

# VBE-1 经皮渗透行为的考察及其对紫外线诱导皮肤色素沉着的干预作用

李 溯<sup>1</sup>,王 婷<sup>2</sup>,丁劲松<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>中南大学湘雅医院药学部,长沙 410008;<sup>2</sup>湖南省儿童医院药学部,长沙 410007;<sup>3</sup>中南大学药学院,长沙 410013

**摘要:**采用 Franz 扩散池考察溶液和混悬液的体外经皮渗透特性,计算混悬液和溶液中 VBE-1 的渗透动力学参数,并测定 VBE-1 在皮肤中的滞留量。溶液中 VBE-1 的稳态渗透速率显著提高,渗透时滞明显缩短,24 h 单位质量皮肤累积滞留量提高了 35%,VBE-1 的经皮渗透行为得到了优化。制备 VBE-1 凝胶,选用棕黄色豚鼠为动物模型,考察 VBE-1 对紫外线诱导皮肤色素沉着的干预作用,结果显示 2% VBE-1 凝胶组的皮肤黑色素增加量明显低于空白基质组。VBE-1 在较高浓度时对紫外线诱导的皮肤色素沉着有一定的干预作用。

**关键词:** VBE-1;经皮渗透特性;滞留量;黑色素;棕黄色豚鼠

中图分类号:R944.9

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.7.007

## Transdermal Behavior of VBE-1 and Its Interference Effect on Skin Pigmentation of Guinea Pig Induced by Ultraviolet B Irradiation

LI Su<sup>1</sup>, WANG Ting<sup>2</sup>, DING Jin-song<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China;

<sup>2</sup>Department of Pharmacy, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, China;

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China

**Abstract:** The transdermal permeation characteristics of VBE-1 in solution and suspension were investigated by Franz-type diffusion cell *in vitro*. The permeation and skin residual amount of VBE-1 were quantified by HPLC, and permeation kinetics parameters were calculated. The lag time was shortened and 24 h skin residual amount was increased by 35% in solution. Transdermal behavior of VBE-1 was optimized. Brownish guinea pig model was used to study the interference effect of VBE-1 gel on skin pigmentation induced by ultraviolet B (UVB) irradiation. The results showed that skin melanin increment of 2% VBE-1 gel was significantly lower than the gel base group. The UVB irradiation induced skin hyperpigmentation was interfered by VBE-1 at higher concentrations.

**Key words:** VBE-1; transdermal behaviors; skin residual amount; melanin; brown guinea pig

VBE-1 是一种从黄荆子中提取出的活性物质,为木脂素类化合物,化学名为 6-羟基-4-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-羟甲基-7-甲氧基-3,4-二氢(3R,4S)-2-醛基萘。前期研究表明 VBE-1 对黑色素(Melanin)生物合成的限速酶酪氨酸酶(TYR)有较强的抑制作用,因此它可能对黑色素的生物合成有抑制作用<sup>[1]</sup>。黑色素在皮肤基底层异常蓄积会造成色素沉着过度引起黑斑病、雀斑、老年斑等,给人们的生活工作带来困扰<sup>[2]</sup>。临床常使用酪氨酸酶抑制剂来抑制人体内 TYR 的活性,从而阻断黑色素的生物合成反应链<sup>[3-5]</sup>。与常用的酪氨酸酶抑制剂曲酸

相比,VBE-1 对 TYR 的抑制作用更强,它有望成为一种新型的天然植物源治疗皮肤色素沉着的药物<sup>[1]</sup>。然而 VBE-1 口服吸收少,血药浓度低<sup>[6,7]</sup>,因此,全身系统给药不是发挥 VBE-1 抑制黑色素作用的理想给药途径,将其制成局部外用制剂是较好的选择。

本研究采用 Franz 扩散池考察 VBE-1 溶液和混悬液的体外经皮渗透特性,并测定 VBE-1 在皮肤中的滞留量,构建不同载药量的 VBE-1 凝胶,考察凝胶对豚鼠皮肤色素沉着的干预作用,为 VBE-1 外用治疗皮肤色素沉着的研究开发奠定基础。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);TK-

