

痛风颗粒抗痛风有效部位群研究

刘 静, 徐玲玲*, 徐 熠

上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院 药剂科, 上海 200437

摘要:目的 研究痛风颗粒不同提取部位(群)的抗炎、降尿酸作用及对肾脏的影响,筛选痛风颗粒抗痛风的有效部位(群)。方法 大鼠足跖注射微晶型尿酸钠制备踝关节肿胀、足跖肿胀模型,腺嘌呤+盐酸乙胺丁醇制备大鼠高尿酸血症模型。通过检测大鼠足肿胀率、血尿酸(UA)值、肌酐(Cr)、血尿素氮(BUN)水平和肾脏系数,筛选痛风颗粒不同提取部位中的有效部位(群)。结果 痛风颗粒A部位(主要由黄酮、生物碱、有机酸组成)显示出显著的抗炎、降尿酸和一定的肾脏保护作用:显著抑制尿酸钠致大鼠的足跖肿胀及踝关节肿胀($P < 0.01$);显著降低高尿酸血症大鼠的血UA、Cr及BUN水平($P < 0.01$);但与模型组比较,各给药组肾脏系数无显著改变。结论 在各提取部位中,A部位降尿酸、抗炎作用最强,与痛风颗粒全方作用强度相当。

关键词: 痛风颗粒; 痛风; 有效部位群; 尿酸; 抗炎

中图分类号: R285.5; R971.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)05-0590-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.05.018

Antigout active fractions in Tongfeng Granule

LIU Jing, XU Ling-ling, XU Yi

Department of Pharmacy, Yueyang Hospital of Integration of Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Abstract: Objective To observe the therapeutic effect of the various active fractions in Tongfeng Granule on gouty arthritis, gouty hyperuricemia with renal protection. **Methods** The swelling models of ankle and voix pedis in rats were induced by microcrystal monosodium urate (MSU) and the hyperuricemia model in rats was induced by adenine and ethambutol. The swelling rate, blood uric acid (UA) level, creatinine (Cr), blood urea nitrogen (BUN) level, and kidney indexes of rats were measured to screen antigout active fractions in Tongfeng Granule. **Results** Fraction A (mainly consisting of flavonoids, alkaloids, and organic acids) in Tongfeng Granule showed the significant effect on gouty arthritis, gouty hyperuricemia with certain renal protection; It could significantly reduce the foot swelling rate ($P < 0.01$) and the contents of UA, Cr, and BUN in rats ($P < 0.01$); But compared with the model group, there was no significant difference in kidney indexes. **Conclusion** Of all the fractions, fraction A has the highest inhibitory effects on inflammation and UA.

Key words: Tongfeng Granule; gout; active fractions; uric acid; anti-inflammation

痛风颗粒由茵陈、连钱草、伸筋草组成,具有清热利湿、通络的功效,临床上主要用于治疗痛风性关节炎等症,疗效显著^[1]。处方中药材的化学成分和药理作用已有较系统研究^[2-11]。前期研究采用溶剂法制备了痛风颗粒石油醚、醋酸乙酯、乙醇、水4个提取部位,以抗炎、降尿酸活性为指标,追踪活性部位(群),但各组抗炎、降尿酸效果无明显统计学差异,原因可能为各类成分在这4个提取部位中均有不同程度的分布,不能相对集中。本实

验结合痛风颗粒中化学成分类型和药效的特点,按照复方有效部位(成分类型)的研究思路^[12],筛选痛风颗粒治疗痛风的有效部位群,为进一步探讨该方的药效物质基础和新药开发提供依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

茵陈、连钱草、伸筋草按1:1:1混合,提取总黄酮、总生物碱和总有机酸,所得各部位质量分数均>50%,由上海诗丹德生物技术有限公司提供,

收稿日期: 2012-10-23

基金项目: 上海市卫生局科研课题(2010013)

