抑制作用明显强于精油,高浓度精油作用明显强于桉叶油醇,中浓度精油与桉叶油醇作用无显著差异。推测低浓度浙江蜡梅精油中桉叶油醇作为主要成分对 VEGF 的释放发挥抑制作用,中、高浓度精油中存在其他成分同时发挥抑制效果。

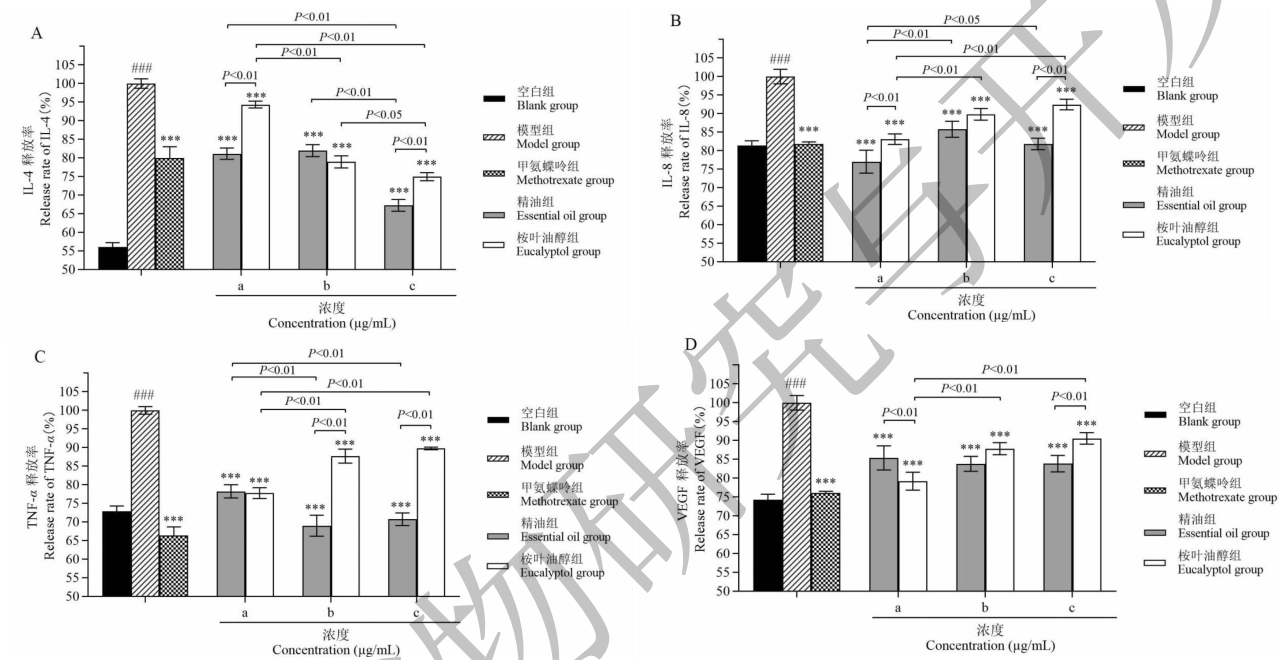

图4　对 LAD2 细胞因子释放的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 4　Effect on the release of LAD2 cytokines ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

3　讨论与结论

近年来有多项研究对浙江蜡梅精油进行提取与成分分析,结果存在一定差异,但多含有一些共性成分。本研究得到的浙江蜡梅精油中所鉴定的 α-蒎烯、β-蒎烯、桉叶油醇、芳樟醇、月桂烯、柠檬烯等成分在之前研究中均有检出。多项研究表明,浙江蜡梅精油中桉叶油醇含量最高,在 Chen 等[12]与 Yang 等[16]的研究中,桉叶油醇含量分别达到 19.26% 和 17.13%,樟脑含量分别为 11.65% 和 2.14%,异龙脑含量分别为 1.29% 和 2.14%。本研究中鉴定浙江蜡梅精油中桉叶油醇含量为 79.21%,但樟脑、异龙脑含量很低(小于 1%),分析原因可能与植物材料取样季节、地点、提取方式等条件的差异有关。

目前,对于浙江蜡梅精油的功效研究较少,但桉叶油醇作为一种单萜常用于治疗呼吸系统疾病,其抗炎活性受到广泛关注。有国外研究报道桉叶油醇对多种免疫细胞细胞因子的分泌有抑制作用。Juergens 等[13]研究发现 1.5 μg/mL 桉叶油醇可以抑制人淋巴细胞中 TNF-α、IL-1β、IL-4、IL-5 和单核细胞中 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8 的产生。同时,桉叶油醇可以抑制支气管哮喘患者血液单核细胞产生 LTB4 和 PGE2,表明桉叶油醇可以抑制 AA 代谢的 LTB4 和 PGE2 通路[17]。此外,桉叶油醇可以显著降低急性肺损伤后肺组织中 TNF-α 和 IL-1β 的水平,减少中性粒细胞、巨噬细胞的数量[14]。实验结果表明,浙江蜡梅精油的主要成分为桉叶油醇,推测浙江蜡梅精油具有潜在的抗炎活性,本研究也证实了这一点。