20B 透皮扩散试验仪(上海锴凯科技贸易有限公司);8 cm 辊轴植皮刀(海医疗器械有限公司手术器械厂);BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司);BS224S 型电子天平(德国 Sartorius 公司);KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);KL-UP-IV-20 型艾柯超纯水机(成都康宁实验专用纯水设备厂);PHS-3C 型精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司);4003B 紫外线光疗仪(徐州市科诺医学仪器设备有限公司)。

## 1.2 试药

VBE-1 样品(由中南大学天然药物化学系提供,含量:97.5%,批号:20101119);PEG-400(AR,国药集团化学试剂有限公司);十二水合磷酸氢二钠(AR,国药集团化学试剂有限公司);二水和磷酸二氢钠(AR,国药集团化学试剂有限公司);羧甲基纤维素钠 CMC-Na(西陇化工股份有限公司);羟丙基甲基纤维素 HPMC(信越化学工业株式会社);甘油(湖南尔康制药股份有限公司);苯甲酸钠(华润三九医药股份有限公司);伊思雪脱毛膏(佛山从容化妆品厂);千白氢醌乳膏(广东人人康药业有限公司,2%);戊巴比妥钠(广州思乐实验化工有限公司)。

## 1.3 实验动物

健康雄性乳猪 1 头,10 ~ 15 kg,湖南省疾病预防控制中心,合格证号 SCXK(湘)2010-0004;雄性棕黄色豚鼠 10 只,400 ~ 450 g,湖南三三特种养殖场,合格证号:201201008。

# 2 实验方法

## 2.1 VBE-1 溶液与混悬液的配置

VBE-1 用 25% 的 PEG-400 溶解得溶液。配制混悬液前,将 VBE-1 过 80 目筛,并且研磨。由于过量的 VBE-1 在混悬液中迅速沉降,使给药剂量难以控制,因此在混悬液中加入 0.5% 的 CMC-Na,使其适当混悬。溶液和混悬液中 VBE-1 的浓度均为 1%。

## 2.2 色谱条件

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub>(5 μm,150 × 4.6 mm);流动相:乙腈:0.2% 乙酸 = 22:78(v/v);流速:1 mL/min;柱温:40 °C;检测波长:255 nm;进样量:20 μL。

## 2.3 溶液与混悬液体外经皮渗透行为的考察

选用 20% PEG-400 生理盐水作为接收液。将处理好的乳猪皮肤固定于改良 Franz 扩散池上,角

质层面朝向供给池。在接收池中加入搅拌子,并注满接收液,使其与皮肤真皮层充分接触。向供给池中分别注入 200 μL 1% 的 VBE-1 溶液和混悬液。将接收池置于 37 ± 1 °C 透皮扩散试验仪中,磁力搅拌,转速为 200 rpm,分别于 1、2、4、8、12、24 h 定时取尽接收液,得接收液样品,并补充等量同温度的空白接收液。接收液样品用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液进入 HPLC 分析,根据公式(1)计算各时间点单位面积皮肤累积渗透量  $Q$ (μg/cm<sup>2</sup>)。

单位面积皮肤累积渗透量计算公式:

$$Q = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{i=n-1} C_i V_i}{A} \quad (1)$$

公式中  $C_n$  为第  $n$  次取样时接收液的浓度, $C_i$  为第  $n-1$  次取样时接收液的浓度, $V$  为接收液的总体积(2 mL), $A$  为有效扩散面积(0.785 cm<sup>2</sup>)。两组间不同时间单位面积皮肤累积渗透量的差异采用 SPSS 19.0 统计软件进行独立样本  $t$  检验。

透皮实验进行 24 h 后将猪皮取下,用空白接收液冲洗表皮和真皮后用滤纸吸干表面,用眼科剪将吸干的皮肤剪碎至乳糜状,用甲醇完全浸没剪碎的皮肤后超声波提取 30 min,最后用甲醇定容,取上清液进入 HPLC 分析。根据公式(2)计算单位质量皮肤累积滞留量  $Q_{skin}$ (μg/g)。

