

基于网络药理学吴茱萸致肝毒性机制研究

郑罗棋, 惠 慧, 田 港, 徐晓芬, 秦路平*, 单琪媛*

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311402

摘要:目的 筛选吴茱萸主要肝毒性成分, 预测毒性成分作用靶点, 探讨其多成分-多靶点-多通路的肝毒性作用机制。方法 依据 TCMSP 数据库、PubChem 数据库 Pharmmapper 服务器、Uniprot KB 数据库筛选吴茱萸的活性成分, 并预测肝毒性作用靶点。借助 Cytoscape 软件构建吴茱萸毒性成分-作用靶点网络, 通过 KOBAS 3.0 数据库对靶点基因功能及代谢通路进行分析。结果 网络分析结果表明吴茱萸中筛选得到 14-甲酰基二氢吴茱萸次碱、芳樟醇、1-甲基-2-戊烷基-4(1H)喹诺酮、辛弗林、柠檬烯等 147 个潜在毒性成分, 涉及靶点 F2、PIM1、MMP13、MAOB 等 49 个, 经建立网络连接, 细胞代谢、催化活性、刺激反应等通路可能与肝毒性作用相关。结论 应用网络药理学的方法, 发现吴茱萸中的多种潜在毒性成分可能通过多个靶点与细胞代谢、催化活性等通路相互作用, 从而可能产生肝毒性, 为后续进一步深入验证吴茱萸肝毒性作用机制研究提供新线索。

关键词: 吴茱萸; 肝毒性; 网络药理学; 毒性机制预测; 细胞代谢

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)02-0419-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.02.019

Study on hepatotoxicity mechanism of *Euodiae Fructus* based on network pharmacology

ZHENG Luo-qi, HUI Hui, TIAN Gang, XU Xiao-fen, QIN Lu-ping, SHAN Qi-yuan

School of Pharmaceutical Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China

Abstract: Objective To screen the main hepatotoxic components, predict the target of active components, and explore the mechanism of liver toxicity of *Euodiae Fructus* (EF). **Methods** According to TCMSP database, PubChem database Pharmmapper server and Uniprot KB database information, active constituents of EF were screened, and targets of hepatotoxicity were predicted. The active component-acting target network of EF was constructed by Cytoscape software, while the function and metabolic pathways of target genes were analyzed by KOBAS 3.0 database. **Results** Network analysis results demonstrated that 147 potential hepatotoxic components from EF, accompanied with 49 targets like F2, PIM1, MMP13 and MAOB, connecting with cell metabolism, catalytic activity, stimulate the reaction pathways may be associated with EF's liver toxic effects. **Conclusion** Based on network pharmacology methodology, this paper disclosed that many potential toxic components in EF may interact with cell metabolism, catalytic activity and other pathways through multiple targets, leading to produce hepatotoxicity *in vivo* as a result, which can provide new clues for further researches of the hepatotoxicity mechanism study of EF.

Key words: *Euodiae Fructus*; hepatotoxicity; network pharmacology; prediction of toxic mechanism; cell metabolism

传统观点认为, 中药取材于天然的动植物、矿物, 是“安全无毒”的, 不良反应小, 而化学药是“有毒”的。然而, 伴随科技发展和中药研究的深入, 发现这是一个认识上的严重误区。随着中药在世界各国的广泛应用, 关于中药引发药源性肝损伤

(DILI) 的报道也逐渐增多^[1-3]。药源性肝损伤, 亦称药物性肝损伤, 是指由药物本身及/或其代谢产物等所导致的肝脏损伤, 为临床常见的药物不良反应之一, 严重者可致急性肝衰竭甚至死亡。文献报道显示, 中草药是在韩国和新加坡引起肝

收稿日期: 2019-06-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81703707); 浙江省中医药科技计划项目(2019ZA038); 国家留学基金项目(CSC No. 201908330362)

作者简介: 郑罗棋, 男, 在读本科生, 研究方向为中药学。E-mail: 2954034105@qq.com

*通信作者 单琪媛, 女, 实验师, 研究方向为中药学。E-mail: shanqiyan@163.com

秦路平, 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药品质评价和资源开发利用。E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

