

文章编号: 1674-8085(2020)05-0092-06

云南松松塔对肺纤维化大鼠炎症因子的作用

李彩虹, 李银蕊, 胡 赞, 母育成, 李春艳, *陈俊雅

(大理大学药学与化学学院, 云南, 大理 671000)

摘要: **目的** 探讨云南松松塔提取物 (Extracts from the pinecone of *Pinus yunnanensis*, PE) 对肺纤维化大鼠血清炎症因子水平的影响。**方法** SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性组 (5 mg/kg 醋酸泼尼松龙) 及 PE 高、中、低剂量组 (200、100、50 mg/kg)。采用气管内一次性注射 0.2 mL 博来霉素生理盐水溶液 (5 mg/kg) 建立大鼠肺纤维化模型, 假手术组气管内给予 0.2 mL 无菌生理盐水。造模后第 2 d 开始给予相应药物, 分别于实验第 7、14、28 d, 处死 1/3 的大鼠, 测定大鼠肺系数, 酶联免疫吸附试验 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 测定血清中羟脯氨酸 (Hydroxyproline, HYP)、转化生长因子 beta 1 (Transform growth factor beta 1, TGF- β 1)、肿瘤坏死因子 alpha (Tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 的含量, 苏木素-伊红 (Hematoxylin-eosin, HE) 染色考察肺脏组织病理学变化。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠在第 7、14、28 d 肺系数、血清 HYP、TGF- β 1、TNF- α 含量均明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, PE 中、高剂量组可以不同程度的减小肺系数 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 降低血清中 TGF- β 1、TNF- α 及 HYP 含量 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。HE 染色显示 PE 中、高剂量组大鼠肺泡结构损伤及炎性细胞浸润均较模型组明显减轻。**结论** 云南松松塔可以改善博来霉素诱导肺纤维化大鼠的炎症反应和胶原沉积情况。

关键词: 肺纤维化; 云南松松塔; 转化生长因子 β 1; 肿瘤坏死因子 α ; 羟脯氨酸

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2020.05.016

EFFECT OF THE PINECONE OF *PINUS YUNNANENSIS* ON INFLAMMATORY FACTORS IN RATS WITH PULMONARY FIBROSIS

LI Cai-hong, LI Yin-rui, HU Zan, MU Yu-cheng, LI Chun-yan, *CHEN Jun-ya

(College of Pharmacology and Chemistry, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

Abstract Objective: To study the effects of the extracts from pinecone of *Pinus yunnanensis* on inflammatory factors of rats with pulmonary fibrosis. **Methods:** SD rats were randomly divided into sham-operated group, model group, positive group (5 mg/kg prednisolone) and PE high, middle and low dosage groups (200, 100, 50 mg/kg). The pulmonary fibrosis model was established by intratracheally administration 0.2 mL bleomycin (5 mg/kg), and the rats in sham-operated group were given 0.2 mL normal saline. The corresponding drugs were administrated to the rats from the 2nd day, and then the 1/3 rats in each group were sacrificed to the 7th, 14th and 28th d, respectively. Finally, the lung index was determined. The contents of HYP, TGF- β 1, TNF- α in serum were determined through ELISA, and histopathological change was investigated by HE staining. **Results:** The lung index, contents of HYP, TGF- β 1, TNF- α in serum of rats in model group were significantly increased

收稿日期: 2020-02-26; 修改日期: 2020-04-17

基金项目: 云南省科技厅应用基础研究青年项目 (2017FD137); 大理大学大学生科研基金项目(KYSX201682)

作者简介: 李彩虹(1996-), 女, 青海西宁市人, 大理大学药学与化学学院药学专业 2014 级本科生(E-mail:3142936275@qq.com);

李银蕊(1997-), 女, 云南昆明人, 大理大学药学与化学学院药理学专业 2019 级研究生(E-mail:18760968074@163.com);

胡 赞(1996-), 男, 陕西汉中, 大理大学药学与化学学院药学专业 2014 级本科生(E-mail:1135468696@qq.com);

母育成(1996-), 男, 四川广元人, 硕士生, 主要从事中药药理学研究(E-mail:1281635327@qq.com);

李春艳(1982-), 女, 云南临沧人, 讲师, 硕士, 主要从事中药药理学研究(E-mail:lcyanyan@126.com);

* 陈俊雅(1986-), 男, 河南周口人, 实验师, 硕士, 主要从事中药药理学研究(E-mail:langcjy@126.com).