单位质量皮肤累积滞留量计算公式:

$$Q_{skin} = \frac{C \cdot V}{m} \quad (2)$$

公式中  $C$  为皮肤中药物浓度, $V$  为皮肤样品溶液的体积, $m$  为皮肤的质量。

## 2.4 VBE-1 凝胶的制备

称取处方量 HPMC 于烧杯中,加甘油分散使其分散均匀,再加处方量溶解有苯甲酸钠的超纯水,搅拌均匀后,溶胀过夜,得凝胶基质;称取处方量 VBE-1 加入 PEG-400 后超声加热溶解,得 VBE-1 的 PEG-400 溶液;将 VBE-1 的 PEG-400 溶液缓慢加入到溶胀好的凝胶基质中,搅拌至均匀,即得 VBE-1 凝胶,处方见表 1。

## 2.5 载药量对凝胶经皮渗透行为的影响

制备载药量为 0.5%、1% 和 2% 的 VBE-1 凝胶,将 0.2 g 制剂均匀涂布在离体乳猪皮肤角质层面,按“2.3”项下方法进行体外经皮渗透实验,考察载药量对凝胶中 VBE-1 体外经皮渗透行为的影响。

## 2.6 VBE-1 凝胶对皮肤色素沉着的干预作用

剔除豚鼠背部长毛,用温水润湿剩余短毛后涂

表1 凝胶处方组成

Table 1 Composition of prescription of VBE-1 gel

组分 Composition	百分比 percentage(%,g/g)
VBE-1	0.5~2
羟丙基甲基纤维素 HPMC	1.5
聚乙二醇-400 PEG-400	25
苯甲酸钠 Sodium benzoate	0.5
甘油 Glycerin	10
去离子水 Deionized water	加至 100 Add to 100

抹脱毛膏,使背部皮肤完全暴露。将背部皮肤分为六个相隔区域,每个区域的面积约为  $2 \times 2 \text{ cm}^2$ 。将豚鼠按照  $40 \text{ mg/kg}$  的剂量腹腔注射 3% 的戊巴比妥钠溶液麻醉后,用大鼠板固定,使背部皮肤伸展开。给药前用 Mexameter MX18 皮肤黑色素和血红素测试仪进行皮肤黑色素测定。

豚鼠背部取 5 个区分别施用 0.5%、1% 和 2% 的 VBE-1 凝胶、氢醌乳膏(阳性对照)和空白凝胶基质,每次约 0.1 g,剩下的一个区不作处理,只进行紫外线(UVB)照射,作为 UVB 对照组。给药 10 min 后进行 UVB 照射,照射条件如下:

辐射强度:  $10 \text{ mw/cm}^2$ ; 单次照射时间: 2 min; 单次照射剂量:  $1200 \text{ mJ/cm}^2$ ; UVB 光谱范围: 311 ~ 312 nm; 皮肤距离灯管距离: 3 cm。实验期间豚鼠正常饲养,肉眼观察记录豚鼠皮肤反应。

按照以上方法连续处理 7 d, 第 8 d 开始停止 UVB 照射,继续给药。于第 14 d 再次测定皮肤黑色素,计算黑色素的增加量。各组黑色素增加量之间的差异采用 SPSS 19.0 统计软件进行独立样本  $t$  检验。测定结果见表 3。

### 3 实验结果

#### 3.1 溶液与混悬液体外经皮渗透行为

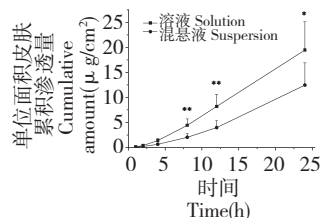
溶液组和混悬液组间单位质量皮肤累积滞留量

表2 混悬液和溶液中 VBE-1 的渗透动力学参数 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )Table 2 Permeation parameters of VBE-1 in suspension and solution ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

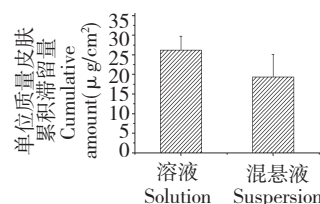
组别 Group	24 h 单位面积 皮肤累积渗透量 $Q_{24} (\mu\text{g}/\text{cm}^2)$	渗透时滞 $t_{\text{lag}} (\text{h})$	稳态流量 $J_s (\mu\text{g}/\text{h} \cdot \text{cm}^2)$	单位质量皮肤累积滞留量 $Q_{\text{skin}} (\mu\text{g}/\text{g})$
混悬液 Suspension	$12.47 \pm 4.45$	$5.29 \pm 0.71$	$0.69 \pm 0.07$	$19.33 \pm 5.78$
溶液 Solution	$19.48 \pm 5.65^*$	$0.55 \pm 0.09^{**}$	$1.41 \pm 0.59^{**}$	$26.19 \pm 3.55^*$