损伤最常见的药物^[4]。近年来,我国报道的包括中草药在内的天然药物引起肝损伤的发生率也在不断增加,已引起临床高度重视,痔血胶囊就是一个典型的例子^[5]。

吴茱萸是芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.、石虎 *E. rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *E. rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实,性味辛、苦、热;有小毒;归肝、脾、胃、肾经;有散寒止痛、降逆止呕、助阳止泻的功效^[6]。吴茱萸始载于《神农本草经》,列为中品,是传统的温中止痛药。《本草纲目》中有关吴茱萸的记载:“辛热,走气动火,昏目发疮”“有小毒,动脾火,病目者忌之”等^[7]。研究发现,吴茱萸水提、醇提、挥发油组分均伴随着对肝脏的毒副作用,并呈现一定的“量-时-毒”关系^[8-10]。随着中外学者对吴茱萸化学成分及药理性质的深入研究,已为揭示吴茱萸药效物质基础奠定了一定基础^[11-12]。近年来随着吴茱萸在临床上应用日益广泛,因服用吴茱萸不当产生的毒性报道时有发生^[13],但是由于吴茱萸中化学成分多样,通过实验进行研究存在一定的困难。虽然有实验研究表明,吴茱萸中化学成分会引起肝脏的毒副作用^[14],但是其引起肝毒性的主要毒性成分和分子机制尚未完全阐明。因此,本研究运用网络药理学的思路和方法筛选吴茱萸主要毒性成分,挖掘其肝毒性作用靶点,意图从计算生物信息学角度阐明吴茱萸肝毒性的物质基础,以期为机制探究、临床使用提供科学依据和安全保障。

1 方法

1.1 吴茱萸成分数据库的建立

收集 TCMSP 数据库中吴茱萸化学成分,另结合已报道的吴茱萸化学成分相关文献,得到吴茱萸中的化学成分列表,通过文献挖掘并利用 PubChem 等平台对其分子结构进行确证,最后将化合物统一保存为 mol2 格式文件,构建小分子数据库。

1.2 化合物类药性筛选

为了使化合物有更好的药动学性质,在生物体内代谢过程中会有更高的生物利用度,使用类药性 5 原则方法进行化合物类药性筛选。

1.3 化合物靶点预测

将通过筛选的小分子,以 mol2 的格式上传到 Phrammapper 在线分析平台,其中 Select Targets Set 选择 Human Protein Targets Only (v2010, 2241), Number of Reserved Matched Targets (Max 1 000)

输入 50,其余参数均为默认设置。本研究将上述预测到的靶点信息与已收集到的肝毒性靶点进行验证,取 Z 值 ≥ 0.5 筛选出有明确肝毒性的靶点。

1.4 靶点的通路 (KEGG) 和功能 (GO) 分析

通过 KOBAS 网站,将筛选的靶点进一步映射到 KOBAS 数据库中,并将对应的通路和功能进行整理与分析,筛选条件 KEGG 取 $P < 0.01$, GO 取前 20 个靶点。

1.5 构建化合物-靶点-通路网络

根据上述吴茱萸化学成分-潜在靶点预测结果,应用 Cytoscape 软件分别构建靶点-化学成分、靶点-通路、靶点-吴茱萸网络模型,并运用软件中 Merge 功能,将 3 个网络模型合并成化学成分-靶点-吴茱萸-通路网络模型。运用软件中 network analyzer 功能,进一步对网络模型中的相互关系进行分析。

