

基于质量标志物的金岗清瘟颗粒有效成分辨识及其含量测定

覃仕娜¹, 朱素梅^{1#}, 莫钧茹¹, 覃 淼¹, 黄金梅¹, 苏军峰², 梁健钦^{1,3}, 奉建芳^{1,3*}

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200

2. 广西恒拓医药集团有限公司, 广西 南宁 530009

3. 广西优势中成药与民族药开发工程技术研究中心, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 筛选金岗清瘟颗粒抗炎活性成分并测定其含量。方法 采用二甲苯致小鼠耳肿胀急性炎症模型和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 炎症模型, 分别以小鼠耳肿胀度以及炎症因子一氧化氮(nitric oxide, NO)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)为指标, 评价金岗清瘟颗粒的抗炎作用。通过网络药理学预测金岗清瘟颗粒具有抗炎作用的化学成分和潜在靶点, 对作用靶点进行基因本体(gene ontology, GO)功能和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析, 对化学成分的吸收、分布、代谢、排泄、毒性(absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity, ADMET)性质进行筛选作为有效成分, 再通过高效液相色谱(HPLC)法测定有效成分含量。结果 在动物实验中, 与模型组相比, 金岗清瘟颗粒可以显著减轻小鼠耳肿胀的炎症反应($P < 0.01$)。在细胞实验中, 与对照组相比, 模型组细胞上清液中 NO、IL-6 和 TNF- α 水平明显升高($P < 0.01$); 与模型组相比, 金岗清瘟颗粒含药血清组细胞上清液中炎症因子水平显著降低($P < 0.01$)。网络药理学分析结果显示, 筛选得到 43 个化学成分, 619 个成分靶点和 584 个疾病靶点, 作用靶点 128 个, 主要富集在炎症反应、一氧化氮生物合成过程的正调控等 556 条生物过程, 以及缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)信号通路、TNF 信号通路等 108 条通路。结合 ADMET 性质筛选得到齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸和连翘苷作为有效成分, 其质量分数分别为 0.65、0.68、0.59、2.38 mg/g。结论 体内外实验证实金岗清瘟颗粒具有抗炎作用, 其作用机制可能是通过作用于前列腺素 G/H 合酶 2(prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2)、IL-6、TNF 等靶点调控 HIF-1 信号通路、TNF 信号通路等信号通路。齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸和连翘苷是金岗清瘟颗粒的抗炎活性成分, 可作为制剂的质量控制指标。

关键词: 金岗清瘟颗粒; 抗炎; 网络药理学; 含量测定; 齐墩果酸; 熊果酸; 咖啡酸; 连翘苷

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)24-7527-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.24.015

Screening and determination of effective content of Jingang Qingwen Granules based on quality marker

QIN Shi-na¹, ZHU Su-mei¹, MO Jun-ru¹, QIN Miao¹, HUANG Jin-mei¹, SU Jun-feng², LIANG Jian-qin^{1,3}, FENG Jian-fang^{1,3}

1. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. Guangxi Hengtuo Pharmaceutical Group Co., Ltd., Nanning 530009, China

3. Guangxi Superior Proprietary Chinese Medicine and Ethnic Medicine Development Engineering Technology Research Center, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To screen and determine the anti-inflammatory active components of Jingang Qingwen Granules (金岗清瘟颗粒, JGQW). **Methods** Acute inflammation model of xylene induced ear swelling in mice and lipopolysaccharide (LPS) induced inflammation model of RAW264.7 cells were used to evaluate the anti-inflammatory effects of JGQW, using the degree of ear swelling

收稿日期: 2021-08-25

基金项目: 中国科学院科技服务网络计划(STS 计划)区域重点项目(KFJ-STQYD-2021-03-002); 广西自然科学基金资助项目(2020GXNSFAA238035); 广西科技基地和人才专项(桂科 AD20238058)

作者简介: 覃仕娜(1997—), 女, 2019 级在读硕士生, 从事中药新药开发。Tel: 15678878462 E-mail: 1643130710@qq.com

*通信作者: 奉建芳, 教授, 博士生导师。Tel: 13817588549, E-mail: fengjianfang@vip.163.com

#共同第一作者: 朱素梅(1996—), 女, 2020 级在读硕士生, 从事中药新药开发。Tel: 15177589769 E-mail: 1627555900@qq.com

in mice and inflammatory factors nitric oxide (NO), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) as indicators. The chemical components and potential targets of JGQW with anti-inflammatory effects were predicted by network pharmacology. The targets were analyzed by gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity (ADMET) and other properties of chemical components were screened to obtain effective components. Finally, content of active components was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** In animal experiments, JGQW significantly reduced the inflammatory response of ear swelling in mice compared with model group ($P < 0.01$). In cell experiments, levels of NO, IL-6 and TNF- α in supernatant produced by cells in model group were significantly higher than control group ($P < 0.01$), while the levels of inflammatory factors in JGQW-containing serum group were significantly lower than model group ($P < 0.01$). Network pharmacological analysis obtained 43 chemical components, 619 component targets, 584 disease targets and 128 action targets, which were mainly concentrated in 556 biological processes such as inflammatory response and positive regulation of nitric oxide biosynthesis, as well as 108 pathways such as hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) signal pathway and TNF signal pathway. Combined with ADMET screening, oleanolic acid, ursolic acid, caffeic acid and forsythine were obtained as target component with the contents of 0.65, 0.68, 0.59 and 2.38 mg/g, respectively. **Conclusion** *In vitro* and *in vivo* experiments confirmed that JGQW has anti-inflammatory effects, and its mechanism may be related to the interaction with prostaglandin G/H synthase 2 (PTGS2), IL-6, TNF and other targets to regulate HIF-1 signaling pathway, TNF signaling pathway and other signaling pathways. Oleanolic acid, ursolic acid, caffeic acid and forsythine are anti-inflammatory active ingredients of JGQW and can be used as quality control indicators for the formulation.

