

基于整合网络药理学和化学物质组学的灯台叶片的抗炎作用机制研究

白隆博¹, 马逍遙², 常念伟³, 胡雪岩², 程彬峰², 侯媛媛^{2*}, 白 钢²

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 南开大学药学院, 天津 300353

3. 天津中医药大学药学院, 天津 300193

摘要: 目的 基于网络药理学和化学物质组学探讨灯台叶片生物碱的抗炎作用机制。方法 采用 UPLC-Q/TOF 解析灯台叶片中的主要吲哚类生物碱, 通过网络药理学、反向对接以及生物信息学分析推测主要作用靶点和通路, 并采用 Western blotting 方法对脂多糖 (LPS) 诱导的 BEAS-2B 细胞炎症模型主要节点蛋白的磷酸化水平进行验证。结果 灯台叶片提取物中主要含有的 12 种吲哚类生物碱, 分别作用于 PDPK1 (PDK1)、MAPK1 (ERK2)、MAPK8 (JNK1) 等多个炎症靶点, 灯台叶片提取物能够降低 LPS 诱导的 ERK2、JNK1、IKK 的磷酸化水平。结论 灯台叶片中的吲哚类生物碱作为其抗炎的质量标志物, 抑制了 PI3K/Akt/NF- κ B 和 MAPK 通路, 是其治疗慢性支气管炎潜在的分子机制。

关键词: 灯台叶片; 抗炎; 网络药理学; 化学物质组学; 质量标志物

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)16-3861-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.16.020

Mechanism of anti-inflammatory for Dengtaiye Tablets based on integrated network pharmacology and chemomics

BAI Long-bo¹, MA Xiao-yao², CHANG Nian-wei³, HU Xue-yan², CHENG Bin-feng², HOU Yuan-yuan², BAI Gang²

1. College of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300353, China

3. College of Pharmacy, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To investigate the anti-inflammatory mechanism of the alkaloids in Dengtaiye Tablets (DTYT) based on the network pharmacology and chemomics. **Methods** The main indole alkaloids in the DTYT from *Folium Alstoniae Scholaris* were identified by UPLC-Q/TOF. The network pharmacology coupled with virtual docking technology and bioinformatics analysis were carried out for screening the key protein targets and pathways. Western blotting was utilized for evaluating the phosphorylation level of the primary node proteins in BEAS-2B cells inflammatory model induced by LPS. **Results** Twelve indole alkaloids were found in DTYT extract, which act on different protein targets, such as PDPK1 (PDK1), MAPK1 (ERK2), and MAPK8 (JNK1) respectively, and reduce the level of ERK2, JNK1, and IKK phosphorylation induced by LPS. **Conclusion** As the Q-markers of anti-inflammatory, the indole alkaloids contained in DTYT inhibited the PDK1/AKT/NF- κ B and MAPK pathways, which present potential molecular mechanisms for the treatment of chronic bronchitis of DTYT.

Key words: Dengtaiye Tablets; anti-inflammatory; network pharmacology; chemomics; Q-marker

灯台叶 *Folium Alstoniae Scholaris* 为夹竹桃科植物糖胶树 *Alstonia scholaris* (L.) R. Br. 的干燥叶子, 为我国广东、广西及云南等地的少数民族传统用药。灯台叶收载于地方药志《陆川本草》和《云南中草药选》中, 并曾被《云南省药品标准》和《中

国药典》所收载。灯台叶性凉、味苦, 具有止咳祛痰、消炎退热的功效。以其为原料先后开发成功了灯台叶颗粒、灯台叶片等多种制剂。灯台叶的主要药效成分为灯台叶生物碱, 其具有抗炎、镇咳、平喘等多种功效^[1-3]。通过 UPLC/Q-TOF 结合谱效筛

收稿日期: 2018-02-12

作者简介: 白隆博 (1997—), 男, 在读本科生, 药学专业。E-mail: 215502436@qq.com

*通信作者 侯媛媛, 女, 副教授, 研究方向为复方药物与系统生物学。Tel: (022)23506930 E-mail: houyy@nankai.edu.cn