($P < 0.05$, $P < 0.01$) compared with sham-operated group. Compared with the model group, the lung index, the contents of TGF- β 1, TNF- α and HYP in PE high and middle dose groups decreased apparently ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Histopathological sections showed damaged alveolar structure and inflammatory cells infiltration were alleviated in PE middle and high groups compared with the model group. **Conclusion:** The pinecone of *P. yunnanensis* could ameliorate lung fibrosis, inflammatory response and collagen deposition in rats with pulmonary fibrosis induced by bleomycin.

Key words: pulmonary fibrosis; pinecone of *Pinus yunnanensis*; transform growth factor β 1; tumor necrosis factor α ; hydroxyproline

特发性肺纤维化 (Idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种限制性肺间质疾病, 在其发展过程中, 常伴随间质性肺炎在组织结构上的发展, 成纤维细胞灶中纤维原细胞和肌成纤维细胞的积聚, 以及炎症因子浸润和胶原过度沉积等病理学改变。病人常因肺泡毛细血管的纤维化而导致呼吸障碍甚至导致死亡^[1], 确诊后中位生存期仅有 2~3 年^[2]。由于该疾病缺乏有效治疗手段, 且预后较差, 日益引起学界重视。

云南松 (*Pinus Yunnanensis* Franch.) 是我国西南林区的主要树种之一, 主要生长在海拔 600~3100 m 地带。云南松松塔是云南松的球果, 味甘、苦、性温、无毒^[3]。前期研究发现, 云南松松塔提取物可降低肺纤维化大鼠肺组织匀浆中丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量, 增强总抗氧化能力 (Total-antioxidant capacity, T-AOC), 从而减轻博来霉素导致的肺纤维化大鼠肺组织氧化应激损伤, 改善肺组织的弹性、质地及肿胀程度^[4]。因此本试验采用气管内一次性注射博来霉素建立肺纤维化大鼠模型, 通过考察不同时间点肺纤维化大鼠组织病理学改变, 血清中 HYP、TNF- α 以及 TGF- β 1 含量的变化, 进一步探讨云南松松塔提取物对肺纤维化大鼠炎症因子的影响, 从而揭示其抗肺纤维化作用机制。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂

药材采自云南省大理白族自治州大理市苍山东坡斜阳峰, 经大理大学药学与化学学院刘光明教授鉴定为松科松属植物云南松的松塔。松塔经自然晾干后粉碎, 用 95%乙醇浸泡 3 次, 1%氢氧

化钠提取, 过滤; 滤液分别用 1 倍量、2 倍量、5 倍量 95%乙醇沉淀, 合并沉淀物, 减压干燥, 得到云南松松塔提取物 (Extracts from the pinecone of *P. yunnanensis*, PE)。博来霉素 (浙江海正辉瑞, 批号: 16037911), 醋酸泼尼松龙片 (上海上药信谊, 批号: 017160801), 大鼠 TGF- β 1 ELISA 试剂盒 (深圳欣博盛, 批号: R170418-107a), 大鼠 TNF- α ELISA 试剂盒 (深圳欣博盛, 批号: R170418-102a), 羟脯氨酸测试盒 (南京建成, 批号: 20170413)。

1.2 动物

SPF 级 Sprague Dawley (SD) 大鼠 144 只, 雌雄各半, 体质量(180 \pm 20) g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 动物许可证号: SCXK (湘) 2014-0005。试验前, 大鼠适应性饲养 1 周, 自由饮水饮食。

1.3 仪器

JR-30 鼠恒温实验台 (成都泰盟), Biotek 全波长酶标仪 (Biotek 公司), EL104 电子天平 (梅特勒-托利多), 莱卡 DM2000 显微镜 (德国莱卡), DHP-9272B 电热恒温培养箱 (上海一恒)。

1.4 方法

1.4.1 模型制备与分组给药

SD 大鼠根据体重随机分为假手术组、模型组、阳性组、PE 低、中、高剂量组, 每组雌雄各半。实验前大鼠肌肉注射 20%乌拉坦溶液麻醉, 固定于大鼠恒温实验台上, 颈正中部位切口并暴露气管, 除假手术组外, 所有大鼠气管内一次性注入博来霉素 (5 mg/kg) 溶液 0.2 mL, 假手术组注入等量生理盐水, 迅速缝合肌肉层和皮肤层, 然后将大鼠直立并轻轻旋转恒温实验台 15 s, 以使药液在肺内分布均匀^[5]。造模次日开始给药,