Key words: Jingang Qingwen Granules; anti-inflammation; network pharmacology; content determination; oleanolic acid; ursolic acid; caffeic acid; forsythine

炎症反应是机体抵御外界刺激的重要过程,是大多数急慢性疾病的病因,参与肺炎、结直肠癌、酒精性肝炎、动脉粥样硬化、糖尿病和肿瘤等疾病的发展。目前,临床常用抗炎药物(如非甾体类抗炎药、甾体类抗炎药)长期大量使用会引发多种不良反应^[1]。中药在治疗炎症方面具有疗效较好、不良反应小等优点。因此从中药资源中寻找能有效抗炎的药物,具有重要的临床价值。

金岗清瘟复方是从广西壮瑶地区瘟病用药经验中挖掘整理得到的,由金果榄、岗梅、白鹤藤等 6 味中药民族药材组成的小复方。中医理论认为,金果榄^[2]、岗梅^[3]、白鹤藤^[4]等具有清热解毒、利咽止痛、解暑除湿等功效,常用于感冒发热、咽喉肿痛、痈疽疔毒等。现代药理学研究表明,金果榄、岗梅、白鹤藤均具有抗炎、抗菌、抗病毒等作用,临床上用于溃疡、疥疮等治疗^[5-7]。本课题组将其开发成具有抗炎作用的金岗清瘟颗粒,在其开发过程中,需进一步筛选出有效成分作为含量测定的指标,以便于建立制剂的质量标准。

中药质量标准是对中药有效性和安全性的反映和表征,其建立存在诸多问题,难以客观、全面评价和有效控制中药质量^[8]。针对这个问题,刘昌孝院士^[9]提出中药质量标志物(quality marker, Q-Marker)的概念,用于指导中药制剂的质量研究工作。金岗清瘟颗粒作为一个复方,其化学成分较多,

如何准确选择含测指标成分是评价和控制金岗清瘟颗粒质量的关键。本研究基于 Q-Marker 理念,通过网络药理学和 Discovery Studio 中吸收、分布、代谢、排泄、毒性(absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity, ADMET)插件筛选金岗清瘟颗粒的有效成分,并通过文献验证有效成分的有效性,最后测定上述有效成分的含量,为制剂的质量标准研究提供依据。

1 材料

1.1 细胞

小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 购自中国科学院上海生命科学研究院。

1.2 动物

SPF 级昆明种小鼠,4 周龄,体质量 18~22 g,雌雄各半,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号 SYXK(桂)2019-0001。实验前于广西中医药大学动物房适应性饲养 3 d,室温 20~25 °C,自由进食纯水。动物实验经广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准(批准号 DW20210116-018)。

1.3 药材

金果榄、白鹤藤、罗汉茶购自玉林中药材市场,岗梅、黄芩、连翘饮片购自南宁市万药堂药业有限公司,经广西卫生职业技术学院中药教研室熊万娜副教授鉴定分别为防己科植物金果榄 *Tinospora*

capillipes Gagnep. 的干燥块根、旋花科植物白鹤藤 *Argyrea acuta* Lour. 的地上部分、罗汉茶为胡桃科植物黄杞 *Engelhardia roxburghiana* Wall. 的干燥叶、冬青科植物岗梅 *Ilex asprella* (Hook. et Arn.) Champ. ex Benth. 的干燥根、唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实。

1.4 药品与试剂

对照品齐墩果酸 (质量分数 91.1%, 批号 110709-201808)、熊果酸 (质量分数 99.9%, 批号 110742-201823)、咖啡酸 (质量分数 99.7%, 批号 110885-201703)、连翘苷 (质量分数 95.1%, 批号 110821-201816) 购自中国食品药品检定研究院; 高糖 DMEM 培养基、胎牛血清均购自以色列 BI 公司; 醋酸地塞米松片 (批号 200419) 购自浙江仙琚制药股份有限公司; 噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO)、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS, 批号 713A032) 均购自北京索莱宝科技有限公司; 小鼠白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.5 仪器

EL104 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); XSR205DU 型十万分之一电子分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); Infinite 200 PRO 型多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); MCO-18AIC 型 CO₂ 培养箱 (日本松下健康医疗器械株式会社); TD-5 型台式离心机 (四川蜀科仪器有限公司); BDS400 型倒置显微镜 (重庆奥特光学仪器有限责任公司); LC-2030C3D 型高效液相色谱仪 (HPLC, 日本株式会社岛津制作所)。

1.6 数据库及软件

TCMSP 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)、SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、String 数据库 (version 11.0, <https://string-db.org/>)、GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、TTD 数据库 (<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>)、DAVID 6.8 软件 (<https://david-d.ncifcrf.gov/>)、Cytoscape 软件 (v3.7.2, <https://cytoscape.org/>)、Venny 2.1 在线工具 ([https://](https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html)

bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html)。

2 方法

2.1 金岗清瘟颗粒的制备

称取金果榄 6 g、岗梅 30 g、白鹤藤 15 g、罗汉茶 15 g、连翘 10 g 和黄芩 15 g, 加 10 倍量 60%乙醇, 回流提取 1.5 h, 滤过, 滤液减压浓缩至相对密度为 1.02~1.08 的清膏。药渣加 10 倍量水, 煎煮 2 次, 每次 1.5 h, 滤过, 滤液浓缩至相对密度为 1.02~1.08 的清膏, 与上述清膏混匀, 干燥成干膏, 粉碎, 即得。

2.2 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验

将 40 只小鼠随机分为模型组、地塞米松 (0.1 g/kg) 组和金岗清瘟颗粒高、低剂量 (6.94、3.47 g/kg) 组, 每组 10 只。各给药组 ig 药物 (20 μ L/g), 模型组 ig 0.9%氯化钠溶液, 1 次/d, 连续 7 d。末次给药 30 min 后, 取 20 μ L 二甲苯涂布于小鼠右耳的前后两面刺激耳廓肿胀 (以左耳作为空白对照), 30 min 后颈椎脱臼处死动物, 剪下双耳, 用直径为 8 mm 的打孔器在左右耳对称部位打下耳片, 精密称定耳片质量, 计算耳肿胀度和肿胀抑制率^[10]。

耳肿胀度 = 右耳片质量 - 左耳片质量

肿胀抑制率 = (模型组平均耳肿胀度 - 给药组平均耳肿胀度) / 模型组平均耳肿胀度

2.3 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症实验

2.3.1 含药血清制备 将 30 只小鼠随机分为地塞米松 (0.1 g/kg) 组和金岗清瘟颗粒高、低剂量 (6.94、3.47 g/kg) 组, 每组 10 只, 各给药组 ig 药物 (20 μ L/g), 模型组 ig 0.9%氯化钠溶液, 1 次/d, 连续 7 d。末次给药 1 h 后, 小鼠摘眼球取血, 13 000 r/min 离心, 取上层血清, -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