2 结果

2.1 吴茱萸中候选活性成分的筛选

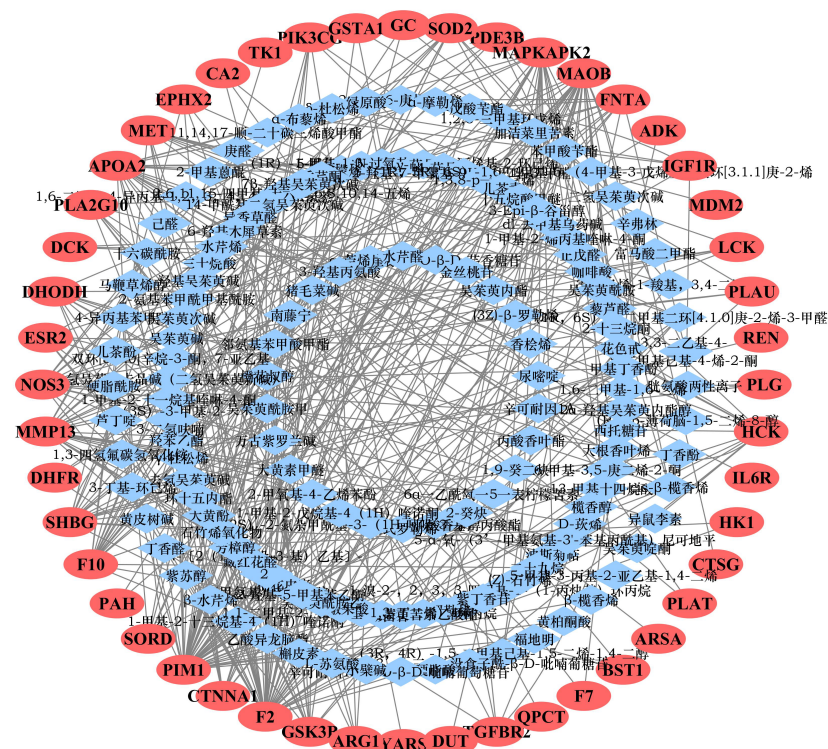
通过 TCMSP 数据库以及文献挖掘,根据类药 5 原则在吴茱萸中收集到 204 个主要化学成分,并进行了初步筛选,最后得到入选化合物 154 个。

2.2 潜在作用靶点预测

将 154 个成分导入 Phrammapper 数据库进行潜在靶点的预测分析。在检索过程中得到的潜在靶点有命名不规范或错误等问题。因此,需采用 Uniprot KB 搜索功能得到其正确名称。经上述数据库检索和转化操作,取 Z 值 ≥ 0.5 ,获得与成分相关的基因信息。将这些基因信息与已得到的肝毒性靶点匹配,最后得到与肝毒性有关的化合物 147 个,靶点 49 个。

2.3 潜在毒性成分-作用靶点网络的构建及分析

将 147 个化合物及 49 个靶点导入 Cytoscape 软件,构建吴茱萸化学成分-靶点网络模型如图 1 所示。图中共产生了 195 个节点,435 条边,其中菱形代表吴茱萸对应化合物,椭圆形代表吴茱萸化合物对应靶点,每条边则表示化合物分子与靶点之间的相互作用关系。在网络中,一个节点的度值表示网络中和节点相连的路线的条数。根据网络的拓扑学性质筛选度值较大的节点进行分析,这些连接化合物或靶点较多的节点在整个网络中起到枢纽的作用,可能是关键的化合物或者靶点。该网络中,每个化合物平均与 2.93 个靶点相互作用,每个靶点平均与 12.39 个化合物相互作用。因此吴茱萸中可能存在 1 个化合物与多个靶点之间的相互作用,同时



菱形代表吴茱萸对应化合物，椭圆形代表吴茱萸化合物对应靶点

Diamond represents corresponding compounds of *Euodiae Fructus*, ellipse represents corresponding targets of *Euodiae Fructus*

