

羊耳菊水提物对肺炎克雷伯菌所致重症肺炎大鼠的抗炎效果及机制

李凤玲

(平顶山市中医医院, 平顶山, 467000)

摘要 目的:探讨羊耳菊水提物对肺炎克雷伯菌所致重症肺炎大鼠的抗炎效果及机制。方法:采用肺炎克雷伯菌诱导大鼠重症肺炎模型,羊耳菊水提物(6,12和24 g/kg 体重)灌胃治疗,地塞米松(1.04 mg/kg 体重)为阳性对照,6 d后测定支气管肺泡灌洗液中白细胞和中性粒细胞以及肺组织 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平及 MPO 的活性,Western-blot 法检测肺组织 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平。结果:不同剂量羊耳菊水提物能改善动脉血气指标,减少白细胞及中性粒细胞的水平,降低肺组织 TNF- α , IL-1 β , IL-6、MPO 水平及 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平。结论:羊耳菊水提物能通过阻断 p38MAPK 和 NF- κ Bp65 信号通路改善肺炎克雷伯菌所致大鼠重症肺炎的炎症反应,可成为一种天然有效的抗炎药物。

关键词 肺炎;肺炎克雷伯菌;羊耳菊;核因子- κ Bp65;p-p38MAPK

Anti-inflammatory Effect of Inula Cappa Aqueous Extract on Klebsiella Pneumoniae-induced Severe Pneumonia in Rats

Li Fengling

(Chinese Medicine Hospital, Pingdingshan 467000, China)

Abstract Objective: To observe anti-inflammatory effect of Inula cappa aqueous extract on Klebsiella pneumoniae-induced severe pneumonia in rats. **Methods:** Klebsiella pneumoniae was used to induce ultrasonic severe pneumonia model in rats. Different doses of Inula Cappa aqueous extract (6, 12 and 24 g/kg BW) were orally given, and take dexamethasone (1.04 mg/kg weight) as the comparison drug to conduct blood gas analysis, including peripheral white blood cells, neutrophils, TNF-alpha, IL-1 beta, IL-6, LDH and MPO activity in lung tissue. **Results:** Different doses of Inula Cappa aqueous extract can improve the arterial blood gas index, reduce the content of white blood cells and neutrophils, decrease the content of TNF- α , IL-1 β , IL-6, MPO and level of NF-KBp65 and p-p38MAPK. **Conclusion:** Inula Cappa aqueous extract can improve inflammation of severe pneumonia induced by Klebsiella pneumoniae by blocking p38 MAPK and NF-KBp65 signaling pathways. It can be taken as a natural and effective anti-inflammatory drug.

Key Words Inula Cappa; Klebsiella; Pneumonia; Extract; NF-KBp65; p-p38MAPK

中图分类号:R284;R256.4 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.10.041

羊耳菊 *Inula cappa* (Buch. -Ham.) DC. 为菊科旋覆花属植物^[1-2], 主要分布在我国四川、云南、贵州、广西、广东、江西、湖南等省份, 全草用药, 含有丰富的黄酮类和萜类化合物, 以及大量的咖啡酰基奎宁酸物质^[3-4], 具有较好的抗菌、消炎和镇痛作用^[5], 但具体机制还不太明确。本研究采用羊耳菊水提物治疗肺炎克雷伯菌所致大鼠重症肺炎, 探讨其抗炎效果及机制, 为羊耳菊的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级 SD 雄性大鼠, 体重(200 \pm 25) g, 由河南实验动物中心提供, 许可证号: SCXK(豫)2010-0002, 分笼饲养, 饲料充足饮水不限, 室温 20 ~ 25 $^{\circ}$ C, 适应环境 5 d 后用于实验。

1.1.2 药物 羊耳菊全草采自怀化市康龙自然保护区, 经漯河医专第二附属医院主任药师鉴定为菊科旋覆花属植物, 植物材料进行挑选、洗净在 60 $^{\circ}$ C 温度下烘干, 粉碎过 60 目筛备用。肺炎克雷伯菌临床株由漯河医专分子生物学实验室提供, 分离于慢性支气管炎急性发作患者的痰液。接种前生理盐水稀释至适当浓度(相当于 1.2×10^8 CFU/mL)。