2.3.2 MTT 法检测 RAW264.7 细胞活性 取对数生长期的 RAW264.7 细胞, 以 1×10^5 /mL 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。设置对照组、地塞米松组和金岗清瘟颗粒高、低剂量组, 弃去培养基, 各给药组每孔加入 100 μ L 10%含药血清的 DMEM 培养基, 对照组每孔加入 100 μ L 不含药物的 DMEM 培养基, 每组设立 6 个复孔, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 加入 20 μ L MTT, 孵育 4 h, 弃去上清液, 每孔加入 150 μ L DMSO, 避光振摇 10 min, 测定 490 nm 处的吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

细胞存活率 = $A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$

2.3.3 一氧化氮 (nitric oxide, NO)、IL-6 和 TNF- α 水平的测定 取对数生长期的 RAW264.7 细胞, 以

5×10^5 /mL 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养 24 h。设置对照组、模型组、地塞米松组和金岗清瘟颗粒高、低剂量组, 弃去培养基, 各给药组每孔加入 100 μ L 10% 含药血清的 DMEM 培养基, 模型组加入 100 μ L 不含药物的 DMEM 培养基, 对照组加入 200 μ L 不含药物的 DMEM 培养基, 培养 1 h。除对照组外, 其余各组加入 100 μ L 的 LPS 溶液 (1 μ g/mL), 培养 24 h。吸取上清液, 4 $^{\circ}$ C、13 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 采用 Griess 法检测 NO 水平, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-6、TNF- α 水平。

2.4 网络药理学分析

2.4.1 化学成分筛选 通过文献检索和 TCMSP 数据库查询, 以药材名为关键词, 搜索药材的化学成分, 以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (drug likeness, DL) ≥ 0.18 为筛选标准, 结合文献报道的相应药材的活性成分作为金岗清瘟颗粒的化学成分。

2.4.2 成分靶点和抗炎疾病靶点筛选 通过 Drugbank 数据库和 PubChem 数据库检索, 导出各化学成分 3D 化学结构数据, 保存为 “mol2” 格式。将各个成分 “mol2” 格式文件上传至 SwissTarget Prediction 在线平台, 搜索化学成分靶点, 选取预测结果中参数 “Probability ≥ 0.1 ” 的靶点, 去重, 运用 UniProt 数据库校正靶点名称为官方名称, 最后得到化学成分的作用靶点。通过 TTD 数据库和 GeneCards 数据库, 搜索关键词 “Inflammation”, 以基因库中 “Score” 的中位数为筛选条件, 选择 “Score ≥ 4.0 ” 的靶点作为疾病靶点, 将 2 个数据库的疾病靶点合并汇总、去重后, 利用 UniProt 数据库校正, 得到疾病靶点。

2.4.3 作用靶点聚类分析 将金岗清瘟颗粒化学成分靶点和疾病靶点导入 Venny 2.1 在线工具, 绘制韦恩图, 提取交集部分靶点, 即金岗清瘟颗粒化学成分作用于炎症的靶点。将作用靶点导入 String 数据库, 物种为 “homo sapiens”, 最低相互作用评分设置为 “medium confidence (0.4)”, 其余参数默认, 获得蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 关系, 保存为 TSV 格式文件。将 TSV 格式文件导入 Cytoscape 3.7.2, 建立 PPI 网络图。

2.4.4 基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析 将上述作用

靶点导入 DAVID 6.8 数据库, 进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 选择排名前 10, 且 $P \leq 0.01$ 、FDR ≤ 0.01 的通路进行分析。

2.4.5 “药材-化学成分-作用靶点”网络构建 通过 Cytoscape 3.7.2 软件, 绘制 “药材-化学成分-作用靶点” 网络图, 节点表示药材、化学成分和作用靶点, 节点之间以边连接。运用该软件的 “Network analyzer” 插件计算出网络拓扑学参数。节点度值为网络中与某节点相连边的数量, 其值越大, 则提示该节点在网络中的重要性越大。

2.5 化学成分的 ADMET 筛选

对上述网络中化学成分进行 ADEMT 生物药剂学性质预测, 筛选出生物药剂学性质良好 (易吸收、低毒性) 的成分作为有效成分, 供后续含量测定研究用。具体操作如下: 将准备好的化合物导入 Discovery Studio (2016) 软件中, 在该软件 “Small Molecules” 模块下的 “Calculate Molecular Properties” 中选择 ADMET Descriptors, 其他参数选择默认设置, 点击 Run, 运行计算, 获得这些化学成分在 25 $^{\circ}$ C 下的水溶解度、血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 通透性、肝毒性、人类肠道吸收性等结果。各参数判断标准如下: 水溶解度可分为 0、1、2、3、4, 分别代表水溶性极低、非常低、低、好、最佳; BBB 通透性可分为 0、1、2、3、4, 分别代表非常高、高、中等、低、非常低; 肝毒性分为 F 和 T, 分别代表无肝毒性和有肝毒性; 人类肠道吸收性可分为 0、1、2、3, 分别代表肠道吸收性很好、比较好、比较差、非常差。

2.6 HPLC 测定金岗清瘟颗粒中齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸和连翘苷含量

2.6.1 色谱条件 Shimadzu Shim-pack column C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 体积流量 1.0 mL/min; 齐墩果酸和熊果酸^[11]的流动相为 乙腈 - 甲醇 - 0.5% 醋酸铵水溶液 (67:12:21), 等度洗脱; 咖啡酸和连翘苷^[12]的流动相为 乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~80 min, 12% A; 80~90 min, 12%~27% A; 90~110 min, 27% A; 检测波长为 210 nm; 进样量为 10 μ L。理论塔板数分别按熊果酸、连翘苷峰计, 均应不低于 5000。

2.6.2 对照品溶液的制备 取齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸、连翘苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇分别配制成含齐墩果酸 0.05 mg/mL、熊果酸 0.06

mg/mL 的对照品溶液 1, 含咖啡酸 0.08 mg/mL、连翘苷 0.25 mg/mL 的对照品溶液 2。

2.6.3 供试品溶液的制备 取金岗清瘟颗粒约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶, 精密加 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 15 min, 放冷, 再称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取滤液, 即得。

2.6.4 含量测定 分别精密吸取对照品溶液 1、2 和供试品溶液各 10 μ L, 注入 HPLC, 测定, 即得。

2.7 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较采用 *t* 检验, 多组比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 金岗清瘟颗粒对小鼠耳廓肿胀度的影响