选的手段,前期的研究曾相继发现了多种抗炎平喘相关的吡咯生物碱^[4-5]。目前,灯台叶片主要用于治疗慢性支气管炎、咳嗽,具有止咳化痰的功效^[6],但对其含有的主要药效成分和作用分子机制尚不清楚。本研究从灯台叶片的化学物质组学入手,并整合生物信息学手段发现其主要作用节点和通路,从整体物质组学和网络药理学角度探究其生物碱成分的多成分、多靶点、多途径治疗呼吸道感染的科学内涵,为寻找灯台叶片的质量标志物,有效控制中药质量奠定基础。

1 材料

Waters UPLC/Q-TOF primer 串联质谱仪及 Masslynx 工作站(美国 Waters 公司);超纯水仪 Milli-Q(美国 Millipore 公司);倒置生物相差显微镜(日本 Olympus 公司);二氧化碳细胞培养箱(中国 Heal Force 公司);生物安全柜(美国 ESCO 公司);超声波振荡器(广东固特超声股份有限公司)。灯台叶片(云南大唐汉方制药有限公司,批号 Z20043260);地塞米松(Dex,上海源叶生物有限公司,批号 Y19O7C23082);色谱纯乙腈、甲酸(美国 Fisher 公司);Trizol(美国 Invitrogen 公司);DMEM/F12 培养基、胎牛血清(美国 Hyclone 公司);Anti-ERK1/2、IKK、STAT3、GADPH 和 p-STAT3, p-ERK1/2、p-IKK 多克隆一抗以及 HRP 标记的羊抗 IgG 二抗(美国 CST 公司)均为市售品;脂多糖(LPS,美国 Sigma 公司,批号 L2880)。

人支气管上皮样细胞 BEAS-2B(美国 ATCC 公司)。

2 方法

2.1 样品制备

取灯台叶片 0.6 g (0.1 g/片),去糖衣粉碎后置于 70% 甲醇水中,超声振荡溶解 15 min,取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜滤过,滤液浓缩干燥后得灯台叶片提取物, -20 $^{\circ}\text{C}$ 低温保存备用。

2.2 UPLC/Q-TOF 分析

2.2.1 液相条件 Waters Acquity BEH C_{18} 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm);柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;体积流量 0.4 mL/min;进样量 5.0 μL ;流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸(B);二元梯度洗脱:0~13 min, 2%~30% A;13~16 min, 30%~50% A;16~25 min, 50%~80% A;25~28 min, 80%~100% A;28~30 min, 100% A;30~32 min, 100%~2% A。

2.2.2 质谱条件 正离子模式;电喷雾离子源 V 模式;毛细管电压 3.0 kV;锥孔电压 30 V;离子源温

度 105 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度 300 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂氮气流量 650 L/h;锥孔气流量 50 L/h;检测器电压 1 900 V;采样频率 0.1 s,间隔 0.02 s;质量数检测范围 m/z 150~1 500;内参校准液(Lockmass)采用亮氨酸脑啡肽(LEA, $[\text{M}+\text{H}]^{+}=555.293\ 1$),LEA 质量浓度为 200 ng/mL,体积流量 0.2 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。数据采集工作站为 MassLynx 4.1。

2.3 药物成分的吸收及作用靶标与网络预测

根据 Lipinski 类药五原则,将鉴定出的化合物导入 Molinspiration 网站(<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>),依据预测其相对分子质量(M_w)、氢键供体数(HBA)、氢键受体数(HBD)、油水分配系数值($\log P$)以及拓扑极性表面积(TPSA)和可旋转键个数(NROTB)等性质预测药物分子的吸收情况。并选取可被吸收的化合物以 mol2 格式文件导入 PharmMapper (<http://59.78.96.61/pharmmapper>)数据库进行靶标预测。利用 KEGG (<http://bioinfo.capitalbio.com>)数据库进行通路注释,采用 string 9.1 (<http://www.string-db.org/>)网站来构建靶点间相互作用关系和预测主要作用节点蛋白,并通过 UniProt (<http://www.uniprot.org>)网站对关键靶点功能进行分析。

