

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.01.027

稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片对阵发性房颤患者氧化应激、心肌纤维化和外周血单核细胞 Cx40、Cx43 的影响*

龙 骁 陈 然 黄玉艳 汤长春 李 亮

(南华大学附属长沙中心医院心内科 湖南 长沙 410000)

摘要 目的:观察稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片对阵发性房颤(PAF)患者氧化应激、心肌纤维化和外周血单核细胞缝隙连接蛋白40(Cx40)信使核糖核酸(mRNA)、缝隙连接蛋白43(Cx43)mRNA的影响。**方法:**选取2020年3月~2022年12月期间在我院治疗的79例PAF患者为研究对象。按照随机数字表法将患者分为对照组(39例,盐酸决奈达隆片治疗)和研究组(40例,稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片治疗)。对比两组房颤(AF)发作次数、静息心率、AF持续时间、氧化应激指标、心肌纤维化指标和外周血单核细胞Cx40mRNA、Cx43mRNA的变化情况。**结果:**与对照组治疗12周后相比,研究组的AF发作次数更少,静息心率更低,AF持续时间更短,丙二醛(MDA)、III型前胶原氨基末端肽(PIIINP)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、外周血单核细胞Cx40mRNA、Cx43mRNA更低,超氧化物歧化酶(SOD)更高($P<0.05$)。**结论:**稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片治疗PAF患者,可有效改善患者的临床症状,减轻患者的氧化应激、心肌纤维化损伤,调节外周血单核细胞Cx40mRNA、Cx43mRNA水平。

关键词:稳心颗粒;盐酸决奈达隆片;阵发性房颤;氧化应激;心肌纤维化;Cx40;Cx43

中图分类号:R541.75 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)01-140-04

Effects of Wenxin Granule Combined with Dronedaron Hydrochloride Tablets on Oxidative Stress, Myocardial Fibrosis and Peripheral Blood Mononuclear Cell Cx40 and Cx43 in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation*

LONG Xiao, CHEN Ran, HUANG Yu-yan, TANG Chang-chun, LI Liang

(Department of Internal Medicine-Cardiovascular, Changsha Central Hospital Affiliated to South China University, Changsha, Hunan, 410000, China)

ABSTRACT Objective: To observe the effects of wenxin granule combined with dronedarone hydrochloride tablets on oxidative stress, myocardial fibrosis and peripheral blood mononuclear cell connexin 40 (Cx40) messenger RNA (mRNA) and connexin 43 (Cx43) mRNA in patients with paroxysmal atrial fibrillation (PAF). **Methods:** 79 PAF patients who were treated in our hospital from March 2020 to December 2022 were selected as study subjects. Patients were divided into control group (39 cases, treated with dronedarone hydrochloride tablets) and study group (40 cases, treated with wenxin granule combined with dronedarone hydrochloride tablets) according to the random number table method. The frequency of atrial fibrillation (AF), resting heart rate, AF duration, oxidative stress index, myocardial fibrosis index and the changes of peripheral blood mononuclear cell Cx40mRNA and Cx43mRNA were compared between two groups. **Results:** Compared with the control group at 12 weeks after treatment, the study group had fewer AF attacks, lower resting heart rate, shorter AF duration, lower malondialdehyde (MDA), procollagen type III amino terminal peptide (PIIINP), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), peripheral blood, monocyte Cx40mRNA, Cx43mRNA, and higher superoxide dismutase (SOD) ($P<0.05$). **Conclusion:** Wenxin granule combined with dronedarone hydrochloride tablets in the treatment of PAF patients can effectively improve the clinical symptoms of patients, reduce the oxidative stress and myocardial fibrosis injury of patients, and regulate the levels of peripheral blood mononuclear cell Cx40mRNA and Cx43mRNA.