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

的差异采用 SPSS 19.0 统计软件进行独立样本  $t$  检验。溶液组较混悬液组的单位面积皮肤累积渗透量在第 8、12 和 24 h 显著提高,如图 1。溶液组的 24 h 单位质量皮肤累积滞留量较混悬液组也得到了提高,如图 2。



注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

图1 混悬液和溶液中 VBE-1 的单位面积皮肤累积渗透量 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )Fig. 1 Permeation of VBE-1 from suspension and solution ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )图2 混悬液和溶液中 VBE-1 的单位质量皮肤累积滞留量 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )Fig. 2 Skin residual amount of VBE-1 from suspension and solution ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

对图 1 曲线中的直线部分进行回归得渗透动力学方程。以扩散平衡后的  $Q$  对时间  $t$  进行线性回归,  $Q_t$  曲线上直线部分的斜率即为稳态流量  $J_s (\mu\text{g}/\text{h} \cdot \text{cm}^2)$ , 直线与横坐标的交点为渗透时滞  $t_{\text{lag}} (\text{h})$ 。各渗透参数之间的差异采用 SPSS 19.0 统计软件进行独立样本  $t$  检验, 结果见表 2。

#### 3.2 载药量对凝胶经皮渗透行为的影响

不同载药量凝胶的单位面积皮肤累积渗透量见图 3, 单位质量皮肤累积滞留量见图 4。各组间不同

时间单位面积皮肤累积渗透量的和单位质量皮肤累积滞留量的差异采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)多重比较。结果表明,0.5%、1%和2%的VBE-1凝胶的24 h单位面积皮肤累积渗透量和单位质量皮肤累积滞留量呈载药量依赖性( $P < 0.05$ )。

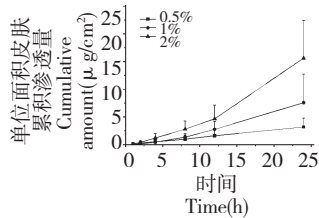


图3 载药量对VBE-1单位面积皮肤累积渗透量的影响 ( $n = 5, \bar{x} \pm s$ )

Fig. 3 The effects of drug-loading rates on permeation of VBE-1 ( $n = 5, \bar{x} \pm s$ )

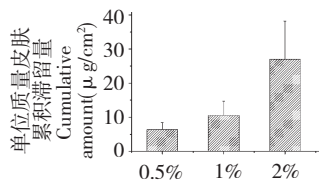


图4 载药量对VBE-1单位质量皮肤累积滞留量的影响 ( $n = 5, \bar{x} \pm s$ )

Fig. 4 The effects of drug-loading rates on skin residual amount of VBE-1 ( $n = 5, \bar{x} \pm s$ )

### 3.3 VBE-1凝胶对皮肤色素沉着的干预作用

#### 3.3.1 豚鼠皮肤反应

豚鼠背部使用氢醌乳膏部位位于第2 d开始出现红斑,UVB对照和空白基质部位第3 d开始出现红斑。红斑在第5 d左右达到高峰。其余各区域红斑不明显,或为轻度红斑。第8 d停止UVB照射后,各区域红斑开始消退,至第14 d实验结束时,红斑基本消退。

第7 d至第10 d为豚鼠背部皮肤脱屑的高峰期,其中,使用氢醌乳膏部位重度脱屑,UVB对照和空白基质部位中轻度脱屑,其余各区域无明显脱屑现象。至第14 d实验结束时,除氢醌乳膏部位仍有脱屑外,其余各区域脱屑现象基本消失。