2.4 分子对接分析

从 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/pdb>)中选取上述网络药理学预测的关键靶点蛋白,MAPK1、MAPK8、MAPK14、MAPKAPK2、PIK3CG、PDPK1 蛋白晶体结构(ID:4QP1、3O2M、5LAR、3KA0、5LAR 和 2R7B)进行虚拟对接分析。采用 SYBYL 2.0 软件对上述蛋白结构进行处理,同时将解析得到的灯台叶生物碱的结构式存为 mol2 格式。采用 Autodock 4.0 以上述晶体结构中抑制剂配体所在的催化域或结合口袋,并以此位置设定晶格作为对接时的结合位点。将蛋白晶体结构与化合物加入电荷并存为 pdbqt 格式,通过遗传算法进行对接分析。

2.5 细胞培养与 Western blotting 分析

实验共分为 6 组,对照组、模型组、阳性药组(10 mol/L Dex),以及高、中、低剂量(100、10、1 mg/L)灯台叶片提取物组。将人支气管上皮样细胞 BEAS-2B 接种于 6 孔板中,用含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基培养,置于 5% CO_2 的 37 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱中培养,待细胞融合生长至约 60%后,分别加入上述样品 100 μL 预给药 8 h,再用 100 μL LPS

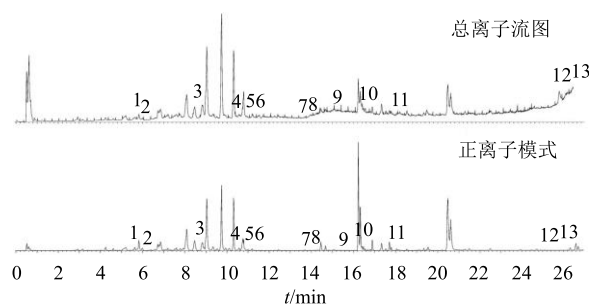
(10 $\mu\text{g/mL}$) 刺激 30 min。经 PBS 清洗后, 每孔加入 50 μL 细胞裂解液 (98% RIPA 裂解液+1% PMSF+1% 磷酸酶抑制剂) 裂解 30 min。收集上清液, 经 BCA 蛋白定量后, 采用 10% SDS-PAGE 凝胶对样品进行分离, 并转移至 PVDF 膜上。采用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 分别加入不同蛋白的一抗 (1:1 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 清洗后再加入二抗 (1:1 000) 室温继续孵育 3 h。经充分清洗后加入化学发光 HRP 底物曝光液, 使用化学发光成像仪 (Tanon-5200) 进行成像分析。

3 结果

3.1 灯台叶片的化学成分鉴定及吸收预测

采用 UPLC/Q-TOF 液质联用技术对灯台叶片中的化学成分进行定性分析, 通过一级和二级质谱信息分析并结合文献报道^[4-5], 共鉴定出 13 种吲哚类生物碱 (图 1)。其具体解析信息见表 1, 结构式

见图 2。利用 Molinspiration 网站对所鉴定的化合物进一步进行生物利用度预测 (表 1), 结果发现上述 13 种成分均可能被吸收。



总离子流色谱图和正离子模式色谱图的峰号与表 1、2 及图 2 一致
The peak numbers in TIC chromatograms and positive ESI mode are consistent with those reported in table 1, 2, and fig. 2

图 1 灯台叶片的 UPLC/Q-TOF-MS 谱图

Fig. 1 UPLC/Q-TOF-MS analysis of Dengtaiye Tablets

表 1 灯台叶片中可吸收成分的正离子模式分析质谱数据及鉴定结果

Table 1 MS/MS data in positive ESI modes and identification results for absorbable constituents in Dengtaiye Tablets