Key words: Wenxin granule; Dronedaron hydrochloride tablets; Paroxysmal atrial fibrillation; Oxidative stress; Myocardial fibrosis; Cx40; Cx43

Chinese Library Classification(CLC): R541.75 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)01-140-04

前言

房颤(AF)是临床上最常见的心律失常之一,具有较高的

* 基金项目:湖南省卫生健康委科研计划项目(20201904)

作者简介:龙骁(1979-),女,硕士,副主任医师,研究方向:冠心病、心衰、心律失常诊治,E-mail:Longxiao200306@163.com

(收稿日期:2023-06-17 接受日期:2023-07-12)

致残率和致死率^[1]。阵发性 AF(PAF)是 AF 发作的一种表现形式,是指 AF 发作后能在 1 周内转复为窦性心律,可伴心房纤维化和收缩功能减退,因此必须及时治疗^[2]。盐酸决奈达隆片是治疗 PAF 患者的常用药物,可减少因 AF 住院的风险,但仍有部分患者治疗效果一般^[3]。稳心颗粒是一种中成药,功效主要有活血化瘀、益气养阴,适用于心律失常、室性早搏、房性早搏等属上述症候者^[4]。

PAF 发病机制复杂,涉及氧化应激、心肌纤维化、心房肌细胞间的缝隙连接结构异常等诸多过程^[5],故本研究通过探讨稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片对 PAF 患者氧化应激、心肌纤维化和外周血单核细胞缝隙连接蛋白 40 (Cx40) 信使核糖核酸(mRNA)、缝隙连接蛋白 43(Cx43)mRNA 的影响,以期为临床治疗提供合理方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料

病例来源于 2020 年 3 月~2022 年 12 月期间收治的 79 例 PAF 患者。纳入标准:(1)AF 的诊断和分类参照《心房颤动:目前的认识和治疗建议(2018)》^[6]中的相关标准,经心电图检查确诊;(2)患者或其家属书面知情同意;(3)男女不限,年龄 40~80 岁;(4)对本次研究用药无过敏症者。排除标准:(1)合并慢性病;(2)持续性 AF 者;(3)伴有严重的心力衰竭,心功能 IV 级者;(4)合并严重血液系统疾病;(5)既往服用强效 CYP3A 抑制剂如克拉霉素等;(6)合并精神疾病患者。按照随机数字表法将患者分为对照组(39 例,盐酸决奈达隆片治疗)和研究组(40 例,稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片治疗)。对照组年龄 42~78 岁,平均(59.68±5.13)岁;男、女患者人数分别为 23 例和 16 例;病程 6 个月~3 年,平均(1.84±0.31)年;基础疾病:糖尿病、高血压、冠心病患者人数分别为 7 例、9 例、12 例。研究组年龄 44~77 岁,平均(59.15±5.37)岁;男、女患者人数分别为 25 例和 15 例;病程 8 个月~3 年,平均(1.87±0.28)年;基础疾病:糖尿病、高血压、冠心病患者人数分别为 9 例、10 例、11 例。两组一般资料对比未见差异($P>0.05$),均衡可比。本研究经我院伦理委员会批准进行。

1.2 方法

两组患者均接受降压、降糖、抗凝、抗血小板聚集、改善微循环等常规对症治疗,在此基础上,对照组接受石药集团欧意药业有限公司生产的盐酸决奈达隆片[国药准字 H20193291,规格:400 mg(以 C31H44N2O5S 计)]治疗,口服,每次一片(400 mg),每日 2 次,于早、晚餐时服用。研究组患者在对照组的基础上接受山东步长制药股份有限公司生产的稳心颗粒[国药准字 Z10950026,规格:(1)每袋装 9 g(相当于饮片 9 g)]治疗,一次 1 袋,开水冲服,一日 3 次。两组均连续治疗 12 周。