#### 3.3.2 豚鼠皮肤黑色素增加量

氢醌乳膏和2%VBE-1凝胶组的皮肤黑色素增加量明显低于空白基质组( $P < 0.01$ )。1%VBE-1凝胶组的黑色素增加量也与空白基质组有明显差

表3 豚鼠皮肤黑色素增加量 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

Table 3 Melanin increment of guinea pig skin ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别 Group	增加量 Increment
UVB对照 UVB control	508.4 ± 113.7
空白基质 Gel base	465.2 ± 103.4
氢醌乳膏 Hydroquinone cream	350.1 ± 95.3 **
0.5% VBE-1凝胶 0.5% VBE-1 gel	444.3 ± 60.0
1% VBE-1凝胶 1% VBE-1 gel	366.3 ± 106.7 *
2% VBE-1凝胶 2% VBE-1 gel	289.8 ± 128.7 **

注: \*  $P < 0.05$  vs 空白基质; \*\*  $P < 0.01$  vs 空白基质。

异( $P < 0.05$ )。0.5%VBE-1凝胶组和空白基质组的黑色素增加量无明显差异( $P > 0.05$ )。虽然空白基质组的黑色素增加量较UVB对照组有一定的减少,但两组的黑色素增加量无明显差异( $P > 0.05$ ),如表3。

## 4 结论与讨论

混悬液中,VBE-1的渗透时滞较长,渗透速率较慢。与混悬液相比,用25%的PEG-400将VBE-1完全溶解后,VBE-1的稳态渗透速率显著提高( $P < 0.01$ ),渗透时滞明显缩短( $P < 0.01$ ),24 h单位面积皮肤累积渗透量和单位质量皮肤累积滞留量分别提高了56%和35%。溶液中VBE-1的经皮渗透行为得到了优化。

棕黄色豚鼠的表皮中有适量的对UVB敏感的功能性黑色素细胞,其分布近似于人类,皮肤经UVB照射后可以引起黑色素细胞中酪氨酸酶DNA的表达水平上调<sup>[8]</sup>,提高皮肤中TYR的活性,从而产生清晰的色素沉着,表皮中多巴阳性细胞数量较未照射部位增加3~4倍,黑色素细胞树突增加<sup>[9]</sup>。这一现象类似于人类皮肤受UVB诱导产生的色素沉着,因此,棕黄色豚鼠是黑色素相关研究中最常使用的动物。

氢醌能够在体内和体外有效抑制黑色素的形成,是临床上治疗皮肤色素沉着最常用的药物之一<sup>[10]</sup>。氢醌对黑色素的抑制作用可能与其可以作为酪氨酸酶的底物有关,它能凝结TYR中的氨基酸,使其失活<sup>[11]</sup>。因其作用机制与VBE-1类似,本实验选择氢醌乳膏作为阳性药物。使用氢醌乳膏部位的炎症反应可能是氢醌本身对皮肤的刺激性和UVB共同影响的结果。空白基质组的黑色素增加量较UVB对照组有一定的减少,说明该空白基质对

皮肤也有一定的保护作用。使用 VBE-1 凝胶的部位未出现明显的红斑鳞屑现象。因此, VBE-1 可能对 UVB 照射有一定的保护作用, 或者具备一定的抗炎作用。VBE-1 在高浓度时能够有效干预豚鼠皮肤色素沉着。

#### 参考文献

- 1 Azhar-Ul-Haq, Malik A, Khan MT, *et al.* Tyrosinase inhibitory lignans from the methanol extract of the roots of *Vitex negundo* Linn. and their structure-activity relationship. *Phyto-medicine*, 2006, 13: 255-260.
- 2 Sima VH, Patris S, Aydogmus Z, *et al.* Tyrosinase immobilized magnetic nanobeads for the amperometric assay of enzyme inhibitors: Application to the skin whitening agents. *Talanta*, 2011, 83: 980-987.
- 3 Garcia-Borron JC, Solano F. Molecular anatomy of tyrosinase and its related proteins: beyond the histidine-bound metal catalytic center. *Pigment Cell Res*, 2002, 15: 162-173.
- 4 Garcia-Molina F, Munoz JL, Varon R, *et al.* A review on spectrophotometric methods for measuring the monophenolase and diphenolase activities of tyrosinase. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 9739-9749.
- 5 Ding ZY(丁重阳), Xu P(徐鹏), Wang YH(王玉红), *et al.* Effect of adding *Scutellaria baicalensis* G. on tyrosinase

inhibition in submerged culture of *Ganoderma lucidum*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2009, 21: 21-26.