图 1 吴茱萸潜在毒性成分-靶点作用网络

Fig. 1 Potential toxic component-target diagram of *Euodiae Fructus*

也可能存在不同化合物共同作用于同 1 个靶点的现象，这体现了中药多成分与多靶点之间共同作用的机制。从化合物的角度，有 54.4% 化合物的作用靶点 ≥ 3 个，其中靶点数目 ≥ 5 个的挥发性化合物有 6 个，分别为罗勒烯、芳樟醇、榄香烯、石竹烯及其氧化物、 δ -杜松烯、柠檬烯，分别可以与 9、7、7、7、7、5 个靶点发生相互作用；其中靶点数目 ≥ 4 个的非挥发性化合物有 8 个，分别为 4-异丙基苯甲醇、邻氨基苯甲酸甲酯、14-甲酰基二氢吴茱萸次碱、辛弗林、5-甲氧基-*N,N*-二甲基色胺、1-甲基-2-戊烷基-4(1*H*)喹诺酮、吴茱萸酰胺甲和羟基吴茱萸碱，分别可以与 9、8、7、7、6、5、5、4 个靶点发生相互作用。从靶点的角度，度值排名前 10 位的为 F2、PIM1、MMP13、MAOB、NOS3、APOA2、F10、PIK3CG、MAPKAPK2 和 SHBG，分别能与 68、52、28、26、26、25、25、23、20、19 个化合物发生相互作用。

2.4 靶点生物功能分析

图 2 为吴茱萸潜在毒性成分产生肝毒性靶点的 GO 生物学过程富集分析。分析结果显示，预测靶

点在生物过程中可能涉及的 20 个生物过程，其中排列靠前的有细胞代谢过程（43 个靶点/87.8%）、催化活性（42 个靶点/85.7%）、刺激反应（40 个靶点/81.6%）、单体代谢过程（33 个靶点/67.3%）等。反映了吴茱萸肝毒性的产生涉及体内多个生物过程的异常，同时表明通过改善这些生物过程或许可以降低肝毒性发生的概率。

2.5 靶点生物通路分析

图 3 为吴茱萸产生肝毒性预测靶点的 KEGG 代谢通路富集分析。预测靶点涉及参与的通路共有 51 条，其中 15 个靶点参与的通路富集有代谢途径（30.6%），7 个靶点参与的通路富集有 PI3K-Akt 信号通路和癌症的途径（14.2%），6 个靶点参与的通路富集有补体和凝血级联反应和癌症的转录失调（12.2%），5 个靶点参与的通路富集有表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂抗性、HIF-1 信号通路、FOXO 信号转导通路和癌症中的蛋白聚糖（10.2%）。吴茱萸主要毒性成分的作用靶点分布于不同的代谢通路，相互协调、共同调节是其产生肝毒性的可能作用机制。

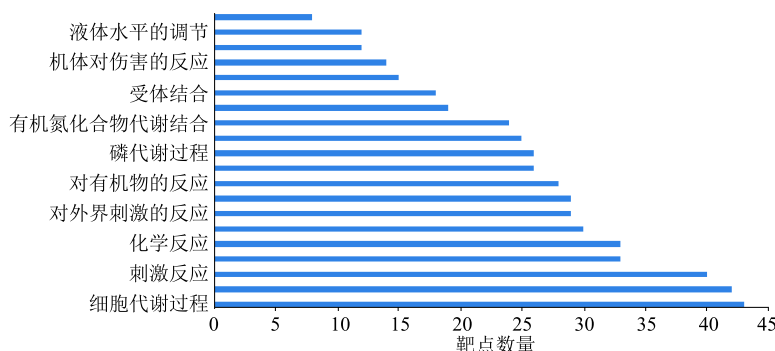
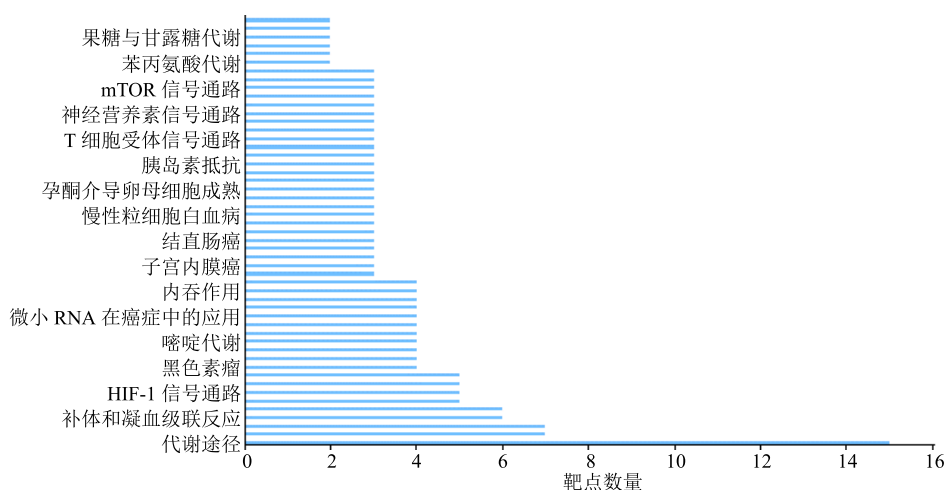