如表 1 所示, 与模型组相比, 各给药组小鼠耳廓肿胀度明显降低 ($P < 0.01$), 表明金岗清瘟颗粒可明显抑制由二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀。与地塞米松组相比, 金岗清瘟颗粒高、低剂量组均无显著差异, 提示金岗清瘟颗粒具有良好的抗炎作用。

表 2 金岗清瘟颗粒含药血清对 RAW264.7 细胞上清液 NO、IL-6 和 TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of Jingang Qingwen Granules contained serum on NO, IL-6 and TNF- α levels in supernatant of RAW264.7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	NO/(μ mol·L ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)
对照	11.18 $\pm$ 1.28	2.52 $\pm$ 0.01	4.67 $\pm$ 0.01
模型	35.21 $\pm$ 1.37 ^{###}	833.81 $\pm$ 0.02 ^{###}	932.44 $\pm$ 0.06 ^{###}
地塞米松	18.03 $\pm$ 0.67 ^{**}	193.76 $\pm$ 0.06 ^{**}	168.11 $\pm$ 0.08 ^{**}
金岗清瘟颗粒	12.57 $\pm$ 0.60 ^{**Δ}	127.19 $\pm$ 0.01 ^{**Δ}	117.40 $\pm$ 0.02 ^{**Δ}
	13.03 $\pm$ 0.86 ^{**$\Delta\Delta$}	97.67 $\pm$ 0.02 ^{**$\Delta\Delta$}	104.00 $\pm$ 0.02 ^{**$\Delta\Delta$}

与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与地塞米松组比较: ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group; ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ vs dexamethasone group

($P < 0.01$)。与地塞米松组相比, 金岗清瘟颗粒高、低剂量组上清液 NO、IL-6 和 TNF- α 水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 提示金岗清瘟颗粒具有明显的抗炎作用。

3.3 金岗清瘟化学成分、靶点和疾病靶点的筛选

通过 TCMSP 数据库和文献检索^[13-18], 共筛选得到 43 个化学成分 (表 3)。通过 Drugbank 数据库和 PubChem 数据库分别得到 1077、2673 个化学成分靶点, 删除重复靶点, 经 UniProt 数据库标准化靶点名称, 最后得到 619 个化学成分靶点。

通过 TTD 数据库和 GeneCards 数据库分别得到 43、550 个疾病靶点, 删除重复靶点, 经 UniProt 校正靶点名称, 得到 584 个疾病靶点。

表 1 金岗清瘟颗粒对小鼠耳廓肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Jingang Qingwen Granules on auricle swelling in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	耳肿胀度/mg	肿胀抑制率/%
模型	—	11.18 $\pm$ 1.28	—
地塞米松	0.10	3.84 $\pm$ 1.29 ^{**}	65.67
金岗清瘟颗粒	6.94	3.91 $\pm$ 2.71 ^{**}	65.06
	3.47	4.26 $\pm$ 1.86 ^{**}	61.90

与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.2 金岗清瘟颗粒含药血清对 RAW264.7 细胞上清液 NO、IL-6 和 TNF- α 水平的影响

MTT 结果显示, 对照组细胞存活率为 100%, 金岗清瘟颗粒含药血清高、低剂量组和地塞米松含药血清组细胞存活率分别为 98.01%、103.92% 和 100.89%, 提示相应剂量下无明显细胞毒性。

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组细胞上清液中 NO、IL-6 和 TNF- α 水平明显升高 ($P < 0.001$), 提示 LPS 可诱导 RAW264.7 细胞炎症应答反应。与模型组比较, 金岗清瘟颗粒高、低剂量组和地塞米松组上清液 NO、IL-6 和 TNF- α 水平均显著降低

3.4 作用靶点筛选和富集分析

如图 1 所示, 化学成分靶点和疾病靶点的交集靶点有 128 个, 包括 B 淋巴细胞瘤 2 (B-cell lymphoma 2, BCL2)、细胞周期蛋白依赖激酶 1 (cyclin-dependent kinase 1, CDK1)、二肽基肽酶 4 (dipeptidyl peptidase 4, DPP4)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、糖原合成酶激酶 3 α (glycogen synthase kinase 3 α , GSK3A)、转录因子 JUN、基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase 1, MMP1)、IL-6 等。通过聚类分析得到 PPI 网络, 网络共有 128 个节点、2019 条边, 节点的平均度值为 31.5, 网络中心度 0.676。

生物过程 (biological process, BP) 富集分析中

表 3 金岗清瘟颗粒主要化学成分

Table 3 Main chemical components in Jingang Qingwen Granules

化学成分	CAS 号	化学成分	CAS 号
千金藤宁碱	17369-30-1	黄连碱	3486-66-6
去氢分离木瓣树胺	89560-99-6	角鲨烯	111-02-4
金果榄苷	105661-47-0	表小檗碱	6873-09-2
非洲防己碱	3486-67-7	麝香草黄酮	3570-62-5
古伦宾	546-97-4	黄芩黄酮	70028-59-0
β -谷甾醇	83-46-5	黄芩苷	21967-41-9
齐墩果酸	508-02-1	黄芩素	491-67-8
熊果酸	77-52-1	5,8,2'-三羟基-7-甲氧基黄酮	77056-20-3
绿原酸	327-97-9	依地硫醇(氟通)	4049-38-1
芦丁	153-18-4	鼠尾草碱	19103-54-9
原儿茶酸	99-50-3	黄芩黄酮 II	55084-08-7
咖啡酸	331-39-5	木蝴蝶素	480-11-5
槲皮素	117-39-5	二甲氧基黄酮	41060-16-6
山柰酚	520-18-3	黄芩新素	55084-08-7
落新妇苷	29838-67-3	二羟基木素	18956-18-8
花旗松素	480-18-2	表儿茶素	490-46-0
黄杞苷	572-31-6	金合欢素	480-44-4
汉黄芩素	632-85-9	远志酮 I	136083-93-7
(+)-松脂醇	487-36-5	牛蒡子苷	20362-31-6
连翘苷	487-41-2	木犀草素	491-70-3
丁香香萜	472-15-1	贯叶金丝桃素	11079-53-1
连翘脂素	487-39-8		

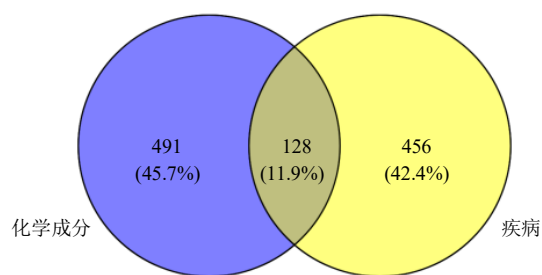


图 1 化学成分和疾病交集靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of intersection targets of chemical components and diseases