1.3 观察指标

1.3.1 临床症状比较 观察两组治疗前、治疗 12 周后的 AF 发作次数、静息心率、AF 持续时间。

1.3.2 氧化应激及心肌纤维化指标检测 治疗前、治疗 12 周后留取患者清晨空腹肘静脉血 10 mL,取其中 6 mL 血液标本经离心半径 8 cm,3200 r/min,离心 6 min,获取上清液。采用酶联免疫吸附法检测氧化应激指标:血清超氧化物歧化酶(SOD)

和丙二醛(MDA)和心肌纤维化指标:血清 III 型前胶原氨基末端肽(PⅢNP)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)水平。PⅢNP 和 MMP-2 试剂盒购自上海继和生物科技有限公司。SOD 和 MDA 试剂盒购自上海宝曼生物科技有限公司。

1.3.3 外周血单核细胞 Cx40、Cx43mRNA 检测 另取 4 mL 血液标本解冻,离心,分离出上层血浆成分,梯度离心后获取外周血单核细胞(PBMCs)。采用 Trizol 法(相关试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司)提取 PBMCs 总核糖核酸(RNA),反转录[相关试剂盒购自研载生物科技(上海)有限公司]得到互补脱氧核糖核酸(cDNA)。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR,试剂盒购自北京诺博莱德科技有限公司)对 Cx43mRNA、Cx40mRNA 及内参 β -actin 进行扩增反应。反应条件:95℃ 预变性 5 min,95℃ 30 s,60℃ 35 s,72℃ 30 s,共 40 个循环。引物由亚太恒信生物科技(北京)有限公司提供。Cx40mRNA 上游引物、下游引物分别为:5'-TCCCGCTGACCAAAGCAAAGGC-3',5'-ACGCCAAGTGATTGAACTCC-3'。内参 β -actin 上游引物、下游引物分别为:5'-CCTCCTGGGCATGGAGTCCTG-3',5'-CCACGGAGCGAACTGACACC-3'。Cx43mRNA 上游引物、下游引物分别为:5'-GGCGTGAGGAAAGTACCAA-3',5'-GGAGCAATGATCTTGATCTTC-3'。Cx40mRNA、Cx43mRNA 相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。

1.4 统计学方法

数据处理采用 SPSS 25.0 软件。氧化应激指标、心肌纤维化和外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 等计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,行 t 检验;性别比例、基础疾病等计数资料以 n(%)表示,行 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 AF 发作次数、静息心率、AF 持续时间对比

两组治疗前 AF 发作次数、静息心率、AF 持续时间对比未见统计学差异($P>0.05$)。两组治疗 12 周后 AF 发作次数减少,静息心率下降,AF 持续时间缩短,且研究组的改善效果优于对照组($P<0.05$),见表 1。

2.2 两组氧化应激指标对比

两组治疗前 SOD、MDA 对比未见统计学差异($P>0.05$)。两组治疗 12 周后 MDA 下降,且研究组低于对照组;SOD 升高,且研究组高于对照组($P<0.05$),见表 2。

2.3 两组心肌纤维化指标对比

两组治疗前 PⅢNP、MMP-2 对比未见统计学差异($P>0.05$)。两组治疗 12 周后 PⅢNP、MMP-2 均下降,且研究组低于对照组($P<0.05$),见表 3。

2.4 两组外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 对比

两组治疗前外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 对比未见统计学差异($P>0.05$)。两组治疗 12 周后外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 均下降,且研究组低于对照组($P<0.05$),见表 4。

3 讨论

中老年群体常伴有冠心病、糖尿病、高血压病等慢性病,随

着病程发展,逐渐出现心室重构,PAF也随之出现^[7]。目前 PAF 的发病机制仍未有明确定论,目前有研究认为^[8],心肌纤维化是多种心血管疾病心脏结构重构的特征性表现。相关报道指出^[9],氧化应激可引起心脏收缩障碍,从而引发多种心脏疾病。因此抗纤维化、抗氧化应激是早期治疗 PAF 的主要思路。随着对