编号	鉴定成分	t_R/min	分子式	m/z	MS/MS	HBA	HBD	$\log P$	NROTB	TPSA/(0.01 nm^2)
1	灯台叶次碱 (scholaricine)	5.71	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$	357.185 0	357 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 325 $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$, 279 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{OCH}_3-\text{CO}]^+$	6	3	2.42	3	82.03
2	19E-灯台叶次碱 (19E-scholaricine)	5.82	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$	357.185 0	357 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 325 $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$, 279 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{OCH}_3-\text{CO}]^+$	6	3	2.42	3	82.03
3	12-OH-鸡骨常山碱 Nb-氧化物 (12-hydroxy-echitamidine Nb-oxide)	8.92	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$	373.189 6	373 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 355 $[\text{M}-\text{OH}]^+$, 341 $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$	7	3	2.38	3	95.86
4	阿枯米定碱 (akuammidine)	10.57	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$	353.224 4	353 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 323 $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$, 293 $[\text{M}-\text{COOCH}_3]^+$	5	2	2.84	3	65.56
5	19Z-瓦来萨明碱 (19Z-vallesamine)	11.21	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$	341.244 6	341 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 309 $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$, 282 $[\text{M}-\text{COOCH}_3]^+$	5	2	2.60	3	65.56
6	leuconoxine	11.27	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$	311.179 7	311 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 282 $[\text{M}-\text{CO}]^+$, 222 $[\text{M}-2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{H}_3]^+$	4	0	1.76	1	40.62
7	strictamine	14.18	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$	323.219 4	323 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 291 $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$, 263 $[\text{M}-\text{OCH}_3-\text{CO}]^+$	4	0	3.38	2	41.91
8	19E-瓦来萨明碱 (19E-vallesamine)	14.90	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$	341.184 1	341 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 309 $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$, 282 $[\text{M}-\text{COOCH}_3]^+$	5	2	2.60	3	65.56
9	鸭脚树叶碱 (picrinine)	15.34	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$	339.170 8	339 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 307 $[\text{M}-\text{OCH}_3]$, 279 $[\text{M}-\text{OCH}_3-\text{CO}]$	5	1	3.06	2	50.80
10	鸭脚树叶醛碱 (picralinal)	16.47	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$	367.332 0	367 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 335 $[\text{M}-\text{OCH}_3]$, 307 $[\text{M}-\text{CO}-\text{OCH}_3]$	6	1	2.61	3	67.88
11	糖胶树碱 (nareline)	18.20	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$	353.148 1	353 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 321 $[\text{N}-\text{OCH}_3]^+$, 293 $[\text{M}-\text{COOCH}_3]^+$	6	1	2.63	2	71.37
12	Z-alstoschdarine	26.32	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$	361.327 0	361 $[\text{M}+\text{H}]^+$	5	1	3.32	3	64.10
13	E-alstoscholarine	26.45	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$	361.218 2	361 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 301 $[\text{M}-\text{COOCH}_3]^+$	5	1	3.32	3	64.10