作者简介: 刘 静(1988—),女,硕士研究生,研究方向为医院药学和中药制剂质量标准。E-mail: liujing411627@163.com

*通信作者 徐玲玲 Tel: (021)65161782-2131 E-mail: xulingling53@163.com

苯溴马隆(立加利仙), 50 mg/片, 德国赫曼大药厂, 批号 1100799; 盐酸乙胺丁醇, 上海信谊药厂有限公司, 批号 120605。腺嘌呤、尿酸(UA), 美国 Sigma 公司; UA、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)试剂盒, 南京建成生物工程有限公司。NaOH, 上海凌峰化学试剂有限公司; 80%乙醇, 上海怡峰化工有限公司; HCl、氯仿、醋酸乙酯, 国药集团化学试剂有限公司; 200~300 目聚酰胺树脂, 上海杰庆生物科技有限公司。

1.2 动物

SD 大鼠, 雄性, 清洁级, 体质量(200±20) g, 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院实验动物中心提供, 许可证号: SYXK(沪)2011-0109。

1.3 仪器

Alpha—150p 紫外可见分光光度计, 上海谱元仪器有限公司; TGL—16M 离心机, 上海沪湘仪; LeicaHI1210 恒温水浴锅; BS124S 电子分析天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; RE—52CS 旋转蒸发仪, 上海雅荣生化仪器设备有限公司; 自制足跖容积测量仪。

2 方法

2.1 全方不同部位(群)的正交设计

选用 $L_4(2^3)$ 正交设计表, 对全方的不同提取部位(群)进行正交设计, 共分 A~D 4 组。总黄酮、总生物碱、总有机酸均从复方中提取出来, 各提取物的质量分数均大于 50%, 组成比例按从复方中取得率折算, 其比例为 25:10:2。正交设计因素水平见表 1。

表 1 痛风颗粒不同提取部位 $L_4(2^3)$ 正交设计表
Table 1 $L_4(2^3)$ orthogonal design of different extract fractions in Tongfeng Garnule

组别	因素		
	总黄酮	总生物碱	总有机酸
A	1	1	1
B	1	0	0
C	0	1	0
D	0	0	1

“1”为有该部位; “0”为无该部位

“1” shows existence of active fractions, while “0” stands for absence

2.2 分组与给药

大鼠适应性饲养 3 d 后, 按随机数字表随机分为对照组、模型组、痛风颗粒组、苯溴马隆阳性对照组, 痛风颗粒部位 A、B、C、D 组, 每组 8 只。

对照组和模型组均 ig 蒸馏水, 痛风颗粒给药组 ig 生药 6.88 g/kg 的痛风颗粒煎剂^[13]、部位 A (50.23 mg/mL)、B (32.1 mg/mL)、C (2.85 mg/mL)、D (15.28 mg/mL) 分别 ig 相应药物(配制量按 A、B、C、D 各部位提取率折算成与痛风颗粒组药材中所含 A、B、C、D 各类成分的量一致); 阳性对照组 ig 苯溴马隆 5.25 mg/kg。每天上午给药 1 次。

2.3 尿酸钠晶体的制备^[14]

取 5 g 的 UA 加入 1 000 mL 沸水中, 用 NaOH 溶液调 pH 至 7.2, 溶液呈现乳白色后立即以 3 000 r/min 离心 2 min。将上清液反复离心至晶体不再析出, 晶体用生理盐水注射液洗涤, 滤纸吸干, 70 °C 烘干后收集于 Ep 管中 4 °C 保存。临用前 180 °C 高温灭菌, 用生理盐水注射液配成 100 mg/mL 悬浮液。

2.4 模型制备

2.4.1 尿酸钠致大鼠急性足跖肿胀模型制备^[15] 除对照组外, 其他各组大鼠在给药第 6 天用标记笔于左后足踝关节下处标记一点, 并测量标记线以下足容积, 作为正常值。第 7 天给药 1 h 后, 向大鼠左后足跖底部 sc 100 mg/mL 的尿酸钠溶液 0.2 mL 造模。于造模后 1、2、4、6 h 同法测量足容积, 计算足跖肿胀率[肿胀率=(致炎后足容积-致炎前足容积)/致炎前足容积]。