共得到 556 个条目, 排名靠前的条目有炎症反应、一氧化氮生物合成过程的正调控、平滑肌细胞增殖的正调控、肽基丝氨酸磷酸化、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控。细胞组成 (cellular component, CC) 富集在细胞外间隙、质膜、细胞表面、膜筏、胞外区等 59 个条目。分子功能 (molecular function, MF) 富集在酶结合、蛋白激酶活性、相同蛋白质结合、RNA 聚合酶 II 转录因子活性, 配体激活序列特异性 DNA 结合、类固醇激素受体等 102 个条目。GO 富集分析结果见图 2, 作用靶点大多分布在细胞

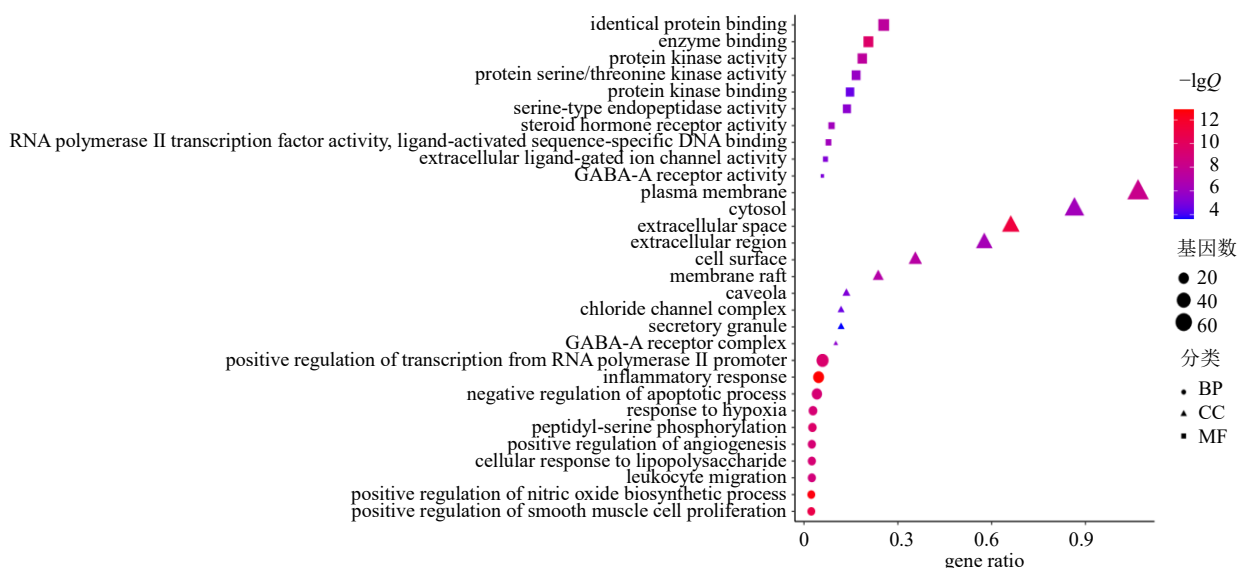


图 2 GO 功能富集分析

Fig. 2 GO function enrichment analysis

外间隙及质膜中,主要通过炎症反应、一氧化氮生物合成过程的正调控等生物过程以及酶结合、蛋白激酶活性等分子功能来发挥治疗炎症的作用。

KEGG 通路富集结果见图 3,作用靶点主要富集在癌症的途径、缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 信号通路、TNF 信号通路、胰腺癌通路等 108 条通路。表明金岗清瘟颗粒的抗炎作用可能与调控 HIF-1、TNF 信号通路等有关。