图 2 吴茱萸潜在毒性成分产生肝毒性靶点的 GO 生物学过程富集分析

Fig. 2 Enrichment and analysis of GO biological processes in production of hepatotoxic targets by active components of *Euodiae Fructus*图 3 吴茱萸成分潜在致肝毒性靶点的 KEGG 代谢通路富集分析 ($P \leq 0.01$)Fig. 3 Enrichment analysis of KEGG metabolic pathway in potential hepatotoxic targets of *Euodiae Fructus* ($P \leq 0.01$)

2.6 关键靶点及关键化合物的分析

将与肝毒性相关的靶点上传至 String 数据库, 在 Search 功能中选择 Multiple proteins, Organism 中选择 Homo sapiens, 得到 TSV 文件。在 Cytoscape 软件中打开文件, 与靶点-化学成分网络图合并。通过 Cytoscape 软件中的 Network analyzer 功能中的 CentiScaPe 功能进行分析, 根据紧密中心度 (closeness)、间距中心度 (betweenness) 和度 (degree) 平均值进行筛选, 得到关键靶点见表 1, 取前 13 个化合物作为主要关键化合物, 见表 2。构建关键化合物-关键靶点网络图, 如图 4 所示。图中共出现了 33 个节点, 61 条边。

3 讨论

吴茱萸中主要含有生物碱、苦味素、挥发油等成分, 吴茱萸水提物、醇提物、挥发油等都会产生

一定程度的肝损伤毒性。本研究通过 TCMSP 数据库、PharmMapper 服务器、Uniprot KB 数据库等筛选吴茱萸的活性成分, 并预测肝毒性作用靶点, 构建活性成分-作用靶点网络图, 其中柠檬烯、榄香烯、芳樟醇、石竹烯及其氧化物和罗勒烯为吴茱萸挥发油中主要成分^[11], 辛弗林、1-甲基-2-戊烷基-4(1H) 喹诺酮、吴茱萸酰胺甲、羟基吴茱萸碱和 14-甲酰基二氢吴茱萸次碱, 分别为吴茱萸生物碱类体内或体外主要成分^[14-16]。本研究结合课题组前期动物毒性实验结果发现, 吴茱萸的毒性没有确切毒性部位, 只有相对整体的毒性大小区别, 与文献报道毒性部位不唯一相印证^[8-10]; 因毒性部位较为分散, 推测潜在毒性成分可能不唯一, 有可能是具有某类结构特征的一类或几类化合物, 经由原型或体内代谢后类似成分含量叠加, 共同作用于相关靶点产生毒性,

表 1 吴茱萸致肝毒性主要关键靶点

Table 1 Key targets of liver toxicity induced by *Euodiae Fructus*

靶点	紧密中心度	间距中心度	度
F2	0.002 724 8	13 859.400 0	68
PIM1	0.002 212 4	7 045.470 1	52
MMP13	0.002 066 1	3 326.716 1	28
MAOB	0.001 858 7	2 645.430 0	26
NOS3	0.002 262 4	2 074.455 5	26
APOA2	0.002 118 6	4 158.463 8	25
F10	0.002 127 7	3 066.342 9	25
PIK3CG	0.002 398 1	3 292.146 6	23
MAPKAPK2	0.001 811 6	1 983.925 8	20
SHBG	0.002 118 6	1 423.865 3	19
MET	0.001 915 7	1 798.692 0	17
GSK3B	0.001 883 2	1 086.778 2	17
HCK	0.002 083 3	2 144.335 5	15
SOD2	0.001 919 4	796.981 7	15
IGF1R	0.002 159 8	938.230 3	14
CTNNA1	0.001 858 7	1 098.995 4	13
PLG	0.002 155 2	972.908 9	13
ESR2	0.002 096 4	586.288 4	13
DHODH	0.001 788 9	537.276 5	12
PLAU	0.002 155 2	717.423 0	10
MDM2	0.002 040 8	988.085 7	8
DCK	0.001 788 9	710.016 0	8
DHFR	0.001 733 1	647.009 2	8
PDE3B	0.001 769 9	539.167 6	8