PAF 研究的深入,学者们发现^[10],PAF 的发生与心房肌细胞间的缝隙连接结构密切相关。Cx40mRNA、Cx43mRNA 是组成心房及其传导系统缝隙连接的主要成分,其表达异常是多种心脏病发病的病理基础^[11,12]。因此,临床考虑以此作为治疗靶点之一,观察药物治疗的临床应用价值。

表 1 两组 AF 发作次数、静息心率、AF 持续时间对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of frequency of AF, resting heart rate and AF duration between two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	Frequency of AF (n/week)		Resting heart rate (n/min)		AF duration (h/n)	
	Before treatment	12 weeks after treatment	Before treatment	12 weeks after treatment	Before treatment	12 weeks after treatment
Control group(n=39)	3.87± 0.69	3.06± 0.51 ^a	98.46± 10.72	86.91± 9.24 ^a	10.38± 2.26	6.28± 1.73 ^a
Study group(n=40)	3.91± 0.62	2.37± 0.44 ^a	98.91± 13.68	79.83± 7.48 ^a	10.51± 3.76	4.32± 1.02 ^a
t	-0.271	6.444	-0.162	3.748	-0.186	6.153
P	0.787	0.000	0.871	0.000	0.853	0.000

Note: Compare with same group before treatment, ^aP<0.05.

表 2 两组氧化应激指标对比($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of oxidative stress indicators between two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	SOD(U/mL)		MDA(mmol/L)	
	Before treatment	12 weeks after treatment	Before treatment	12 weeks after treatment
Control group(n=39)	58.26± 6.38	69.34± 7.93 ^a	13.48± 3.78	8.39± 2.23 ^a
Study group(n=40)	58.93± 7.91	78.67± 6.47 ^a	13.97± 3.69	6.11± 1.74 ^a
t	-0.414	-5.736	-0.583	5.074
P	0.938	0.000	0.562	0.000

Note: Compare with same group before treatment, ^aP<0.05.

表 3 两组心肌纤维化指标对比($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of myocardial fibrosis indexes between two groups($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)

Groups	PIIINP		MMP-2	
	Before treatment	12 weeks after treatment	Before treatment	12 weeks after treatment
Control group(n=39)	139.48± 12.92	104.03± 13.71 ^a	196.42± 24.28	143.23± 16.09 ^a
Study group(n=40)	138.31± 11.84	81.28± 9.42 ^a	197.05± 23.87	104.98± 15.22 ^a
t	0.420	8.615	-0.116	10.857
P	0.676	0.000	0.908	0.000

Note: Compare with same group before treatment, ^aP<0.05.

表 4 两组外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 对比($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of Cx 40mRNA and Cx43mRNA in peripheral blood monocytes between two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	Cx40mRNA		Cx43mRNA	
	Before treatment	12 weeks after treatment	Before treatment	12 weeks after treatment
Control group(n=39)	3.79± 0.48	2.19± 0.42 ^a	2.62± 0.51	1.73± 0.47 ^a
Study group(n=40)	3.85± 0.61	1.41± 0.38 ^a	2.67± 0.69	1.24± 0.39 ^a
t	-0.485	8.660	-0.366	5.048
P	0.629	0.000	0.761	0.000

Note: Compare with same group before treatment, ^aP<0.05.