3.5 “药材-化学成分-作用靶点”网络分析

“药材-化学成分-作用靶点”网络如图 4 所示,圆形代表作用靶点,四边形代表化学成分靶点。该网络由 157 个节点和 656 条边构成,平均度值为

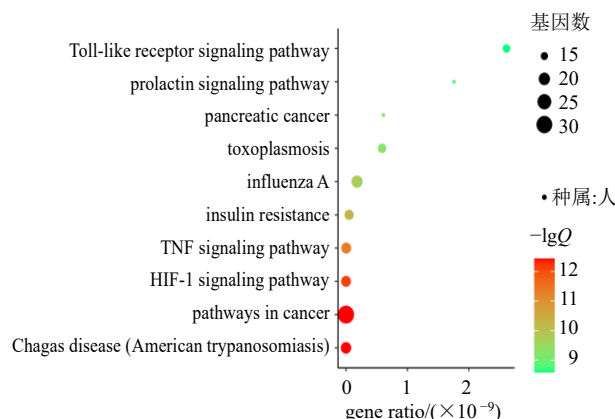


图 3 KEGG 通路富集分析

Fig. 3 KEGG pathway enrichment analysis

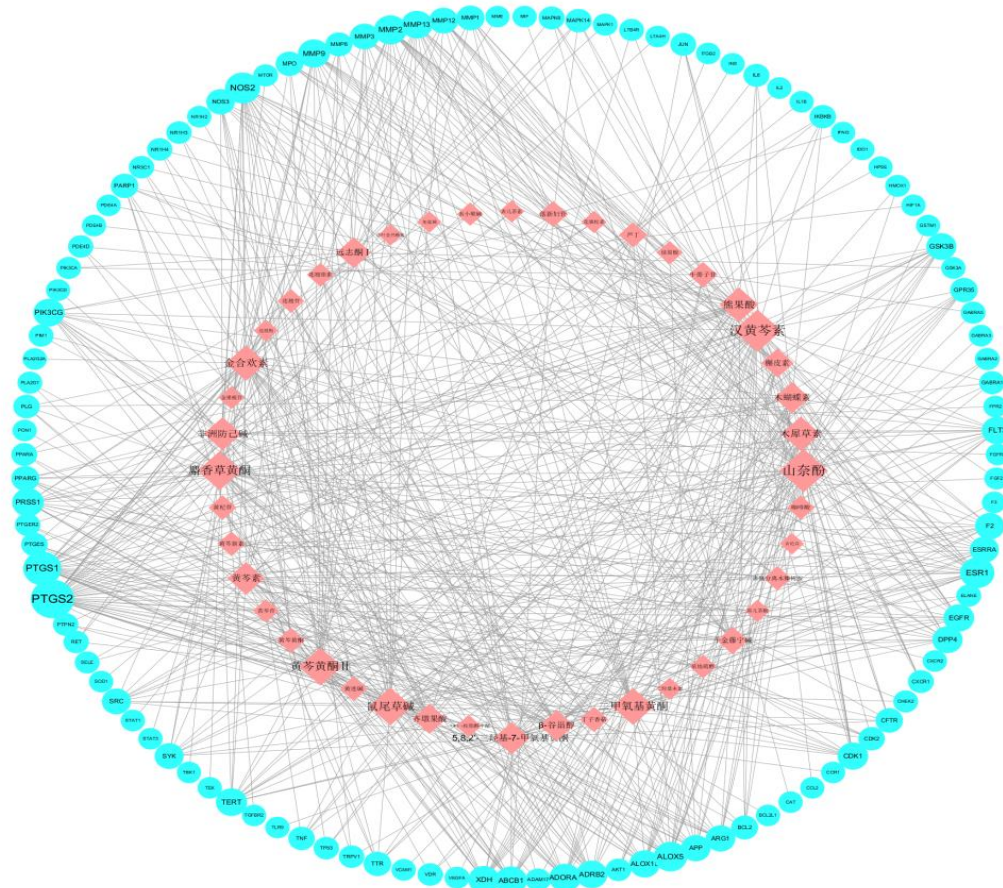


图 4 “药材-化学成分-作用靶点”网络

Fig. 4 “Medicinal herb-chemical component-target” network

8.293。通过对化学成分的度值进行分析,发现排名靠前的化学成分为山柰酚、 β -谷甾醇、汉黄芩素、槲皮素、麝香草黄酮等,提示金岗清瘟颗粒中不同药材多种成分作用于多个靶点,进而发挥抗炎作用。

3.6 化学成分的ADMET筛选

由图 4 可知,山柰酚、 β -谷甾醇、汉黄芩素、槲皮素、麝香草黄酮、二甲氧基黄酮、金合欢素、

木犀草素、熊果酸、非洲防己碱、黄芩素、齐墩果酸、芦丁、咖啡酸、落新妇苷、连翘苷、黄芩苷等 43 个成分与抗炎作用有密切关系,可作为金岗清瘟颗粒的潜在 Q-Marker。但由于成分太多,在制剂质量控制中,难以同时对这么多成分进行测定,也没必要同时测定这么多成分的含量。因此,需从 43 个成分中挑选出主要的成分进行含量测定。本研究

通过 ADMET 性质预测,筛选出有效成分进行含量测定。

结果显示,在 25 ℃ 下水溶性最佳(水溶性水平=4, $-2.0 < \lg Sw < 0$)的成分有原儿茶酸、咖啡酸、绿原酸,水溶性极低(水溶性水平=0, $\lg Sw < 8.0$)的成分有 β -谷甾醇、角鲨烯。无肝毒性成分有咖啡酸、齐墩果酸、熊果酸、丁子香堇、牛蒡子苷、连翘苷、 β -谷甾醇、角鲨烯、绿原酸、黄杞苷、二羟基木素。如图 5 所示,BBB 通透性高的成分有非洲

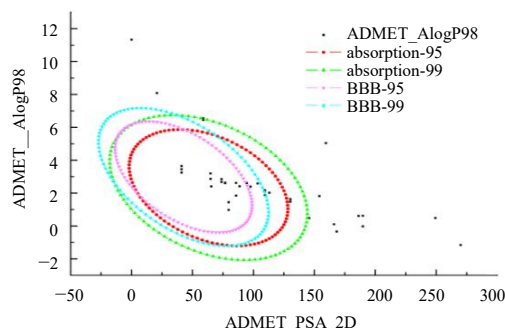


图 5 BBB 通透性和肠道吸收的置信区间图

Fig. 5 Confidence interval of BBB permeability and intestinal absorption

防己碱、黄连碱、表小檗碱,通透性低的成分有绿原酸、丁子香堇、黄芩苷、表儿茶素、落新妇苷等共 19 个。肠道吸收性质很好的成分有原儿茶酸、咖啡酸、非洲防己碱、山柰酚、表儿茶素、黄连碱、连翘脂素、木犀草素、黄芩素、古伦宾等 28 个成分,肠吸收不好的成分有黄芩苷、牛蒡子苷、落新妇苷、 β -谷甾醇、芦丁、金果榄苷、角鲨烯、绿原酸、芦丁、贯叶金丝桃素、黄杞苷。

综合 43 个化学成分的水溶性、BBB 通透性、肠道吸收以及肝毒性预测结果,筛去 ADEMT 性质不好的成分,最终得到咖啡酸、齐墩果酸、熊果酸、连翘苷、丁子香堇、二羟基木素 6 个成分可作为金岗清瘟颗粒的 Q-Marker。通过 PubChem 数据库和 Pubmed 数据库检索,对上述 Q-Marker 的抗炎活性进行验证,其中二羟基木素没有相应文献数据支持。结果见表 4。

3.7 金岗清瘟颗粒的含量测定

中药 Q-Marker 具有可测性、有效性、特有性、传递与溯源性、处方配伍 5 个基本特征。上述 6 个成分中,中国食品药品检定研究院未提供丁子香堇、

表 4 Q-Marker 抗炎药效的文献验证

Table 4 Literature verification of anti-inflammatory effect of Q-Marker

化学成分	活性浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	活性类型	模型	活性测试指标	文献 PMID
咖啡酸	40	活性浓度	RAW264.7 细胞	NO、TNF- α 、IL-6	28688098
	25	活性浓度	RAW264.7 细胞	NO	23770030
	165.295	EC ₅₀	RAW264.7 细胞	NO	18667320
齐墩果酸	41.7	IC ₅₀	RAW264.7 细胞	NO	25113933
	10	活性浓度	RAW264.7 细胞	NO、PGE2	25059280
	8	活性浓度	BEAS-2B 细胞	TNF- α 、IL-6、PGE2	25779760
熊果酸	46.9	IC ₅₀	RAW264.7 细胞	NO	14510614
	5	活性浓度	软骨细胞	TNF- α	32745911
连翘苷	6.25	活性浓度	斑马鱼	TNF- α 、IL-6	29059681
	200	活性浓度	RAW264.7 细胞	TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGE2、NO	24691777
丁子香堇	42.5	IC ₅₀	RAW264.7 细胞	NO	31255927