1.1.3 试剂与仪器 TNF- α , IL-1 β , IL-6 试剂盒(R&D, 美国), MPO 检测试剂盒(南京建成生物有限公司), 抗体 NF- κ Bp65、p-p38MAPK、 β -actin(美国 Sigma 公司)。血气分析仪(美国 NOVA STPM3 血气分析仪); T-1800 血球分析仪(日本东亚公司); EXL800 型酶标仪(BioTek, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 羊耳菊水提物的制备 准确称取干燥粉羊耳菊 3 kg,按照固液 1:10 的比例加入水浸泡 24 h 后,加热回流提取 2 h,提取 2 次,多层纱布趁热过滤,上清液合并,并浓缩至含生药 3 g/mL,4 ℃ 冷藏保存,使用前稀释成不同浓度。

1.2.2 给药剂量 采用最大耐受剂量法,预实验对大鼠进行急性经口毒性试验,经测得最大耐受量 96 g/kg,用其 1/4、1/8、1/16 给药。地塞米松:60 kg 体重成人日用量 10 mg,每千克体重用量为 $10/60 = 0.1667$ mg/kg。大鼠用量为 $0.1667 \times 6.25 = 1.04$ mg/kg。

1.2.3 分组与模型制备 60 只 SD 大鼠随机分成 6 组,每组 10 只,即:正常组、模型组、地塞米松组(1.04 mg/kg)、羊耳菊水提物组(6、12、24 g/kg),所有大鼠经麻醉后,颈部消毒、备皮无菌操作,暴露大鼠上段气管,正常组大鼠采用 1 mL 注射器经气管滴入生理盐水 0.3 mL,其余滴入菌液 0.3 mL,接种后立即竖立大鼠固定台,使大鼠保持直立位约 20 s,以保证接种菌液因重力作用而入肺。当大鼠出现反应迟钝、呆滞、呼吸急促,并伴有严重的低氧血症, $\text{SaO}_2 < 90\%$ 或动脉氧分压 ≤ 8 kPa 确诊为重症肺炎^[8]。对照组和模型组每天给予生理盐水 20 mL/kg 灌胃 1 次,地塞米松组和羊耳菊水提物组按照 20 mL/kg 体重灌胃 1 次,连续 6 d。

1.2.4 肺炎大鼠血气分析 全自动血气分析仪检测血液中的动脉血二氧化碳分压(PaCO_2)、二氧化碳含量(CO_2)、动脉氧分压(PaO_2)、动脉血氧饱和度(SaO_2)。

1.2.5 苏木精-伊红(HE)染色观察肺组织病理学变化 取大鼠左肺上叶,4 ℃ 生理盐水冲洗,滤纸拭干,10% 中性甲醛溶液固定,石蜡包埋,常规切片,HE 染色,光学显微镜下观察肝组织切片的病理变化。

1.2.6 支气管肺泡灌洗液中白细胞及中性粒细胞检测 第 6 天给药 24 h 后,戊巴比妥钠 50 mg/kg,ip 麻醉。扎紧左主支气管,输液管套管插入主支气管 3~4 cm 并固定,注入生理盐水 10 mL 于肺腔,连续翻动右肺组织,抽回再灌注 3 次,抽出灌洗液。共灌注 3 次,收集总灌洗液,计数白细胞和中性粒细胞。

1.2.7 肺组织部分生化指标的测定 取左肺下叶 200 mg 冰浴匀浆制成 10% 溶液,4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min,取上清液。酶联免疫吸附法测定 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。按试剂盒说明书测定方法测定 MPO 活性。

1.2.8 Western-blot 检测肺组织 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平 常规方法提取肺组织总蛋白,考马斯亮蓝法测定总蛋白的量。加样行 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,PVDF 膜转膜 2 h,5% 山羊血清(PBS 稀释)封闭,加入 1:500 稀释(1% BSA-PBS 稀释)的 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 一抗,1:500 稀释的 β -actin,4 ℃ 孵育过夜,加入辣根过氧化物酶标记二抗(1:3 000)和 β -actin 二抗(1:5 000)及 DAB 显色试剂盒。行 ECL 反应,显色。Tannon 凝胶成像系统拍照,GIS 凝胶成像分析软件分析,以同一泳道 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 和 β -actin 条带灰度值比反映蛋白表达水平。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 14.0 统计软件分析数据。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$),多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-q 法。计数资料采用百分率,统计学分析采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 羊耳菊水提物对肺炎大鼠血气指标的影响 与正常组比较,模型组大鼠的 PaCO_2 值明显高于正常组($P < 0.01$),而 PaCO_2 浓度, PaO_2 值和 SaO_2 的水平明显低于正常组($P < 0.01$)。与模型组大鼠比较,羊耳菊水提物中高剂量组 PaCO_2 水平明显降低($P < 0.05$), CO_2 、 PaO_2 和 SaO_2 水平明显增加($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 肺组织病理学变化 正常组大鼠肺组织无异常发生,结构清晰,无炎症反应和浸润的发生。模型组肺泡壁加厚,并伴有大量的中性粒细胞,肺泡间质出现水肿和肺泡壁间质浸润。地塞米松组和羊耳菊水提物组浸润明显减轻,部分出现少量的中性粒细胞、淋巴细胞以及脱落坏死的上皮细胞。见图 1。