盐酸决奈达隆片是胺碘酮的衍生物,脱去了碘原子,引入甲磺胺基团,可抑制钙离子、钠离子、钾离子的离子通道,通过

延长动作电位时程、减缓传导速度、降低窦房结的自律性而产生抗心律失常作用^[13,14]。既往已有研究证实盐酸决奈达隆片可

有效降低 PAF 复发风险、延长复发时间^[15]。但长期用药会增加不良反应的发生风险，且停药后易复发。稳心颗粒由甘松、党参、三七、黄精、琥珀等组成，具有益气养阴、定悸复脉、活血化痰之功^[16]。本次研究结果显示，稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片治疗 PAF 患者，可减少 AF 发作次数，降低静息心率，缩短 AF 持续时间，提示联合治疗可进一步加强治疗效果。药理研究证实：稳心颗粒能显著提高钙离子活性，同时还可抑制钠钾通道降低心肌细胞的自律性来发挥预防 PAF 症状的作用^[17]。同时稳心颗粒能够减少心肌细胞的耗氧量，增强心肌收缩力，减轻心肌缺血的症状，改善微循环，减少 AF 发生次数，同时还可缩短动作电位时程，促使心房选择性抑制峰钠电流，以此达到控制 PAF 的目的^[18]。引起 PAF 的最终环节是心房电重构和结构重塑，氧化应激在其中发挥重要作用。本文的研究结果显示，稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片治疗 PAF 患者，可有效减轻患者的氧化应激。这可能是因为稳心颗粒具有血液、血管、心脏全程保护作用，黄精多糖可通过调节炎症反应和氧化反应，改善其心肌损伤，修复缺血心肌^[18]。心肌纤维化是多种心血管疾病发展至终末阶段的共同病理改变，脉管学说认为心肌纤维化是促进 PAF 疾病恶化的主要原因之一^[19]。本次研究结果显示，联合治疗可有效缓解 PAF 患者的心肌纤维化损伤。现代研究结果显示，稳心颗粒可直接或间接地保护心肌细胞，进而缓解心肌纤维化损伤，其中三七能通过抑制心肌炎症及纤维化而有效控制 PAF 患者的异常心律^[20]；党参具有改善心肌能量代谢、保护心肌细胞、抑制血小板聚集、改善微循环等多种作用^[21]。缝隙连接是将相邻细胞的细胞质进行连接的细胞内通道，其存在使得相邻细胞间的电活动能够同步进行^[22]。半通道通常由六个相同或不同的 Cx 形成，缝隙连接对相邻细胞间的电传导至关重要^[23]。Cx40mRNA、Cx43mRNA 大量表达于心房及其传导系统，在心房重构过程中，Cx40mRNA、Cx43mRNA 的分布和量会发生明显改变^[24]，这种改变与 PAF 的发生密切相关。本次研究结果显示，稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片可有效调节 PAF 患者外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 水平。基础研究结果显示^[25]：稳心颗粒可通过调控 Cx43mRNA 的表达分布，从而改善心脏类疾病。同时也有研究推测稳心颗粒可能通过调节内质网应激途径来调节外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 水平^[26]。

综上所述，稳心颗粒联合盐酸决奈达隆片治疗 PAF 患者，可有效改善患者的临床症状，减轻患者的氧化应激、心肌纤维化损伤，调节外周血单核细胞 Cx40mRNA、Cx43mRNA 水平。

参考文献(References)