二羟基木素对照品,本研究对余下 4 个成分(咖啡酸、齐墩果酸、熊果酸、连翘苷)的含量进行测定。如图 6 所示,在相应色谱条件下,供试品色谱中齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸和连翘苷分离良好,分别含齐墩果酸 0.65 mg/g、熊果酸 0.68 mg/g、咖啡酸 0.59 mg/g、连翘苷 2.38 mg/g。

4 讨论

4.1 金岗清瘟颗粒的抗炎药效

研究表明,金果榄、岗梅、白鹤藤均具有抗炎作用^[19-22]。本研究以小鼠耳肿胀度以及炎症细胞

NO、IL-6 和 TNF- α 分泌量为评价指标,对金岗清瘟颗粒进行抗炎药效评价,结果表明,金岗清瘟颗粒可以明显抑制小鼠耳肿胀和炎症细胞 NO、IL-6 和 TNF- α 分泌,证实其具有抗炎作用,这可能与单味药材的抗炎作用叠加有关。

4.2 金岗清瘟颗粒抗炎作用的网络药理学分析

通过抗炎药效实验证实金岗清瘟颗粒的抗炎作用,再借助网络药理学方法筛选出具有抗炎活性的化学成分,并分析其可能的抗炎作用机制。本研究通过网络药理学,共筛选出金岗清瘟颗粒 43 个活

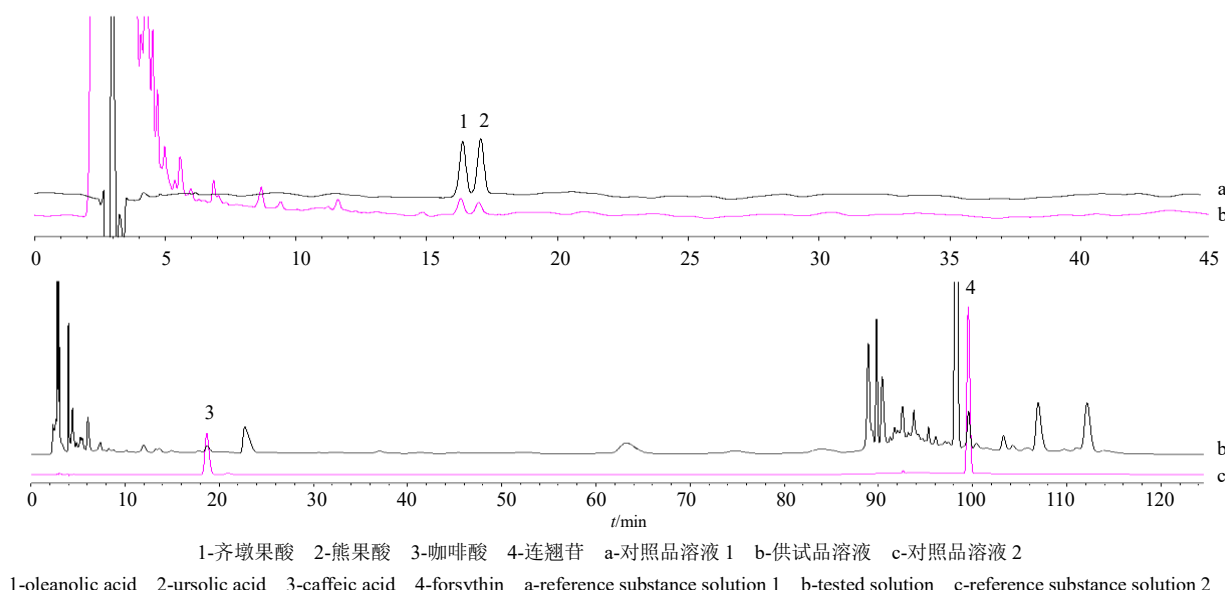


图 6 金岗清瘟颗粒供试品溶液的 HPLC 图

Fig. 6 HPLC diagram of Jingang Qingwen Granules tested solution

性成分，可能是金岗清瘟颗粒抗炎的物质基础。

通过对 128 个作用靶点进行网络分析，发现 IL-6、TNF、前列腺素 G/H 合酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2)、半胱氨酸蛋白酶 3 (Caspase 3, CASP3) 等核心靶点可能是抗炎的作用靶点。CC 趋化因子配体 2 (CC chemokine ligand 2, CCL2) 是一类可诱导的、促使细胞分化、迁移和运输功能的促炎细胞因子，主要趋化、吸引 T 和 B 淋巴细胞进入炎症部位。CASP3 在细胞凋亡的执行阶段起着重要作用，参与细胞凋亡、坏死和炎症的信号转导，负责凋亡执行的半胱氨酸蛋白酶的激活级联反应，诱导细胞发生凋亡。PTGS2 是前列腺素合成的主要限速酶、炎症诱导的氧化应激关键酶，可被多种炎症介质及细胞因子诱导大量表达，参与组织炎症过程及细胞的分化增殖过程。IL-6、TNF 为促炎细胞因子，主要是由免疫细胞分泌的内源性多肽，是炎症病理生理反应最重要的调节因子。本研究结果提示，金岗清瘟颗粒的化学成分可能作用于 IL-6、TNF、CASP3、PTGS2 等靶点发挥抗炎作用。

GO 功能分析结果显示，金岗清瘟颗粒的化学成分可能主要通过炎症反应、一氧化氮生物合成过程的正调控等生物过程以及酶结合、蛋白激酶活性等分子功能调控炎症。KEGG 通路结果显示，靶点主要富集在癌症信号通路、Toll 样受体 (Toll like receptor, TLR) 信号通路、TNF 信号通路等。癌症信号通路包含了与肿瘤形成 15 个信号转导通路特

定标志物基因。其中核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 通路、环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, Cox-2) 通路、信号传导及转录激活因子 (signal transduction and transcription activator, STAT) 通路与炎症的发生发展密切相关。TLR 属于固有免疫病原模式识别受体，可以识别入侵机体的病原微生物的蛋白质、核酸和脂类及其在反应过程中合成的中间产物和代谢产物，快速激活接头蛋白、信号复合体和转录因子复合体等，最终导致机体产生促炎性细胞因子、抗炎细胞因子及趋化因子。TLR 通过不同的识别途径活化多种免疫细胞，启动非特异性免疫应答并激起适应性免疫应答以清除病原体，在炎症、细胞存活和增殖方面发挥着关键作用。TNF 信号通路是一条主要的炎症通路，TNF- α 可激活多条通路，进而调控炎症反应、细胞凋亡及免疫反应。TNF- α 是 NF- κ B 调节的基因，可以反向作用于 NF- κ B 形成正反馈调节，当 TNF- α 被抑制后可以减轻炎症条件下产生的疼痛^[23-24]。本研究结果提示，金岗清瘟颗粒可能通过调控 TNF、TLR 等信号通路从而抑制炎症因子 NO、IL-6 和 TNF- α 的表达。