阳性组灌胃 5 mg/kg 醋酸泼尼松龙溶液, PE 低、中、高剂量组分别灌胃 50、100、200 mg/kg 云南松松塔提取物溶液, 模型组灌胃等量生理盐水, 各组均按 0.2 mL/10 g 体重连续给药, 1 次/d, 假手术组不给药, 然后分别于实验第 7、14、28 d, 分别处死 1/3 大鼠。

1.4.2 大鼠肺系数测定

每批大鼠处死后, 迅速摘取肺组织, 预冷生理盐水漂洗污血, 滤纸吸干水分并称重, 按照下式计算肺系数: 肺系数=肺重(mg)/体重(g)。

1.4.3 血清 TGF- β 1、TNF- α 及 HYP 含量测定

给药结束后, 乌拉坦麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 4 °C 条件下 3000 rpm 离心 10 min, 取上清, -80 °C 分装保存, 按照试剂盒说明书测定血清中 TGF- β 1、TNF- α 及 HYP 的含量。

1.4.4 组织病理学检查

取大鼠左肺上叶固定于 10% 福尔马林溶液, 乙醇脱水, 石蜡包埋, 4 μ m 切片, 常规 HE 染色, 显微镜下观察大鼠组织病理学变化。

1.5 统计学分析方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计学处理, 数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组均数比较采用 t 检验, 多组均数比较采用单因素方差分析 (One Way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺组织病理学变化

HE 染色发现 (图 1), 假手术组大鼠肺组织切片肺泡结构完整, 边界清晰, 肺泡间隔正常, 肺泡内及肺泡间隔无明显炎症细胞。模型组大鼠肺泡壁急剧增厚, 实变区增多, 肺泡结构紊乱近乎消失, 呈弥漫性肺纤维化, 且随时间延长纤维化程度逐渐加重。阳性组及 PE 低、中、高剂量组肺组织有不同程度的肺泡间隔变宽, 肺泡结构破坏以及炎性细胞浸润, 但远较模型组轻, PE 低剂量组大鼠肺组织在第 28 d 出现较明显纤维化。

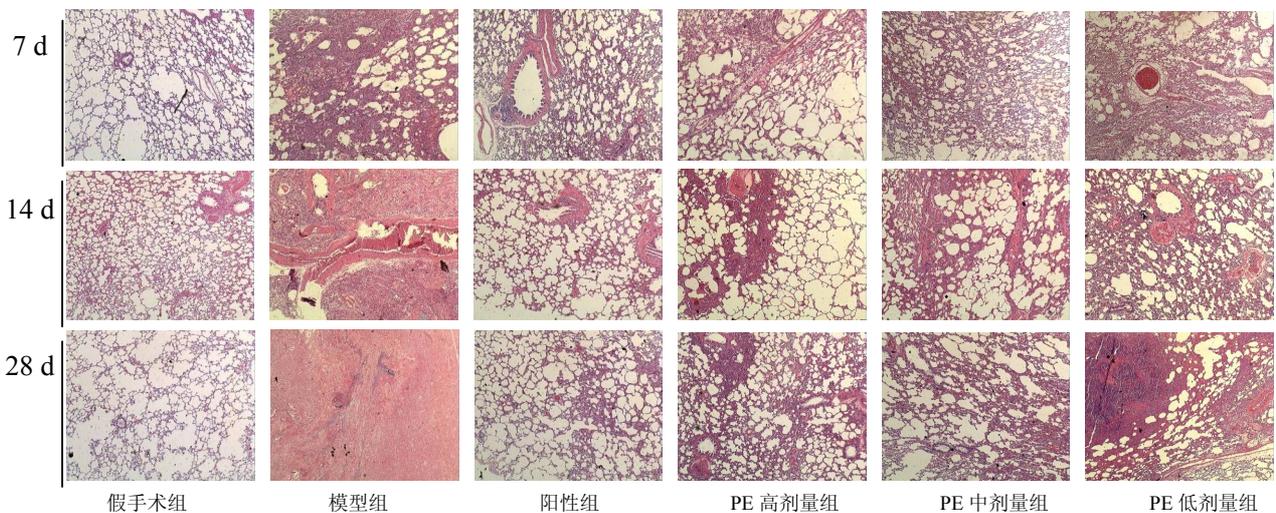


图 1 大鼠肺组织病理学变化 (HE, $\times 100$)
Fig. 1 Histopathological changes of lung tissues