2.4.2 尿酸钠致大鼠急性痛风性踝关节炎模型的制备^[16] 各组大鼠连续 ig 给药 15 d, 给药第 14 天, 除对照组外的其他各组大鼠右后足踝关节处标记一点, 测量标记线处踝关节周径长, 作为正常值。第 15 天末次给药后 1 h, 向每只大鼠右后肢踝关节腔 sc 100 mg/mL 的尿酸钠溶液 0.2 mL 致踝关节肿胀, 分别于注射尿酸钠后 1、6、12、24、48 h 后同法测量右后足踝关节标记处周长, 计算关节肿胀率[肿胀率=(致炎后关节周长-致炎前关节周长)/致炎前关节周长]。

2.4.3 高尿酸血症大鼠模型制备 各给药组连续 ig 给药至 20 d, 第 21 天, 除对照组外, 其他各组大鼠上午 ig 给药, 下午 ig 给予腺嘌呤+盐酸乙胺丁醇混悬液(腺嘌呤 100 mg/kg、盐酸乙胺丁醇 250 mg/kg, 置于蒸馏水中, 制备浓度分别为 1%、2.5% 的混悬液), 诱导大鼠高尿酸血症动物模型^[17-18], 连续造模 10 d。

2.5 样本采集与 UA、Cr、BUN 和肾脏指标检测

高尿酸血症造模第 11 天, 各组大鼠注射 10%

水合氯醛 3 mL/kg 麻醉, 腹主动脉取血 8 mL, 置于非抗凝管中, 离心分离血清, 供 UA、Cr、BUN 检测, 操作按照相应试剂盒方法进行。

腹主动脉取血后, 摘取左右肾脏, 剥离组织和包膜, 称质量, 计算肾脏指数。

$$\text{肾脏指数} = (\text{左肾质量} + \text{右肾质量}) / (\text{体质量} \times 2)$$

2.6 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验, 关节肿胀和足跖肿胀实验为

重复测量数据, 采用重复测量过程结合多元方差分析 (Multivariate) 进行分析。

3 结果

3.1 对尿酸钠致大鼠足跖肿胀的影响

模型组大鼠足跖肿胀率在造模 2 h 后达峰值, 与其相比, 各给药组均能不同程度地抑制尿酸钠所致大鼠足跖肿胀 ($P < 0.01$); 而在造模后 4、6 h 时, 仅痛风颗粒组、苯溴马隆组、部位群 A 和 D 组对足跖肿胀具有明显的抑制作用 ($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 2 痛风颗粒及其各提取部位 (群) 对尿酸钠致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	肿胀率 / %			
		造模后 1 h	造模后 2 h	造模后 4 h	造模后 6 h
模型	-	25.15 ± 3.52	32.63 ± 5.79	20.31 ± 4.47	12.73 ± 3.85
痛风颗粒	6.88	25.24 ± 5.01	17.21 ± 2.40**	8.30 ± 1.59**	4.90 ± 0.37**
部位 A	6.88	18.26 ± 4.08**	13.78 ± 2.53**	10.61 ± 2.19**	5.18 ± 1.63**
部位 B	6.88	23.71 ± 3.21	23.98 ± 3.34**	20.02 ± 2.12	12.12 ± 3.42
部位 C	6.88	26.61 ± 4.93	28.66 ± 6.77**	19.00 ± 3.11	14.10 ± 2.79
部位 D	6.88	22.51 ± 4.06	16.29 ± 2.03**	13.09 ± 2.97**	10.36 ± 2.77
苯溴马隆	0.005 25	22.38 ± 1.98	14.71 ± 0.73**	7.06 ± 0.99**	5.54 ± 1.35**