本研究表明,浙江蜡梅精油的安全浓度为 0.1~500 μg/mL,在该浓度范围内精油及其主要成分

天然产物研究与开发

桉叶油醇均对肥大细胞的脱颗粒活化有抑制作用。不同浓度精油对肥大细胞脱颗粒与细胞生长因子 VEGF 的抑制作用差别不大,推测其作用在 0.1 ~ 500 μg/mL 范围内不受浓度影响。但精油对炎症因子的作用明显受浓度影响,且对不同因子的作用存在差异。高浓度精油对 IL-4 与 TNF-α 抑制作用更强,且对细胞各因子作用效果均明显优于高浓度桉叶油醇;低浓度精油对 IL-8 表现强于阳性药的最佳抑制效果,且对 IL-4、IL-8、TNF-α 的抑制明显强于低浓度桉叶油醇。总体来看,相同浓度下精油对肥大细胞活化的抑制作用强于桉叶油醇。推测浙江蜡梅精油中除桉叶油醇外存在其他成分对肥大细胞活化发挥抑制作用。精油中鉴定到的芳樟醇、柠檬烯、α-蒎烯的相关研究也印证了这一推测。芳樟醇能够抑制体内外炎症因子的产生,并作用于免疫细胞发挥抗炎作用。Huo 等[18]研究发现,芳樟醇可降低脂多糖刺激的 RAW 264.7(单核巨噬细胞)和小鼠体内肺损伤模型炎症中 TNF-α 和 IL-6 水平。Wu 等[19]研究表明芳樟醇可减少肺中性粒细胞的积聚,降低肺部细胞中 TNF-α 和 IL-6 水平,缓解肺部炎症。柠檬烯可降低大鼠结肠炎模型中 IL-1β、IL-6、TNF-α 含量,减少 PGE2 的产生,并通过调节 iNOS、COX-2 等信号通路发挥抗炎功效[20]。α-蒎烯可作为一种抗过敏剂用于过敏性鼻炎的治疗。Nam 等[21]发现 α-蒎烯可降低脾脏淋巴细胞中 IL-4 的表达,减少鼻腔粘膜中 IgE、TNF-α、ICAM-1 及巨噬细胞炎症蛋白-2 的含量,同时抑制过敏反应发生后嗜酸性粒细胞与肥大细胞数量的异常增加。此外,α-蒎烯可抑制人类肥大细胞系 HMC-1 致敏后磷酸化 RIP2、IKK-β、NF-κB 及 caspase-1 的活性。由此可见,α-蒎烯对肥大细胞活化与炎症反应的产生具有一定抑制作用。推测芳樟醇、柠檬烯、α-蒎烯可能作为浙江蜡梅中的有效成分同时参与抑制肥大细胞活化。

综上所述,浙江蜡梅精油可以抑制肥大细胞脱颗粒及细胞因子释放,其主要成分桉叶油醇发挥重要作用。同时,精油中仍有其他成分发挥作用,其功效还有待进一步探究。浙江蜡梅精油作为一种安全性高、使用便捷的植物天然提取物,有希望作为缓解类风湿性关节炎辅助治疗制剂,具有很高的开发价值,同时可能对其他与肥大细胞相关的病症也具有一定的作用,但其作用机制还有待进一步研究。

参考文献

1 Xie XQ, Wang YL, Luo SS, et al. Pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. World Latest Med Inf(世界最新医学信息文摘),2019,19(71):109-111.

2 Noack M, Miossec P. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis[J]. Semin Immunopathol,2017,39:365-383.

3 Wang X, He X, Zhang C F, et al. Anti-arthritic effect of berberine on adjuvant-induced rheumatoid arthritis in rats[J]. Biomed Pharmacother,2017,89:887-893.

4 Zhou XY, Chu Y. Mast cells and rheumatoid arthritis[J]. J Changzhou Univ:Nat Sci(常州大学学报:自科版),2016,28(6):28-31.

5 Guo Q, Tang Y, Yan BL, et al. Research on relationship between serum mast cell carboxypetidase levels and bronchial asthma[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志),2017,33:1713-1715.

6 Wen XS, Wang MJ, Wang XY. Effects of mast cells in rheumatoid arthritis[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志),2020,36:1522-1526.

7 Kritas SK, Saggini A, Varvara G, et al. Mast cell involvement in rheumatoid arthritis[J]. J Biol Regul Homeost Agents,2013,27(3):655.

8 Suurmond J, Van der Velden D, Kuiper J, et al. Mast cells in rheumatic disease[J]. Eur J Pharmacol,2016,778:116-124.

9 Nigrovic PA, Lee DM. Synovial mast cells:role in acute and chronic arthritis[J]. Immunol Rev,2010,217(1):19-37.

10 Zhu WP, Liu LH. A review of Shiliangcha prescription of She medicine[J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药杂志),2011,20(7):40.

11 Wang WY, Mao JH, Yu HL, et al. Improvement of quality standard of traditional She medicine-Shiliangcha[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊),2016,34(1):204-207.

12 Chen JY, Liu CL, Li YY, et al. Extraction optimization and chemical compositions of volatile oil from *Chimonanthus zhejiangensis* leaves[J]. J West China For Sci(西部林业科学),2020,49(2):24-29.

13 Juergens UR, Engelen T, Racké K, et al. Inhibitory activity of 1,8-cineol(eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes.[J]. Pulm Pharmacol Ther,2004,17:281-287.

14 Lima PR, Melo TD, Carvalho KM, et al. 1,8-cineole(eucalyptol) ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis via modulation of cytokines, oxidative stress and NF-κB activity in mice[J]. Life Sci,2013,92:1195-1201.

(下转第 62 页)

天然产物研究与开发