2.2 肺系数

与假手术组比较 (表 1), 在第 7、14、28 d 三个时间点, 模型组大鼠肺系数均显著高于假手术组 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性组、PE 高和中剂量组在第 7、14、28 d 的肺系数均降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表 1 大鼠肺系数变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Table 1 Lung index of rats		肺系数 (mg/g)		
组别	剂量 (mg/kg)	7 d	14 d	28 d
假手术组	—	5.69 \pm 0.76	5.99 \pm 0.50	6.22 \pm 0.32
模型组	—	11.9 \pm 1.97**	14.3 \pm 1.64**	16.3 \pm 1.36**
阳性组	5	6.64 \pm 0.95###	7.43 \pm 1.68#	8.05 \pm 1.52#
PE 高剂量组	200	6.89 \pm 1.26###	8.23 \pm 1.45#	8.33 \pm 1.02#
PE 中剂量组	100	7.89 \pm 0.93###	8.40 \pm 2.14#	9.23 \pm 1.33#
PE 低剂量组	50	9.31 \pm 0.98*	11.0 \pm 2.04*	11.5 \pm 2.45*

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.3 血清 TGF- β 1 含量测定

与假手术组比较(表 2), 模型组大鼠血清 TGF- β 1 含量在第 7、14、28 d 均明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性组及 PE 高、中剂量组大鼠血清 TGF- β 1 含量在第 14、28 d 明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 2 PE 对大鼠血清中 TGF- β 1 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of PE on TGF- β 1 in serum of rats

组别	剂量 (mg/kg)	TGF- β 1 (pg/mL)		
		7 d	14 d	28 d
假手术组	—	150.6 \pm 16.4	148.4 \pm 17.9	129.2 \pm 9.34
模型组	—	210.3 \pm 25.7*	265.9 \pm 34.8**	313.2 \pm 34.7**
阳性组	5	157.4 \pm 16.2#	168.3 \pm 14.0###	155.3 \pm 14.2###
PE 高剂量组	200	169.8 \pm 8.50#	140.4 \pm 14.3###	156.4 \pm 31.4###
PE 中剂量组	100	219.1 \pm 14.4*	184.5 \pm 14.1#	200.0 \pm 31.7**###
PE 低剂量组	50	201.9 \pm 22.8*	213.5 \pm 12.4*	276.5 \pm 10.9**

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较,

$P < 0.05$, ### $P < 0.01$

2.4 血清 TNF- α 含量测定

与假手术组比较(表 3), 模型组大鼠血清 TNF- α 含量在第 7、14、28 d 均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠血清 TNF- α 含量在第 7、14、28 d 三个时间点(PE 低剂量组在第 7 d 除外)均明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 3 PE 对大鼠血清中 TNF- α 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of PE on TNF- α in serum of rats

组别	剂量 (mg/kg)	TNF- α (pg/mL)		
		7 d	14 d	28 d
假手术组	—	66.39 \pm 12.6	69.70 \pm 13.1	77.14 \pm 12.8
模型组	—	80.89 \pm 18.8**	91.54 \pm 13.1**	102.02 \pm 24.7**
阳性组	5	70.00 \pm 12.64###	74.28 \pm 8.27###	81.47 \pm 14.4###
松塔高剂量组	200	69.44 \pm 13.21###	71.00 \pm 15.18###	76.64 \pm 7.51###
松塔中剂量组	100	68.36 \pm 16.3###	70.53 \pm 15.07###	82.13 \pm 18.1###
松塔低剂量组	50	75.78 \pm 15.37**	72.47 \pm 8.12###	86.89 \pm 3.78#

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较,

$P < 0.05$, ### $P < 0.01$

2.5 血清 HYP 含量测定

与假手术组比较(表 4), 模型组大鼠血清 HYP 含量在第 14、28 d 明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性组、PE 高剂量组在第 14、28 d 三个时间点的 HYP 含量均明显降低 ($P < 0.01$)。

表 4 PE 对大鼠血清中 HYP 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of PE on HYP in serum of rats

组别	剂量 (mg/kg)	HYP (μ g/mL)		
		7 d	14 d	28 d
假手术组	—	13.61 \pm 3.10	12.58 \pm 1.17	12.96 \pm 2.41
模型组	—	18.50 \pm 5.43	24.97 \pm 4.93**	28.35 \pm 3.75**
阳性组	5	13.88 \pm 2.02	15.00 \pm 0.87###	17.43 \pm 1.06###
PE 高剂量组	200	14.02 \pm 2.01	16.59 \pm 1.73###	18.31 \pm 1.08###
PE 中剂量组	100	16.08 \pm 2.55	17.81 \pm 2.43#	23.03 \pm 2.88*
PE 低剂量组	50	18.11 \pm 3.08	22.07 \pm 5.38**	25.66 \pm 2.18*