与模型组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs model group

3.2 对尿酸钠致大鼠急性痛风性踝关节炎的影响

模型组大鼠踝关节肿胀率在造模后 24 h 达峰值, 与其相比, 各给药组均能不同程度地抑制尿酸钠致大鼠踝关节肿胀 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 痛风颗粒组在造模后各个时间点对大鼠踝关节肿胀均有显著抑制作用 ($P < 0.05, 0.01$); 苯溴马隆组

和部位 A 组在造模后 6、12、24、48 h 均有显著抑制作用 ($P < 0.01$), 效果优于部位 B、C、D。结果见表 3。

3.3 对高尿酸血症大鼠的影响

3.3.1 对血清 UA 水平的影响 与对照组相比, 模型组大鼠血清 UA 水平显著升高 ($P < 0.01$), 表明

表 3 痛风颗粒及其各提取部位 (群) 对尿酸钠致大鼠踝关节肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	踝关节周长 / cm	肿胀率 / %				
			造模后 1 h	造模后 6 h	造模后 12 h	造模后 24 h	造模后 48 h
模型	-	2.65 ± 0.05	22.18 ± 1.60	22.45 ± 2.13	23.53 ± 1.96	25.22 ± 1.36	19.17 ± 1.26
痛风颗粒	6.88	2.66 ± 0.05	20.04 ± 1.20**	18.32 ± 0.80**	18.79 ± 0.88**	15.78 ± 1.22**	9.09 ± 0.98**
部位 A	6.88	2.68 ± 0.05	21.45 ± 1.01	20.27 ± 2.97*	20.64 ± 2.83*	18.73 ± 3.07**	13.79 ± 2.97**
部位 B	6.88	2.65 ± 0.09	21.15 ± 1.77	21.19 ± 1.03	20.57 ± 1.13*	17.93 ± 1.07**	19.19 ± 2.32
部位 C	6.88	2.65 ± 0.05	22.47 ± 1.52	22.16 ± 2.31	24.05 ± 1.73	21.36 ± 1.89**	20.10 ± 2.15
部位 D	6.88	2.64 ± 0.03	20.84 ± 1.65	23.02 ± 2.23	24.54 ± 2.26	22.27 ± 2.17**	17.33 ± 1.93
苯溴马隆	0.005 25	2.68 ± 0.08	22.12 ± 1.21	20.30 ± 1.08*	17.14 ± 4.03**	16.27 ± 2.74**	11.54 ± 2.51**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

造模成功。与模型组相比，痛风颗粒组、苯溴马隆组、部位 A、B 组均能显著抑制尿酸的升高 ($P < 0.01$)，其中以苯溴马隆和部位 A 的作用最为显著。结果见表 4。

3.3.2 对血清 BUN 和 Cr 水平的影响 与对照组相比，模型组大鼠血清 Cr、BUN 均明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比，痛风颗粒组及部位 A、B 组大鼠血清 BUN 和 Cr 均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，苯溴马隆对 BUN 和 Cr 则无显著影响。结果见表 4。

3.3.3 对肾脏指数的影响 与对照组相比，模型组

大鼠肾脏指数明显增大 ($P < 0.01$)；各给药组大鼠肾脏指数与模型组无显著性差异，可能是造模时间较短，尿酸未能在肾脏累积，未使大鼠肾脏产生器质性变化所致。结果见表 4。

3.4 各部位正交设计的药效分析

各部位正交设计的药效分析结果见表 5。由表中 K 和 R 值直观分析可见：黄酮在抗炎、降尿酸和保护肾脏方面均起主要作用；在尿酸钠所致炎症模型中，有机酸起主要抗炎作用；生物碱在降低 BUN、Cr 值方面有较重要作用。