- 6 Zhou MC(周美辰). Studies on the synthesis and *in vivo* metabolism in rats of a phenylanthralene-type lignan derivative VBE-6 as a dual PI3K/Akt/mTOR and JNK signaling pathways regulator. Changsha: Central South University(中南大学), MSc. 2010.
- 7 Li YL(李妍岚). Comparison research of biotransformation and pharmacokinetics of antitumor effective fraction EVn50 and its active constituents VBE-1, VBE-2 from fruits of *Vitex negundo*. Changsha: Central South University(中南大学), MSc. 2009.
- 8 Gilchrest BA, Park H, Eller MS, *et al.* Mechanisms of ultraviolet light-induced pigmentation. *Photochem Photobiol*, 1996, 63: 1-10.
- 9 Guan SY(管淑玉). Application of animal models in melanin-related studies. *Acta Lab Anim Sci Sin*(中国实验动物学报), 2009, 17: 475-477.
- 10 Parvez S, Kang M, Chung HS, *et al.* Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents. *Phytother Res*, 2006, 20: 921-934.
- 11 Ding DP(丁大鹏), Ma WL(马文丽), Zheng WL(郑文岭). Advances in studies on inhibitors of tyrosinase. *J Prac Med*(实用医学杂志). 2005, 21: 1364-1366.

(上接第 1000 页)

- 15 Yao YC(姚宇澄), An TY(安天英), Gao J(高俊), *et al.* Determination of chemical structure of phenanthroindolizidin alkaloids separated from *Cynanchum komarovii* Al. Iljinski. *J Inner-Mongolia Polytech Univ*(内蒙古工业大学学报), 2001, 20: 241-244.
- 16 Min HY, Chung HJ, Kim EH, *et al.* Inhibition of cell growth and potentiation of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )-induced apoptosis by a phenanthroindolizidine alkaloid antofine in human colon cancer cells. *J Biochem Pharm*, 2010, 80: 1356-1364.
- 17 Wu DM, Chen Y, Wu L. Preparation and anti-breast cancer activity of (-)-antofine carried with liposomes. *Zhong Yao Cai*, 2013, 36: 1511-1514.
- 18 Kim EH, Min HY, Chung HJ, *et al.* Anti-proliferative activity and suppression of P-glycoprotein by (-)-antofine, a natural phenanthroindolizidine alkaloid in paclitaxel-resistant human lung cancer cells. *J Food Chem Toxicol*, 2012, 50: 1060-1065.
- 19 Wang QM(汪清民), Yao YC(姚宇澄), Huang RQ(黄润秋), *et al.* Antiviral activity of antofine from *Cynanchum komarovii*. *Agrochemicals*(农药), 2007, 46: 425-427.
- 20 Shuang G, Ruo YZ, Zhi HY, *et al.* Antofine analogues can in-

hibit TMV assembly through small-molecule-RNA interaction. *J Chem Biochem*, 2012, 13: 1622-1627.

- 21 Wang KL(王开亮), Wu M(吴萌), Liu ZH(刘智慧), *et al.* Bioactivity of phenanthroindolizidine alkaloids and their salt derivatives. *Chin J Pesticide Sci*(农药学报), 2010, 124: 507-510.
- 22 Donna MG, Stuart BK, Jeromy B, *et al.* Phytotoxicity of antofine from invasive swallow-worts. *J Chem Ecol*, 2011, 37: 871-879.
- 23 Jang EJ, Kim HK, Jeong H, *et al.* Anti-adipogenic activity of the naturally occurring phenanthroindolizidine alkaloid antofine via direct suppression of PPAR $\gamma$  expression. *J Chem Biodivers*, 2014, 11: 962-969.
- 24 Shen YQ(沈雅琴), Zhang MF(张明发), Zhu ZP(朱自平), *et al.* Study on analgesic anti-inflammatory and anti-thrombotic effects of Rhizoma *Cynanchi stauntonii*. *China Pharm*(中国药房), 2001, 12(1): 15-16.
- 25 Liang AH(梁爱华), Xue BY(薛宝云), Yang Q(杨庆), *et al.* Studies on antitussive, expectorant and anti-inflammatory effects of Rhizoma *Cynanchi stauntonii*. *J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 1996, 21: 173-174.