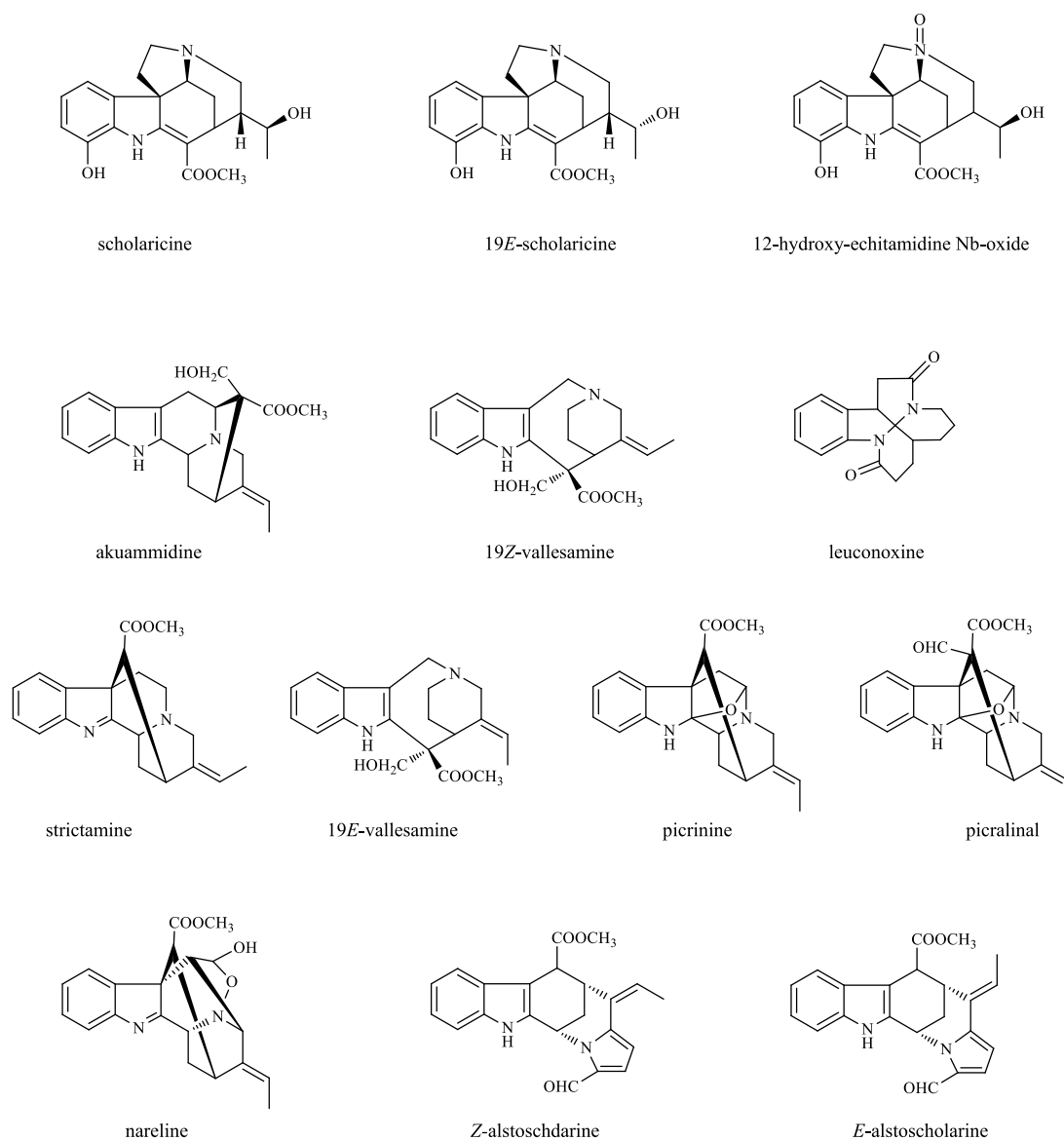


图 2 灯台叶片中所含生物碱成分的化学结构

Fig. 2 Structures of ingredients involved in alkaloids for Dengtaiye Tablets

3.2 整合网络药理学的靶点与通路预测分析

将上述所鉴定的 13 种灯台叶片生物碱以 sdf 格式文件导入 PharmMapper 数据库进行靶标预测,并根据 Norm Fit 值进行排名,挑选每个化合物前 20 名的靶点共计 47 个,运用 String 9.1 构建靶点之间的联系并绘制网络药理图(图 3)。通过 KEGG 进行信号通路注释,发现其中有 12 个灯台叶片生物碱可通过作用于 9 个主要炎症靶点,调控了 8 条与炎症相关的信号通路,分别为 Toll 样受体、Fc RI、T 细胞受体、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、血管内皮生长因子

(vascular endothelial growth factor, VEGF)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、炎症介质对 TRP 通道调节,以及肿瘤坏死因子(TNF)信号通路。在预测的 9 个靶点中有 MAPK1、MAPK8、MAPK10、MAPK14、MAPKAPK2、PIK3CG、PDPK1 等 7 个靶点同时与多条炎症通路相关。通过 UniProt 数据库进一步分析这些靶点的功能与组织分布发现,其中 MAPK10 仅存在于海马、小脑、脑干和脊髓中,与灯台叶片的功效主治不符。