- [1] 邓丹丹, 朱蓓, 侯莉. 心房颤动的流行病学及预防措施[J]. 中国临床保健杂志, 2021, 24(6): 737-741.
- [2] Margulescu AD, Mont L. Persistent atrial fibrillation vs paroxysmal atrial fibrillation: differences in management [J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2017, 15(8): 601-618.
- [3] 姜威锋, 宋俊钢, 张祎琳. 稳心颗粒联合决奈达隆治疗老年阵发性房颤的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(10): 2023-2027.
- [4] 胡菁, 方雁, 邹晋, 等. 稳心颗粒用于合并心房肌病心房颤动患者疗效分析[J]. 中国心血管病研究, 2023, 21(1): 36-39.
- [5] Nattel S, Dobrev D. Electrophysiological and molecular mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation [J]. Nat Rev Cardiol, 2016, 13(10): 575-590.
- [6] 黄从新, 张澍, 黄德嘉, 等. 心房颤动: 目前的认识和治疗建议(2018)[J]. 中华心律失常学杂志, 2018, 22(4): 279-346.
- [7] Frontera A, Carpenter A, Ahmed N, et al. Demographic and Clinical Characteristics to Predict Paroxysmal Atrial Fibrillation: Insights from an Implantable Loop Recorder Population [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2015, 38(10): 1217-1222.
- [8] Boyle PM, Del Álamo JC, Akoum N. Fibrosis, atrial fibrillation and stroke: clinical updates and emerging mechanistic models [J]. Heart, 2021, 107(2): 99-105.
- [9] Karam BS, Chavez-Moreno A, Koh W, et al. Oxidative stress and inflammation as central mediators of atrial fibrillation in obesity and diabetes[J]. Cardiovasc Diabetol, 2017, 16(1): 120.
- [10] Guo YH, Yang YQ. Atrial Fibrillation: Focus on Myocardial Connexins and Gap Junctions[J]. Biology (Basel), 2022, 11(4): 489.
- [11] Carballo S, Pfenniger A, Carballo D, et al. Differential Association of Cx37 and Cx40 Genetic Variants in Atrial Fibrillation with and without Underlying Structural Heart Disease [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(1): 295.
- [12] 李艳燕, 张博, 韩峰, 等. 缝隙连接蛋白 43 研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(19): 3731-3733.
- [13] 田拴红. 治疗心律失常药物盐酸决奈达隆的设计合成 [D]. 江西: 南昌大学, 2012.
- [14] Matijašić G, Gretić M, Kezerić K, et al. Preparation of Filaments and the 3D Printing of Dronedrone HCl Tablets for Treating Cardiac Arrhythmias[J]. AAPS PharmSciTech, 2019, 20(8): 310.
- [15] 高胜男, 李雪靖, 刘国强. 国产盐酸决奈达隆片治疗阵发性/持续性房颤的成本-效果分析[J]. 世界临床药物, 2021, 42(3): 202-207.
- [16] 卢健棋, 许志亮, 朱智德, 等. 基于网络药理学方法分析稳心颗粒治疗心律失常作用机制[J]. 西部中医药, 2023, 36(3): 10-18.
- [17] 陈慧, 吴利云, 郑道国, 等. 稳心颗粒联合常规治疗对阵发性心房颤动患者心功能、心室重构及局部炎症反应的影响[J]. 中国基层医药, 2019, 26(5): 600-604.
- [18] 夏海江, 查渭, 沈红枫, 等. 稳心颗粒联合西药治疗阵发性心房颤动临床研究[J]. 新中医, 2023, 55(2): 65-68.
- [19] 马晓海, 赵蕾, 李松南, 等. 心房颤动患者左心室心肌纤维化的 MR 定量分析研究[J]. 中国医学影像技术, 2017, 33(8): 1134-1138.
- [20] 陶诗怡, 于林童, 朱春临, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨三七治疗心房颤动的分子生物学机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(22): 3853-3862.
- [21] 李力恒, 陈昌瑾, 胡晓阳, 等. 党参的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(3): 112-115.
- [22] Beyers EC, Berthoud VM. Gap junction gene and protein families: Connexins, innexins, and pannexins [J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2018, 1860(1): 5-8.
- [23] Ueda N, Yamamoto M, Honjo H, et al. The role of gap junctions in stretch-induced atrial fibrillation [J]. Cardiovasc Res, 2014, 104(2): 364-370.
- [24] Desplantez T. Cardiac Cx43, Cx40 and Cx45 co-assembly: involvement of connexins epitopes in formation of hemichannels and Gap junction channels[J]. BMC Cell Biol, 2017, 18(Suppl 1): 3.
- [25] 吕梦, 纪晓迪, 刘珂珂, 等. 稳心颗粒调节心肌梗死大鼠心肌缝隙连接蛋白 43 表达及自噬的研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2023, 21(3): 426-431.
- [26] 黄涯. 基于内质网应激调控缝隙连接蛋白 43 表达的稳心颗粒循证和实验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.