该推断与文献中结合生化病理指标的毒性成分解析结果相符合^[17-18]。潜在肝毒性靶点 F2、PIM1、MMP13、MAOB、NOS3、APOA2、F10、PIK3CG、MAPK、APK2 的度值较高,吴茱萸生物碱类成分的靶点多集中在 F2、PIMI、MAOB 上,挥发油类成分靶点集中在 PIMI、APOA2、F2、IGF1R、MMP13 上,不同组分间集中作用靶点有共有和特有靶点,这些得到的主要关键化合物和主要关键靶点后续可以进行分子对接实验,以进一步深入研究吴茱萸致肝毒性作用物质基础。

GO 生物学过程富集分析结果可知,靶基因涉及细胞代谢、催化活性、刺激反应、单体代谢过程、化学反应、应激反应等生物过程。这些生物过程都与肝脏系统的发育功能密切相关,也可能参与肝毒性的病理和生理过程,这与文献报道的肝毒性发病机制复杂、涉及多个方面的生物过程相吻合^[19-21]。

KEGG 代谢通路富集分析结果可知吴茱萸潜在毒性成分相关靶点涉及参与代谢途径,PI3K-Akt 信号通路、癌症的途径、补体和凝血级联反应、癌症的转录失调、表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂抗性、HIF-1 信号通路、FOXO 信号转导通路、癌症中的蛋白聚糖等多条信号通路。以上通路均与细胞转录、细胞凋亡、介导细胞炎症有关。本研究中发现,15 个靶点参与代谢途径信号通路(30.61%)、7 个靶点参与 PI3K-Akt 信号通路(14.29%)、7 个

表 2 吴茱萸致肝毒性主要关键化合物

Table 2 Key compounds of *Euodia Fructus* in hepatotoxicity

化合物	紧密中心度	间距中心度	度
4-异丙基苯甲醇(4-isopropylbenzyl alcohol)	0.002 092 1	504.868 78	9
邻氨基苯甲酸甲酯(dimethyl anthranilate)	0.001 988 1	679.763 20	8
辛弗林[oxedrine, (+)-synephrine]	0.001 972 4	741.409 40	7
14-甲酰基二氢吴茱萸次碱(14-formyldihydrorutaecarpine)	0.002 110 0	356.221 87	7
芳樟醇(linalool)	0.002 270 0	767.682 11	6
δ-杜松烯(δ-cadinene)	0.002 010 0	358.075 55	6
5-甲氧基-N,N-二甲基色胺(5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine)	0.001 950 0	259.012 31	6
1-甲基-2-戊烷基-4(1H)喹诺酮[1-methyl-2-pentyl-4-(1H)-quinolone]	0.002 110 0	368.659 40	5
大黄素甲醚(physcione)	0.001 970 0	368.004 67	5
石竹烯氧化物(caryophyllene oxide)	0.001 920 0	323.814 75	5
cis-β-榄香烯(cis-β-elemene)	0.001 910 0	323.078 82	5
(1R,6S)-7-二甲基二环[4.1.0]庚-2-烯-3-甲醛[(1R,6S)-7,7-dimethylbicyclo[4.1.0]hepta-2-ene-3-carbaldehyde]	0.002 070 0	316.080 52	5
柠檬烯(limonene)	0.002 120 0	295.489 30	5