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较,

$P < 0.05$, ### $P < 0.01$

3 讨论

试验采用气管内一次性注射博来霉素建立肺纤维化大鼠模型。博来霉素常作为化疗药物可用于治疗癌症, 但具有明显的肺脏毒性, 易导致肺损伤和纤维化等^[6]。正常情况下, 博来霉素由博来霉素水解酶代谢, 但是肺脏中水解酶的缺乏导致肺脏对博来霉素的毒性非常敏感^[7]。高浓度博来霉素可以引起 DNA 链断裂, 产生自由基, 诱导氧化应激并最终导致细胞坏死和/或凋亡^[8]。前期研究表明, 云南松塔可降低博来霉素诱导的肺纤维化大鼠肺组织匀浆 MDA 含量, 提高 T-AOC 活力, 从而减轻氧化应激损伤, 改善肺组织质地及减轻肿胀程度。肺系数的高低是反映肺纤维化程度、肺实变的最直观指标之一^[9]。结果显示, 与假手术组比较, 大鼠模型组在第 7、14、28 d 三个时间点的肺系数均明显增大; 与模型组比较, 各给药组(PE 低剂量组除外)在三个时间点的肺系数均明显减小, 说明肺纤维化模型制备成功。

博来霉素能够引起大鼠肺组织急性炎症, 促进巨噬细胞等炎症细胞的聚集以及成纤维细胞的激活^[10]。肺组织病理学检查结果显示, 肺纤维化模型大鼠肺泡壁增厚, 结构被破坏, 且可见炎性细胞浸润及弥漫性肺纤维化, 随时间延长纤维化程度逐渐加重; 与相同时间点的模型组相比, PE 中、高剂量组均表现出肺泡结构损伤及肺泡间隔增厚程度明显减轻, 炎性细胞浸润减少, 纤维化程度降低。

在肺纤维化进程中,核因子 kappaB (Nuclear factor- κ B, NF- κ B) 在上皮损伤中发挥重要作用。它最初释放一些包括白细胞介素 (Interleukin 1, IL-1)、TNF- α 等促炎因子,促进炎症细胞,例如循环成纤维细胞和骨髓间质祖细胞向肺组织趋化。接下来 NF- κ B 激活 TGF- β 1 的表达,作为肺纤维化进程中关键的中间介质,TGF- β 1 可以诱导上皮间质转化,产生上皮来源的成纤维细胞,激活成纤维细胞和成纤维细胞样细胞过度合成胶原,最终导致肺纤维化^[11]。结果发现,与模型组比较,在第 7、14、28 d PE 中、高剂量组大鼠血清 TNF- α 含量均明显降低,第 14、28 d 血清 TGF- β 1 含量明显降低,从而在给予 PE 后使 TNF- α 等促炎因子的释放减少以及因 NF- κ B 激活 TGF- β 1 导致的表达降低。

另外,肺纤维化发生时,肺组织内增加的主要成分是胶原纤维,而 HYP 为胶原蛋白所特有,是胶原纤维沉积的代表指标,因此 HYP 能间接反映肺组织中胶原代谢情况^[12]。本实验中,在 7、14、28 d 三个时间点 PE 高剂量组大鼠血清 HYP 含量相比模型组均明显降低,PE 中、低剂量组大鼠血清 HYP 含量低于模型组,说明云南松松塔能够减少肺纤维化形成过程中胶原过度合成和沉积。

研究发现,在云南松松塔中含有大量二萜类化合物^[13-14]、酚类化合物^[15]、黄酮类^[16]及多糖^[17]等成分。而这些物质具有广泛的生物活性,如二萜类化合物的抗炎^[18]、保肝^[19]、抗肿瘤^[20]等作用。在本实验中也发现,给予肺纤维化模型大鼠不同剂量云南松松塔提取物之后,在各个时间点,高、中剂量松塔提取物均能降低大鼠血清中促炎因子 TNF- α 含量,并减少血清中促纤维化因子 TGF- β 1 的含量,说明松塔抗纤维化作用的发挥可能与减轻促炎因子分泌有关。

根据《本草纲目》记载,云南松松塔具有祛痰、止咳、平喘等功效,说明其在呼吸系统疾病方面早有应用。文献报道云南松松塔不同极性部位对不同状态豚鼠离体气管平滑肌具有解痉作用,对豚鼠静息和致痉离体气管平滑肌有松弛作用^[21]。同时本次实验发现,云南松松塔提取物可以改善大鼠病理状态,减少促纤维化因子 TGF- β 1