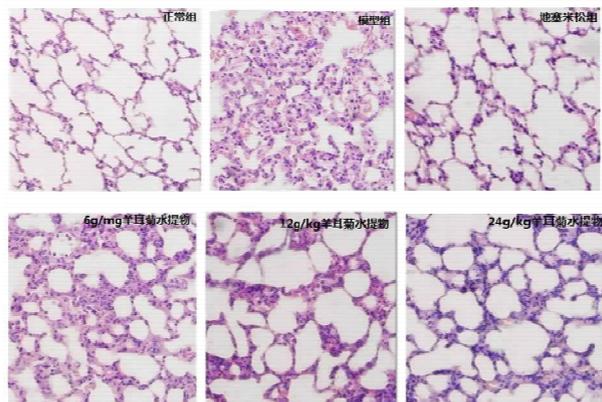


图 1 大鼠肺组织病理学变化($\times 200$)

2.3 羊耳菊水提物对肺炎大鼠支气管肺泡灌洗液中白细胞和中性粒细胞及肺组织 MPO 活性的影响

表1 羊耳菊水提取物对肺炎大鼠血气分析的变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	PaCO ₂ (kPa)	CO ₂ (mL/dL)	SaO ₂ (%)	PaO ₂ (kPa)
正常组	4.75 ± 0.86	23.23 ± 2.05	94.05 ± 4.47	8.89 ± 1.32
模型组	8.89 ± 0.56**	11.34 ± 2.02**	58.48 ± 7.87**	4.75 ± 0.75**
地塞米松组(1.04 mg/kg)	5.14 ± 0.35 ^{△△}	20.45 ± 2.44 ^{△△}	87.01 ± 7.32 ^{△△}	8.23 ± 0.87 ^{△△}
羊耳菊水提取物(6 g/kg)	8.12 ± 0.65 [△]	13.34 ± 2.65	73.34 ± 4.58 [△]	6.77 ± 1.21 ^{△△}
羊耳菊水提取物(12 g/kg)	6.76 ± 0.27 ^{△△}	16.57 ± 1.14 ^{△△}	80.42 ± 7.64 ^{△△}	6.91 ± 0.76 ^{△△}
羊耳菊水提取物(24 g/kg)	5.52 ± 0.55 ^{△△}	18.67 ± 4.33 ^{△△}	86.84 ± 4.35 ^{△△}	8.09 ± 0.83 ^{△△}

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表2 羊耳菊水提取物对肺炎大鼠各组外周血的白细胞和中性粒细胞变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	白细胞/mL	中性粒细胞/mL	MPO 活性(U/g 蛋白)
正常组	275 ± 15	402 ± 9	0.023 ± 0.007
模型组	943 ± 16**	1936 ± 28**	0.042 ± 0.006**
地塞米松组(1.04 mg/kg)	313 ± 11 ^{△△}	517 ± 12 ^{△△}	0.025 ± 0.005 ^{△△}
羊耳菊水提取物(6 g/kg)	794 ± 23*	1613 ± 18	0.039 ± 0.005
羊耳菊水提取物(12 g/kg)	653 ± 13*	1280 ± 14 ^{△△}	0.032 ± 0.004*
羊耳菊水提取物(24 g/kg)	385 ± 7 ^{△△}	786 ± 8 ^{△△}	0.026 ± 0.004 ^{△△}

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表3 羊耳菊水提取物对肺炎大鼠 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 的影响($\bar{x} \pm s, \text{pg}/\text{mg}$ 蛋白, $n = 10$)