将相关性较强的 6 个靶点与上述 12 个化合物

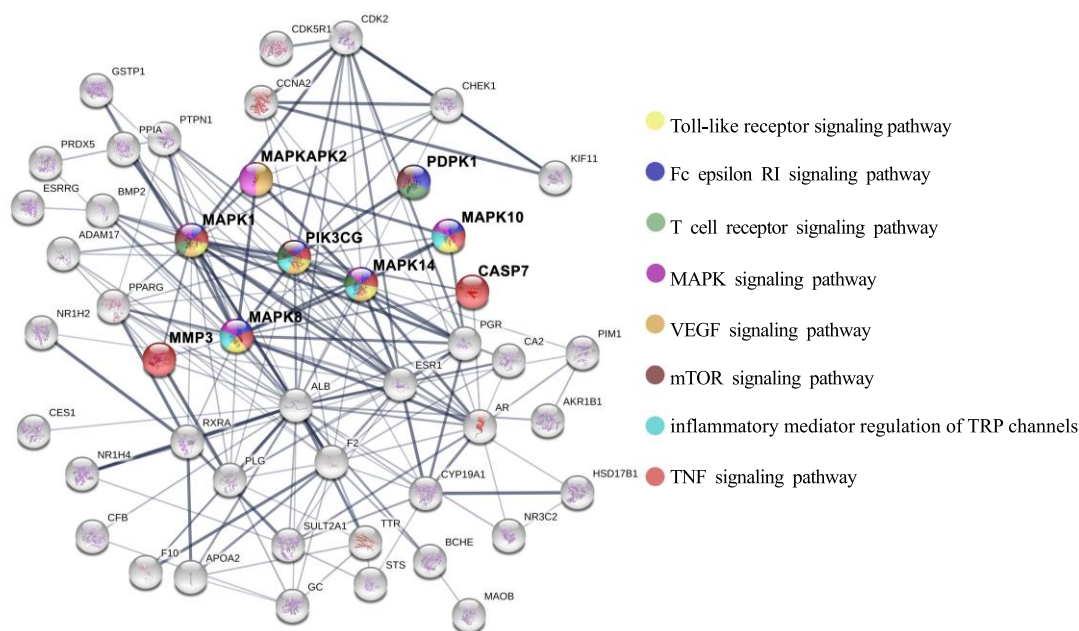


图 3 灯台叶片生物碱抗炎相关靶点的网络互作分析

Fig. 3 String interaction assay of inflammatory targets for Dengtaiye Tablets alkaloids

使用 Autodock 4.0 软件再次进行分子对接分析 (表 2), 其对接得分为小分子与蛋白结合时的自由结合能, 代表了两者之间的结合强度, 结果发现灯台叶生物碱主要作用于 PI3K/AKT/NF- κ B、MAPK 信号通路。其中 PIK3CG (PI3K) 和 PDPK1 (PDK1) 可以激活 AKT1, 是 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的重要组成部分, 并可以进一步调控 NF- κ B 的活性; 而 MAPK1 (ERK2)、MAPK8 (JNK1) 和 MAPK14 (p38A) 是 MAPK 信号通路中的关键节点,

MAPKAPK2 (MK2) 可以直接被 p38 MAP kinases 活化。因此提示灯台叶生物碱可能通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 发挥了抗炎作用。

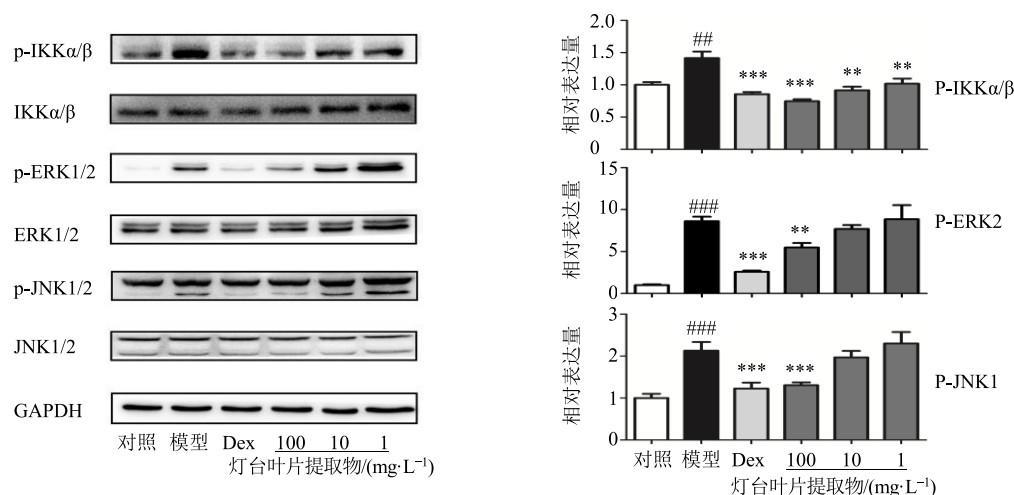
3.3 炎症通路的确证分析

为了验证上述网络药理学的整合分析结果, 进一步采用 Western blotting 对 LPS 诱导的 BEAS-2B 细胞炎症模型中 MAPK 与 NF- κ B 通路的主要节点蛋白 ERK1/2、JNK1/2 和 IKK 的磷酸化水平分别进行了考察。结果如图 4 所示, 灯台叶片生物碱可以