释放和促炎因子 TNF- α 的释放,从而延缓肺纤维化进程,表明云南松松塔提取物具有一定的抗肺纤维化作用,这种作用主要与减少炎症因子 TNF- α 的释放、降低 TGF- β 1 的表达以及减少胶原过度沉积有关。

参考文献:

- [1] Redente E F, Keith R C, Janssen W, et al. Tumor necrosis factor- α accelerates the resolution of established pulmonary fibrosis in mice by targeting profibrotic lung macrophages[J]. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2014, 50(4): 825-837.
- [2] Raghu G, Weycker D, Edelsberg J, et al. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care medicine, 2006, 174(7): 810-816.
- [3] 李寅珊,李冬梅,蒋凌云,等. 云南松松塔的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):119-121.
- [4] 李洪文,郭向群,李光富,等. 云南松松塔对实验性肺纤维化抗氧化作用的实验研究[J]. 中国民族民间医药,2017,26(16):44-46.
- [5] Gharaee K M, Ullenbruch M, Phan S H. Animal models of pulmonary fibrosis[J]. Methods in Molecular Medicine, 2005, 117: 251-259.
- [6] Mousa A M. Effect of pirfenidone on bleomycin induced pulmonary alveolar fibrosis in adult male rats (histological, immunohistochemical, morphometrical and biochemical study)[J]. International Journal of Clinical Developmental Anatomy, 2016, 2(3): 17-23.
- [7] Degryse A L, Lawson W E. Progress toward improving animal models for idiopathic pulmonary fibrosis[J]. American Journal of the Medical Sciences, 2011, 341(6): 444-449.
- [8] 王宣,王丽娜,杨学,等. 补阳还五汤对肺纤维化大鼠血清 HYP 含量、肺系数及肺部病理形态学的影响[J]. 时珍国医国药,2017,28(7):1555-1558.
- [9] Moore B B, Lawson W E, Oury T D, et al. Animal models of fibrotic lung disease[J]. American Journal of Respiratory Cell and Molecular biology, 2013, 49(2): 167-179.
- [10] Skurikhin E G, Pershina O V, Reztsova A M, et al. Modulation of bleomycin -induced lung fibrosis by

- pegylated hyaluronidase and dopamine receptor antagonist in mice[J]. PLOS ONE, 2015, 10(4): e0125065.
- [11] Wang Z, Guo Q Y, Zhang X J, et al. Corilagin attenuates aerosol bleomycin -induced experimental lung injury[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(6): 9762-9779.
- [12] 林朝展, 祝晨蓁, 刘方乐, 等. 毛翠雀提取物对博莱霉素致大鼠肺纤维化的保护作用[J]. 中药材, 2018, 41(5): 1182-1186.
- [13] 刘爽, 刘熙, 李冬梅, 等. 云南松松塔的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27: 59-62, 66.
- [14] 吴道勋, 刘璐, 刘熙, 等. 云南松松塔二萜类成分的指纹图谱研究[J]. 大理大学学报, 2016, 1(10): 18-22.
- [15] Lei T, Li Y, Li D M, et al. A novel phenolic compound from *Pinus yunnanensis*[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2011, 13(5): 425-429.
- [16] 李冬梅, 李莉, 吴五谊, 等. 正交试验法优选云南松松塔总黄酮的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 37-39.
- [17] 张海珠, 史志婷, 王莹, 等. 柱前衍生化高效液相色谱分析云南松松塔多糖的单糖组成[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(24): 30-33.
- [18] Pattreya T, Chatchai W, Pimpimon T, et al. Anti-inflammatory effect of isopimarane diterpenoids from *Kaempferia galangal*[J]. Phytotherapy Research, 2019: 1-12.
- [19] 刘方乐, 林朝展, 祝晨蓁. 南药溪黄草中二萜类成分的保肝活性及构效关系研究[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(12): 1409-1415.
- [20] Lanciani B R, Alves D P, Mackowiak D F, et al. Inhibitory effects of *Euphorbia tirucalli* latex on murine B16/F10 melanoma cells and lung metastasis[J]. Molecular and Clinical Oncology, 2019, 11(5): 511-516.
- [21] 郭美仙, 刘光明, 沈磊, 等. 云南松松塔不同极性部位对不同状态豚鼠离体气管的影响[J]. 大理学院学报, 2015, 14(8): 1-4.