组别	TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常组	103.11 ± 12.34	173.41 ± 12.87	51.86 ± 11.34
模型组	323.33 ± 18.96**	548.18 ± 26.34**	190.31 ± 19.43**
地塞米松组(1.04 mg/kg)	133.78 ± 12.56 ^{△△}	224.36 ± 16.86 ^{△△}	56.88 ± 8.45 ^{△△}
羊耳菊水提取物(6 g/kg)	314.18 ± 18.45	484.70 ± 20.54 [△]	166.45 ± 13.54
羊耳菊水提取物(12 g/kg)	276.93 ± 21.34 [△]	353.80 ± 19.56 [△]	141.55 ± 11.45 ^{△△}
羊耳菊水提取物(24 g/kg)	193.51 ± 18.34 ^{△△}	278.63 ± 16.34 ^{△△}	68.03 ± 8.56 ^{△△}

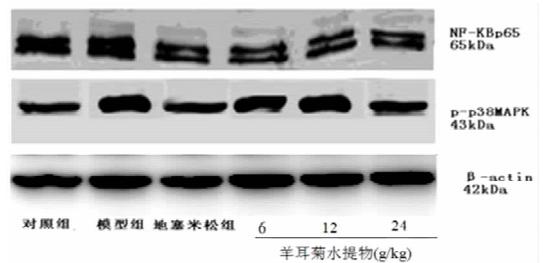
注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

与正常组比较,模型组大鼠支气管肺泡灌洗液中中性粒细胞、白细胞水平和肺组织中的 MPO 活性明显增加,差异有统计学意义($P < 0.01$),与模型组比较,地塞米松组和羊耳菊水提取物不同剂量组的大鼠的支气管肺泡灌洗液中的白细胞和中性粒细胞及肺组织中的 MPO 明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.4 羊耳菊水提取物对肺炎大鼠肺组织 TNF- α , IL-1 β , IL-6 的影响 与正常组比较,模型组大鼠中肺组织的 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,地塞米松和羊耳菊水提取物中高剂量组大鼠肺组织的 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平明显下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

2.5 羊耳菊水提取物对肺炎大鼠肺组织 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平的影响 与正常组比较,模型组 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,地塞米松组和羊耳菊水提取物不同剂量组均能明显降低

NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。见图2、表4。

图2 羊耳菊水提取物对肺炎大鼠肺组织 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平的影响表4 羊耳菊水提取物对肺炎大鼠肺组织 NF- κ Bp65、p-p38MAPK 蛋白水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	NF- κ Bp65	p-p38MAPK
正常组	0.58 ± 0.12	0.55 ± 0.07
模型组	1.13 ± 0.14**	0.97 ± 0.12**
地塞米松组(1.04 mg/kg)	0.63 ± 0.06 ^{△△}	0.61 ± 0.09 ^{△△}
羊耳菊水提取物(6 g/kg)	0.91 ± 0.03 [△]	0.85 ± 0.05 [△]
羊耳菊水提取物(12 g/kg)	0.82 ± 0.05 ^{△△}	0.74 ± 0.05 [△]
羊耳菊水提取物(24 g/kg)	0.71 ± 0.08 ^{△△}	0.65 ± 0.07 ^{△△}

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

3 讨论

重症肺炎是呼吸科临床常见的疾病,已经严重威胁人类的健康,每年大发病率达到1.2%,正确的制备肺炎模型对该病的发病机制和临床研究有重要意义。本研究采用从肺炎患者的唾液中分离得到的肺炎克雷伯菌临床株经培养后建立大鼠急性重症肺炎模型,大鼠的临床表现与重症肺炎患者在呼吸系统的临床表现相符^[6]。血气分析中某些因子水平通常作为肺炎程度的评价体系最重要的因素, $\text{SaO}_2 < 90\%$ 或动脉氧分压 $< 8 \text{ kPa}$ 基本可以确定为重症肺炎^[7],本实验制备大鼠肺炎不经过任何治疗6 d后发现大鼠的 SaO_2 仅有 $(58.48 \pm 7.87)\%$,而 PaO_2 仅有 $(4.75 \pm 0.75) \text{ kPa}$,说明肺炎克雷伯菌诱导大鼠肺炎完全有可能恶化为重症肺炎,而且术后处死的模型组大鼠白细胞计数、中性粒细胞计数及肺组织中的MPO活性明显增加较为明显,通过病理组织学观察显示,模型组肺泡壁加厚,并伴有大量的中性粒细胞,肺泡间质出现水肿和肺泡壁间质浸润。我们认为达到预定诊断标准的大鼠发病症状与临床上重症肺炎患者的发病情况比较类似,可以认为该方法成功建立了重症肺炎大鼠模型。