表 4 痛风颗粒及其各提取部位 (群) 对高尿酸血症大鼠 UA、BUN 和 Cr 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effects of Tongfeng Granule and its extract fractions on UA, BUN, and Cr in hyperuricemic rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	UA / (mg·L ⁻¹)	BUN / (mmol·L ⁻¹)	Cr / (μmol·L ⁻¹)	肾脏指数 / (mg·g ⁻¹)
对照	-	40.68 ± 7.37	6.76 ± 0.67	63.19 ± 4.68	3.44 ± 0.35
模型	-	77.86 ± 2.81 ^{▲▲}	10.95 ± 1.36 ^{▲▲}	98.58 ± 18.68 ^{▲▲}	4.30 ± 0.40 ^{▲▲}
痛风颗粒	6.88	43.91 ± 7.92 ^{**}	7.44 ± 1.56 ^{**}	73.30 ± 9.09 ^{**}	4.26 ± 0.37 ^{▲▲}
部位 A	6.88	42.56 ± 3.78 ^{**}	8.15 ± 0.90 ^{**}	78.86 ± 11.59 ^{**▲}	4.44 ± 0.51 ^{▲▲}
部位 B	6.88	46.01 ± 6.87 ^{**}	8.53 ± 0.50 ^{**▲}	81.39 ± 12.26 ^{*▲}	4.62 ± 0.39 ^{▲▲}
部位 C	6.88	73.76 ± 3.75 ^{▲▲}	8.60 ± 1.59 ^{**▲}	89.22 ± 17.71 ^{▲▲}	4.65 ± 0.43 ^{▲▲}
部位 D	6.88	72.52 ± 1.64 ^{▲▲}	10.65 ± 2.15 ^{▲▲}	89.48 ± 20.92 ^{▲▲}	4.26 ± 0.35 ^{▲▲}
苯溴马隆	0.005 25	41.49 ± 6.57 ^{**}	10.36 ± 1.46 ^{▲▲}	89.48 ± 20.02 ^{▲▲}	4.32 ± 0.38 ^{▲▲}

与对照组比较：▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

表 5 各部位群正交设计的药效分析

Table 5 Pharmacodynamic analysis on orthogonal design of each fraction

试验号	因素			造模后 6 h	造模后 48 h	UA /	BUN /	Cr /
	黄酮	生物碱	有机酸	足跖肿胀率 / %	踝关节肿胀率 / %	(mg·L ⁻¹)	(mmol·L ⁻¹)	(μmol·L ⁻¹)
A	1	1	1	5.18	13.79	42.56	8.15	78.86
B	1	0	0	12.12	19.19	46.01	8.53	81.39
C	0	1	0	14.10	20.10	73.76	8.60	89.22
D	0	0	1	10.36	17.33	72.52	10.65	89.48
足跖	K_1	17.30	19.28	15.54				
	K_2	24.46	22.48	26.22				
	R	7.16	3.20	10.68				
踝关节	K_1	32.98	33.89	31.12				
	K_2	37.43	36.52	39.29				
	R	4.45	2.63	8.17				
UA	K_1	88.57	116.32	115.08				
	K_2	146.28	118.53	119.77				
	R	57.71	2.21	4.69				
BUN	K_1	16.68	16.75	18.80				
	K_2	19.25	19.18	17.13				
	R	2.57	2.43	1.67				
Cr	K_1	160.25	168.08	168.34				
	K_2	178.70	170.87	170.61				
	R	18.45	2.79	2.27				

4 讨论

痛风属于中医“热痹”范畴，中医对其通常采用疏风通络、清热除湿、泄浊化瘀、消肿止痛的综合治疗方法^[19]。痛风颗粒中茵陈作为君药，取其清利湿热、芳香舒脾、透表畅气之效，有通利关节、清利湿热、利胆退黄之效；臣药连钱草，取其消石之功，防止痛风性尿路结石的产生，具有利湿通淋、清热解毒、散瘀消肿之功效；配伍茵陈可以增强该复方利湿通络的作用。复方中佐药“其性走而不守，其用沉而不浮”，有祛风除湿、舒筋活血之效，为治痹痛拘挛及伤损瘀肿之要药，该方配伍符合中医理论对痛风的认识。