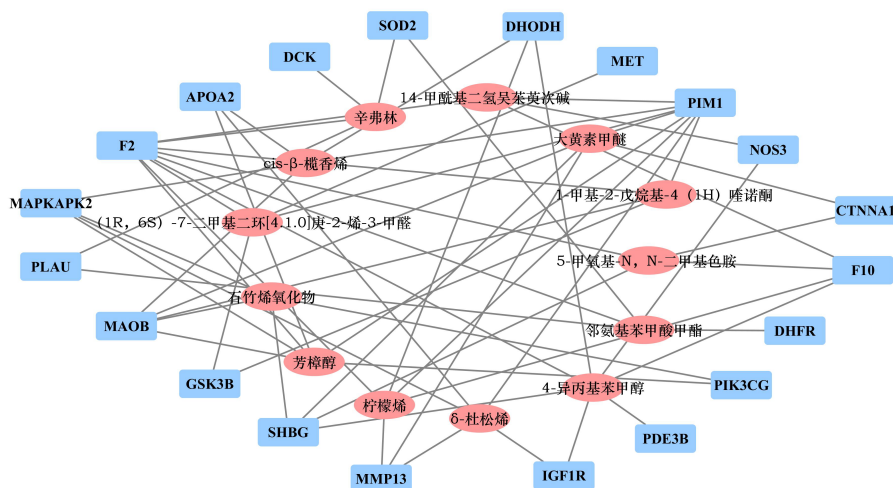


图 4 主要关键化合物-主要关键靶点网络图

Fig. 4 Key compounds-key target network diagram

靶点涉及癌症的途径信号通路(14.29%), 6个靶点涉及补体的凝血级联反应(12.24%), 5个靶点涉及表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂抗性信号通路, 表明吴茱萸中的活性成分可能通过代谢途径, 参与PI3K-Akt信号通路, 癌症的途径等信号通路, 介导细胞一系列的应答, 通过对这几条信号通路的影响, 介导细胞炎症和细胞凋亡关联的转录调节因子。

研究发现肝毒性的机制可能与氧化应激、炎症反应细胞凋亡、脂质代谢、线粒体功能障碍和促纤维因子释放有关。本实验中的主要关键靶点均与细胞凋亡、细胞转录等细胞生命活动相关。其中IGF1R和MET参与的表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂抗性通路与SATA、Src蛋白的合成有关, Stat3是JAK2/IL-6/Stat3信号通路的关键调控基因, 参与众多基因转录调节, 并能影响细胞增殖、侵袭活性。此外, 有文献报道Stat3参与抗炎反应, 通过活化JAK1来启动特异的DNA转录, 发挥抗炎作用^[22]。而Src蛋白是一个普遍存在于细胞中的癌基因蛋白。它在细胞生长、凋亡及其他活动中也具有很重要的调节作用。由此推断可能是毒性剂量下吴茱萸抑制了Stat3和Src的活性, 从而抑制了细胞的抗炎因子的分泌, 保护作用的削弱进一步促使细胞凋亡的发生。另外研究人员发现在肝毒性发生时SOD含量下降, NOS含量上升, SOD参与的信号通路有长寿调节途径信号通路(6.12%)、FOXO信号转导通路(10.20%), NOS参与代谢途径(30.61%)、HIF-3信号通路(10.20%)、PI3K-Akt信号通路(14.29%)、AGE-RAGE信号通路在糖尿病并发症中

的作用信号通路(8.16%)、VEGF信号通路(6.12%)、精氨酸生物合成信号通路(4.08%)、精氨酸与脯氨酸代谢信号通路(6.12%)及胰岛素抵抗信号通路(8.16%)。从中可以推断吴茱萸通过参与长寿调节途径、FOXO信号转导通路、精氨酸生物合成信号通路及精氨酸与脯氨酸代谢信号通路, 抑制SOD合成, 导致细胞内O₂含量降低, NO含量升高, 细胞应激HIF-3信号通路, 从而产生了氧化应激现象。除此之外, 肝毒性损伤可分为化学性损伤和免疫性损伤, 其中以免疫性损伤为主, 但是通常2种损伤同时发生。因此不排除吴茱萸的代谢产物诱导氧自由基引起肝细胞膜性结构破坏, 释放大量细胞因子和炎症因子, 导致炎症细胞的增殖聚集, 造成免疫性的损伤。