TNF- α 作为一种具有多种生物学效应的细胞因子,在各种疾病的发展中有着重要的特殊地位^[8],主要由激活的单核-巨噬细胞分泌,参与炎症反应和免疫应答,一定量的TNF- α 对机体具有抗感染和增强免疫力等作用,但大量的TNF- α 持续释放会诱导中性粒细胞局部浸润,引起局部炎症反应,使机体器官甚至多系统受损,TNF- α 作为早期启动炎症反应递质连锁反应的因子,可激活其他体内炎症反应因子IL-1 β ,IL-6等的释放。TNF- α ,IL-1 β 和IL-6等大量炎症反应因子的大量释放还诱导T细胞、B细胞、NK细胞核单核细胞等使其功能活性增强,加强感染症状,使得外周血液中的白细胞和中性粒细胞的大量产生。通过羊耳菊水提物治疗发现,不同剂量羊耳菊水提物能有效抑制TNF- α ,IL-1 β 和IL-6的释放和组织白细胞和中性粒细胞的大量产生,并且促使炎症反应减退从而达到治疗肺炎的效果,并呈现剂量依赖性^[9-12]。而且本研究中利用羊耳菊水提物不同剂量治疗6 d后,发现羊耳菊水提物能明显改善血流动力学和血气分析中的因子水平,这也进一步说明羊耳菊水提物治疗急性肺损伤效果明显。

研究显示,炎症反应递质的表达和MAPKs与NF- κ B信号级联途径密切相关。NF- κ B为一种能与基因的启动子或增强子特异性结合并启动转录的一

组转录调节因子,多数为p50和p65组成的同源或异源二聚体,调控细胞的炎症反应因子基因的表达,其活性受到IKB的抑制。而MAPKs信号通路的ERK、JNK和p38MAPK等家族成员均可调控炎症反应水平,通过作用于各自不同的底物,调控TNF- α ,IL-1 β 和IL-6等细胞因子的表达。研究显示,MAPKs与NF- κ B信号通路中家族成员异常表达与基因表达层面发生变异存在一定的联系,而炎症反应因子的旁分泌同样是其诱发的因素之一^[13]。研究表明,通过诱导炎症反应因子自分泌可激活MAPKs与NF- κ B信号通路中家族成员的表达,而MAPKs与NF- κ B信号通路中家族成员的激活反过来更刺激了炎症反应因子的产生及分泌,形成了一条MAPKs与NF- κ B信号正反馈持续激活的环路^[14]。因此,MAPKs与NF- κ B信号通路的阻断能有效的缓解急性肺损伤。本实验结果显示,羊耳菊水提物能有效的降低NF- κ Bp65、p-p38MAPK蛋白水平,并呈现剂量依赖性。MAPKs信号通路中,p38MAPK水平与NF- κ B的激活关系非常密切,其中p38MAPK的表达水平下降,NF- κ B的活性也会受到一定程度的影响。因此,MAPKs与NF- κ B信号级联途径都是急性肺损伤中抗炎的重要环节,为阻断炎症反应的重要靶点。

总之,羊耳菊水提物对肺炎克雷伯菌所致大鼠重症肺炎抗炎效果明显,能有效的改善肺功能。其中p38MAPK和NF- κ Bp65信号通路是羊耳菊水提物抗炎作用的主要靶点,可以为羊耳菊的开发提供新的研究路径。

参考文献

- [1]江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1977:698.
- [2]国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:627.
- [3]中国科学院《中国植物志》编写委员会. 中国植物志(第75卷)[M]. 北京:科技出版社,1979:271.
- [4]关焕玉,兰燕宇,廖尚高,等. 羊耳菊中咖啡酰基奎宁酸类化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(12):1948-1952. 2014,26(12):1948-1952.
- [5]莫佳佳,徐慕蝶,杨丹丹,等. 侗族药羊耳菊醇提物抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(21):258-260.
- [6]陈业民,黄文杰,李胜利,等. 肺炎克雷伯菌致大鼠重症肺炎模型的建立[J]. 第一军医大学学报,2005,25(12):1498-1502.
- [7]卢伟波,赵子文,钟维农,等. 肺炎克雷伯杆菌致大鼠重症肺炎模型的改良与评估[J]. 中国病理生理杂志,2013,29(3):571-576.
- [8]Petrionillo F, deSouza B, Vuolo F, et al. Protective effect of gastrin-releasing peptide receptor antagonist in carrageenan-induced pleural in-

flammation in rats[J]. *Inflamm Res*, 2010, 59(9):783-789.