表 2 灯台叶片生物碱与抗炎相关靶点的虚拟对接分析

Table 2 Virtual docking of alkaloids from Dengtaiye Tablets for inflammatory targets

编号	成分	自由结合能/(kcal·mol ⁻¹)					
		PDPK1 (PDK1)	PIK3CG (PI3K)	MAPK1 (ERK2)	MAPK8 (JNK1)	MAPK14 (p38 α)	MAPKAPK2 (MK2)
1	灯台叶次碱	—	—	—	-6.90	—	—
2	19E-灯台叶次碱	—	—	—	-6.94	—	—
4	阿枯米定碱	—	—	-8.26	-6.99	—	—
5	19Z-瓦来萨明碱	—	—	—	-6.44	-7.88	—
6	leuconoxine	-7.43	—	-7.59	-7.25	—	-7.04
7	strictamine	—	-7.48	-7.33	-7.21	—	-7.23
8	19E-瓦来萨明碱	-6.49	—	—	-6.52	—	—
9	鸭脚树叶碱	-7.21	—	—	-7.34	—	—
10	鸭脚树叶醛碱	-6.59	—	—	-6.91	—	—
11	糖胶树碱	-6.63	—	—	-7.49	—	—
12	Z-alstoschdarine	-6.42	—	—	-6.29	—	—
13	E-alstoscholarine	-7.51	—	—	-6.05	—	—



与对照组比较: $##P < 0.01$ $###P < 0.001$; 与模型组比较: $**P < 0.01$ $***P < 0.001$
 $##P < 0.01$ $###P < 0.001$ vs control group; $**P < 0.01$ $***P < 0.001$ vs model group

图 4 灯台叶片提取物对 LPS 诱导的 BEAS-2B 细胞的炎症反应的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Inhibition of Dengtaiye Tablets extract on LPS induced BEAS-2B cells inflammatory reaction ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

有效抑制 IKK、ERK2 和 JNK1 的磷酸化。表明灯台叶片生物碱可能主要通过 PI3K/Akt/NF-κB 和 MAPK 通路抑制了 LPS 诱导的炎症反应。

4 讨论

灯台叶作为传统傣族的民间草药治疗呼吸系统疾病已经有悠久的历史。杨泳等^[1]研究发现灯台叶生物碱具有较强的镇咳作用,而黄酮具有平喘和抗炎作用。杨坤芬等^[2]发现灯台叶碱具有明显的抗炎、镇痛作用,并考察了灯台叶碱抑制枸橼酸诱导的豚鼠咳嗽以及磷酸组胺和氯化乙酰胆碱诱导的哮喘的效果^[3]。Shang 等^[7-8]也对其治咳平喘以及抗炎镇痛效果进行了确证。此外,有报道显示灯台叶具有抗肿瘤^[9-10]、抗菌^[11]、抗氧化^[12]等活性。

谭金桃等^[13]曾经利用 UPLC-ESI/TOF-MS 对灯台叶颗粒的主要活性成分进行了分析,共鉴定出黄酮、生物碱、萜类等 27 种化学成分。Zhao 等^[14]的研究认为总生物碱起到了关键作用。本课题组前期研究结果发现灯台叶的吲哚类生物碱同时具有 β2 受体激动作用和 NF-κB 抑制活性,是抗炎平喘的主要活性物质^[4-5]。但目前为止其分子机制以及作用靶点尚不清楚。本研究首先对灯台叶片中含有的吲哚类生物碱进行了解析,并在此基础上通过反向对接、网络药理学分析以及通路验证等实验对其分子机制进行了研究。初步发现灯台叶片中的吲哚类生物碱主要通过作用在 PDK1 (PDK1) 催化域,以及 MAPK1 (ERK2) 和 MAPK8 (JNK1) 的 ATP