实验预测所得吴茱萸活性成分、致肝毒性靶点及推测其致肝毒性机制与已有文献报道结果较为接近, 表明基于网络药理学的活性成分筛选和靶点预测具有一定的准确性, 同时也揭示了吴茱萸多成分、多靶点的协同致肝毒性作用特点。

参考文献

- [1] 高尚, 孙向明, 许颖, 等. 中药致肝毒性相关机制研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2014, 30(3): 257-270.
- [2] Wang J, Ji L, Liu H, et al. Study of hepatotoxicity induced by *Dioscorea bulifera* L. rhizome in mice [J]. *Biosci Trends*, 2010, 4(2): 79-85.
- [3] 张凯, 董晓敏, 王琦, 等. 常用中药肝毒性成分代谢与毒理研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(22):

- 5435-5447.
- [4] 国家药品监督管理局. 中药药源性肝损伤临床评价技术指导原则 [EB/OL]. 2018-06-12. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2138/229510.html>.
- [5] 范琼尹, 赵保胜. 痔血胶囊肝毒性药物因素分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 150-157.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [7] 明·李时珍. 本草纲目 (下册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999.
- [8] 黄伟, 孙蓉. 吴茱萸不同组分镇痛作用及安全范围研究 [J]. 中国药物警戒, 2012, 9(7): 397-400.
- [9] 黄伟, 孙蓉, 吕丽莉, 等. 吴茱萸水提组分单次给药对小鼠肝毒性“量-时-毒”关系研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(5): 96-99.
- [10] 李波, 李莉, 赵军宁, 等. 吴茱萸乙醇提取物对大鼠急性毒性及肝毒性的影响 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(2): 120-124.
- [11] Pellati F, Benvenuti S, Yoshizaki F, et al. Headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry analysis of the volatile compounds of *Evodia* species fruits [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1087(1/2): 265-273.
- [12] Ko H C, Wang Y H, Liou K T, et al. Anti-inflammatory effects and mechanisms of the ethanol extract of *Evodia rutaecarpa* and its bioactive components on neutrophils and microglial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 555(2/3): 211-217.
- [13] 蔡雪映, 孟楠, 杨冰, 等. 服用吴茱萸过量致中毒1例分析 [J]. 北京中医药, 2006, 25(3): 171-172.
- [14] 李文兰, 孙向明, 陈晨, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 的吴茱萸致肝毒性部位及入血成分分析 [J]. 质谱学报, 2017, 38(3): 282-293.
- [15] Pellati F, Benvenuti S, Yoshizaki F, et al. Development and validation of HPLC methods for the analysis of phenethylamine and indoloquinazoline alkaloids in *Evodia* species [J]. *J Sep Sci*, 2006, 29(5): 641-649.
- [16] Zhou Y, Li S H, Jiang R W, et al. Quantitative analyses of indoloquinazoline alkaloids in *Fructus Evodiae* by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(20): 3111-3118.
- [17] Liang J, Chen Y, Ren G, et al. Screening hepatotoxic components in *Euodia rutaecarpa* by UHPLC-QTOF/MS based on the spectrum-toxicity relationship [J]. *Molecules*, 2017, 22(8): 1264-1277.
- [18] Li W L, Sun X M, Liu B M, et al. Screening and identification of hepatotoxic components in *Evodia rutaecarpa* based on spectrum-effect relationship and UPLC-Q-TOFMS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(12): 1975-1983.
- [19] 廖文强, 李波, 李莉, 等. 吴茱萸致小鼠肝毒性分子机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(24): 4865-4868.
- [20] 王亮, 窦立雯, 郭威, 等. 基于中药传统用法的毒性 Q-Marker 发现: 以吴茱萸为例 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1159-1166.
- [21] 周璐, 姚广涛, 曹智丽, 等. 吴茱萸水煎液致小鼠肝毒性机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(22): 269-272.
- [22] 王珺平, 唐国都. STAT3 介导的 IL-10 抗炎性反应研究进展 [J]. 医学综述, 2009, 15(1): 52.