[9] 孙雪东, 董金芳, 陆地, 等. 支气管肺泡灌洗液中的炎症因子在呼吸机相关性肺炎患者中的动态变化[J]. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(15):2189-2191.

[10] 王开富, 萧伟, 王振中, 等. 热毒宁注射液的解热抗炎作用及其机制[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(23):1918-1922.

[11] Li JL, Ng LG. Peeking into the secret life of neutrophils[J]. *Immunol Res*, 2012, 53(1-3):168-181.

[12] 白静慧, 朱相宇, 郑丽媛, 槲皮素对脓毒症急性肺损伤大鼠肺组织 NF- κ B 表达的影响[J]. *解剖科学进展*, 2014, 20(1):31-34.

[13] 张利鹏, 赵焱, 刘国娟, 等. 乌司他丁通过干预 p38MAPK/ERK 信号通路减轻脓毒症性肺损伤[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(9):1311-1316.

[14] 刘丹丹, 曹纲, 张琦, 等. 三叶青黄酮经 p38MAPK 和 NF- κ B 途径抑制老年小鼠急性肺损伤[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(12):1725-1730.

(2016-11-23 收稿 责任编辑:杨觉雄)

“国风养心杯”有奖征文通知

为了更好的交流养心氏片临床使用经验,为临床医生提供一个交流学术平台,《世界中医药》编辑委员会与上海医药集团青岛国风药业股份有限公司决定自 2016 年 5 月 1 日起,共同举办“国风养心杯”有奖征文活动,征文具体要求如下:

征文内容:1. 养心氏片临床疗效观察:

例如:养心氏片在改善稳定性冠心病及 PCI 术后心功能不全体征及症状,心律失常、糖尿病等相关并发症,围绝经期综合征,躯体症状障碍等临床疗效观察。

2. 同类产品比较应用的研究总结。

征文要求:1. 论文具有创新性和科学性,论点鲜明、论证充分、逻辑严谨、结果真实可靠,5000 字以内为宜,未公开发表及未在全国性会议上交流过。

2. 论文请按“题目、姓名、作者单位、邮编、摘要、关键词(以上中英文),正文、参考文献”的顺序排列。如多名作者,请在姓名右上角标明第一作者、第二作者及第三作者的数字序号,每篇论文作者一般不超过 5 人。

3. 论文摘要为 300~400 字,包括“研究目的、方法、结果、结论”四部分简要内容。

4. 论文后可附参考文献,书写格式如:

①(书)作者姓名、书名、出版社名、出版年月、页码;

②(期刊)作者姓名、文章名、期刊名、年份、卷(期)、页码。

5. 论文标题下请注明作者姓名、职称、工作单位、联系方式、邮箱及邮编。参选者请保留底稿。

稿件评审:本次活动的所有征文均由《世界中医药》杂志编辑部组织专家进行审阅并评选出优秀论文,获奖者均可获得一定的奖励。获奖文章将在 2016-2017 年《世界中医药》杂志正式发表,刊发前将专函通知获奖论文的第一作者,如有其他发表需求请电函。上海医药集团青岛国风药业股份有限公司将保留上述活动的解释权利,并拥有对来稿的处理权和各种媒体的使用权。

投稿方式:所有论文请以 Microsoft Word 电子文件形式,发至 growfulmkt@163.com,并注明“养心氏片有奖征文”字样;或致电:0532-86058972,18660222858。

联系人:刘先生。

截至时间:2017 年 12 月 31 日(以电子邮箱收到日期为准);所有征文恕不退稿,请自留底稿。

凡参加本项活动的第一作者均可获得上海医药集团青岛国风药业股份有限公司赠送的精美纪念品。

欢迎广大临床医生踊跃参加本项活动!