结合域,影响了下游靶点的磷酸化从而干预了 PI3K/AKT/NF-κB 以及 MAPK 通路,降低了 LPS 诱导的炎症反应水平。

中药质量标志物 (Q-marker) 是存在于中药材、饮片、提取物以及中药制剂中的与功效密切有关的成分,是可以溯源、定性和定量的关键药效物质^[15-17]。以功能主治为核心,通过整合化学物质组学和网络药理学等手段,可以为 Q-marker 的发现提供更有效便捷的研究方法和路径^[18-19]。长期以来灯台叶片相关的药效物质一直没有得到系统的研究,本研究通过虚实结合的组学数据分析以及关键节点的验证实验,为阐明灯台叶片治疗慢性支气管炎的分子机制,鉴定其 Q-marker 奠定了基础。

参考文献

- [1] 杨泳,周玲,李颖,等. 灯台叶止咳平喘的药效学研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2007, 28(1): 38-39.
- [2] 杨坤芬,赵云丽,尚建华. 灯台叶碱抗炎镇痛作用研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2012, 33(4): 61-62.
- [3] 杨坤芬,赵云丽. 灯台叶碱对豚鼠镇咳平喘最低有效剂量探究 [J]. 云南中医中药杂志, 2013, 34(10): 58-59.
- [4] Hou Y Y, Cao X L, Wang L Q, et al. Microfractionation bioactivity-based ultra performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry for the identification of nuclear factor-κB inhibitors and β2 adrenergic receptor agonists in an alkaloidal extract of the folk herb *Alstonia scholaris* [J]. *J Chromatogr B*, 2012, 908(22): 98-104.

- [5] Hou Y Y, Cao X L, Dong L Y, *et al.* Bioactivity based liquid chromatography coupled electrospray ionization tandem ion trap/time of flight mass spectrometry for β 2AR agonist identification in alkaloidal extract of *Alstonia scholaris* [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1227(5): 203-209.
- [6] 高洁群. 用灯台叶颗粒辅助治疗儿童喘息性咳嗽和慢性咳嗽的疗效观察 [J]. 当代医药论丛, 2013(5): 125-126.
- [7] Shang J H, Cai X H, Zhao Y L, *et al.* Pharmacological evaluation of *Alstonia scholaris*: Anti-tussive, anti-asthmatic and expectorant activities [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(3): 293-298.
- [8] Shang J H, Cai X H, Feng T, *et al.* Pharmacological evaluation of *Alstonia scholaris*: Anti-inflammatory and analgesic effects [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(2): 174-181.
- [9] 韩芳. 灯台叶醇提物体外抗肿瘤作用研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2013, 2013(2): 28-30.
- [10] Baliga M S. *Alstonia scholaris* Linn R Br in the treatment and prevention of cancer: Past, present, and future [J]. *Integr Cancer Ther*, 2010, 9(3): 261-269.
- [11] Khan M R, Omoloso A D, Kihara M. Antibacterial activity of *Alstonia scholaris* and *Leea tetramera* [J]. *Fitoterapia*, 2003, 74(7/8): 736-740.
- [12] 戴云, 杨新星, 程春梅, 等. 傣药灯台叶醇提取物体外抗氧化活性 [J]. 中药材, 2009, 32(12): 1883-1885.
- [13] 谭金桃, 马丹凤, 方艳, 等. 基于 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 法分析灯台叶颗粒的主要活性成分 [J]. 中南药学, 2017, 15(8): 1111-1114.
- [14] Zhao Y L, Shang J H, Pu S B, *et al.* Effect of total alkaloids from *Alstonia scholaris* on airway inflammation in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 178(3): 258-265.
- [15] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [16] 张铁军, 许浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物 (Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.
- [17] 张铁军, 白钢, 陈常青, 等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物 (Q-marker) 研究路径 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 1-13.
- [18] Bai G, Hou Y Y, Jiang M, *et al.* Integrated systems biology and chemical biology approach to exploring mechanisms of traditional Chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 99-106.
- [19] Hou Y Y, Nie Y, Cheng B F, *et al.* Qingfei Xiaoyan Wan, a traditional Chinese medicine formula, ameliorates *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung inflammation by regulation of PI3K/AKT and Ras/MAPK pathways [J]. *Acta Pharmacol Sin B*, 2016, 6(3): 212-221.