原发性痛风性关节炎是由于长期嘌呤代谢紊乱、尿酸增高所引起的，长期患病会造成关节畸形、肾脏慢性间质性肾炎和尿酸性肾结石。本实验以抗炎、降尿酸及对肾脏的影响为指标，对痛风颗粒的各部位群进行筛选，确定该处方的有效部位群。结果表明，部位A对降尿酸、抑制黄嘌呤氧化酶活性、肾脏保护具有显著作用，表明其主要通过促进体内尿酸排泄，抑制黄嘌呤氧化酶活性达到降尿酸作用。各部位单独给药的抗炎、降尿酸药效和抑制黄嘌呤氧化酶活性的作用均较全方的药效弱，而部位群组合（部位A）后的药效与全方无统计学差异，体现了复方药效物质基础的综合性和整体性。

参考文献

- [1] 徐 熠, 徐玲玲, 年 华. 痛风颗粒抗炎、降尿酸作用的实验研究 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2011, 11(1): 52-54.
- [2] 李志平, 尹笃林, 李佑稷, 等. 超声波和微波辅助法提取茵陈总黄酮的条件研究 [J]. 湖南城市学院学报, 2007, 16(3): 56-58.
- [3] 江 滨, 王风云, 曾元儿. 绵茵陈药材提取液中绿原酸稳定性影响因素考察 [J]. 中成药, 2007, 29(3): 359-361.
- [4] 杨念云, 段金彪, 李 萍, 等. 连钱草中的黄酮类化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(3): 210-212.
- [5] 于志斌, 吴 霞, 叶蕴华. 连钱草化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(2): 262-264.
- [6] 谭昌恒, 朱大元. 石松生物碱研究进展 [J]. 天然药物化学, 2003, 1(1): 1-7.
- [7] 郑海兴. 伸筋草煎剂对小鼠抗炎镇痛药理实验研究 [J]. 牡丹江医学院学报, 2005, 26(2): 10-12.
- [8] 徐 熠, 徐玲玲, 年 华. HPLC 测定痛风颗粒中绿原酸和阿魏酸的含量 [J]. 上海医药, 2010, 31(7): 325-327.
- [9] 孙冬梅, 谭志灿, 毕晓黎, 等. 茵陈配方颗粒红外光谱分析及总黄酮含量测定 [J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(6): 30-33.
- [10] Rastelli G, Costantino L, Albasini A. A model of the interaction of substrates and inhibitors with Xanthine oxidase [J]. *J Am Chem Soc*, 1997, 119(13): 3007-3016.
- [11] da Silva S L, da Silva A, Honorio K M, et al. The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the Xanthine oxidase [J]. *J Mol Struct*, 2004, 684(1/3): 1-7.
- [12] 罗国安, 王义明. 中药复方有效部分研究方法及其理论初探 [J]. 中成药, 1997, 19(8): 44-45.
- [13] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [14] 杨洪霞, 杨丽芸, 张灵敏, 等. 痛风饮对实验性急性痛风性关节炎大鼠抗炎镇痛作用机制的研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11): 2784-2786.
- [15] 时 乐, 徐 立, 尹 莲. 去多糖处理对加味四妙方抗炎镇痛作用的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(1): 7-9.
- [16] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修. 药理实验方法学 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [17] 熊湘明, 曲竹秋. 大鼠高尿酸血症模型建立 [J]. 天津中医学院学报, 2001, 20(4): 28-29.
- [18] 刘 静, 徐玲玲. 常用痛风模型的作用机制及评价 [J]. 中国药师, 2012, 15(8): 1193-1194.
- [19] 施丽娜, 钱 先. 痛风性关节炎中医药研究进展 [J]. 中医药导报, 2011, 17(11): 81-82.