4.3 ADMET 筛选 Q-Marker

药物的 ADMET 性质是药物研发中的重要环节，ADMET 性质涵盖了药物能否被人体有效吸收、到达目标组织、未知毒性等药动学和毒理学问题，是评估小分子化合物能否成药的关键指标^[25]。近年来，利用计算方法预测药物的 ADMET 性质引起了

国内外科学家的广泛关注,根据已知分子的 ADMET 性质数据,通过机器学习和模式识别方法建立计算预测模型,从而预测未知分子的 ADMET 性质。与实验方法相比,使用计算机方法对化合物进行 ADMET 性质预测具有明显的优势^[26]。

具有较好成药性的候选成分应当具备水溶性适宜、BBB 通透性良好、毒性低、肠道吸收良好等特性。本研究发现,金岗清瘟颗粒具有良好的抗炎作用,提示只有生物药剂学性质良好的化学成分才能成为金岗清瘟颗粒的有效成分。因此,从 43 个化学成分中筛选出生物药剂学性质好的成分作为金岗清瘟颗粒的 Q-Marker 是非常必要的。本研究通过 Discovery Studio 的 ADMET 插件对金岗清瘟颗粒的化学成分进行 ADMET 性质预测,由于二羟基木素没有相应文献数据支持其抗炎活性,最终筛选出齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸、连翘苷、丁子香酚共 5 个成分作为金岗清瘟颗粒的 Q-Marker。研究表明,齐墩果酸具有抗炎作用,对 IL-6、IL-8 和 MMP1 等炎症因子、细胞外信号调节激酶和蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 的磷酸化均有明显的抑制作用,其作用机制可能是通过调控丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 NF- κ B 信号通路而抑制 IL-1 β 刺激的炎症因子的表达^[27]。熊果酸具有保肝、抗病毒、抗炎以及抗变态反应作用,其抗炎机制可能为抑制 NF- κ B 活化,减少 E-选择素 mRNA 转录,从而抑制炎症细胞因子^[28]。咖啡酸具有很好的抗炎活性,可以抑制由高级糖基化终产物-牛血清白蛋白 (advanced glycation end product-bovine serum albumins, AGEs-BSA) 诱导的细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) mRNA 表达,下调 TNF- α 和 IL-1 β 蛋白表达,减少炎症信号通路 p38MAPK/NF- κ B 相关激酶的表达,从而抑制 AGEs-BSA 诱导的人脐静脉内皮细胞 HUVEC 炎症反应^[29]。连翘苷可缓解肺损伤、肾损伤、脑损伤,具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗菌和保肝等广泛的药理作用^[30]。后期需对上述 4 成分的抗炎作用进行验证。

4.4 含量测定指标的选择

中药复方具有多成分、多途径、多靶点协同作用的特点,中药整体性作用的特性使中药复方的作

用机制、药效成分尚不清楚,中药制剂质量更难以准确评价、控制,主要体现在盲目选择制剂的含量测定指标上。在金岗清瘟颗粒质量控制方面,根据本研究结果显示,齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸和连翘苷为金岗清瘟颗粒的抗炎有效成分,因此,将以上 4 个成分作为金岗清瘟颗粒的含量测定指标,是合理的。

综上所述,本研究通过体内外实验证实金岗清瘟颗粒具有显著的抗炎作用,可以减轻二甲苯刺激的小鼠耳肿胀,抑制炎症细胞 NO、IL-6 和 TNF- α 分泌。通过网络药理学结合文献报道,预测得到 43 个具有抗炎作用的潜在 Q-Marker,主要作用于 PTGS2、IL-6、TNF 为主的多个靶点,进而参与调控 TLR 信号通路、TNF 信号通路等多条经典炎症通路,最终下调 NO、IL-6 和 TNF- α 等促炎因子水平,发挥抗炎作用。从 43 个化学成分中筛选出 ADMET 性质良好的 4 个有效成分 (齐墩果酸、熊果酸、咖啡酸和连翘苷) 作为金岗清瘟颗粒的含量测定指标,为其后续的质量控制研究及新药开发提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李鑫波,谢晓丽. 中药皂苷类成分抗炎作用的研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(8): 1008-1016.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 227.
- [3] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区瑶药材质量标准-第一卷 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2014: 112.
- [4] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准-第二卷 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2011: 3.
- [5] 叶方,杨光义,王刚. 金果榄药理作用及临床应用研究综述 [J]. 中国药师, 2011, 14(1): 132-134.
- [6] 辛晓芳,林爱华,梅全喜,等. 广东地产药材岗梅的药理作用及临床应用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(1): 196-198.
- [7] 饶伟源. 壮药罗汉茶研究进展 [J]. 广西医学, 2015, 37(7): 956-959.
- [8] 阳长明,杨平,刘乐环,等. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究进展及对中药质量研究的思考 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2519-2526.
- [9] 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.
- [10] 张梦迪,杜金城,杜钢军. 川楝子抗炎作用与机制研究

- [J]. 河南大学学报: 医学版, 2020, 39(5): 305-310.
- [11] 黄秋妹, 梁健华. 山楂降脂片中熊果酸和齐墩果酸的含量测定 [J]. 今日药学, 2009, 19(3): 23-25.
- [12] 周蓬, 马帅. 高效液相色谱法同时测定双金连合剂中 7 种成分含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(17): 1479-1482.
- [13] 严赞, 张赞. HPLC-ESI-MS/MS 同时测定金果榄中 5 种成分含量 [J]. 中药材, 2017, 40(2): 395-398.
- [14] 邓桂球, 彭敏桦, 沈雅婕, 等. 岗梅根中酚类化学成分研究 [J]. 广东药学院学报, 2015, 31(3): 321-323.
- [15] 梅瑜, 周子雄, 王继华. 南药岗梅的研究进展 [J]. 热带农业科学, 2020, 40(2): 31-38.
- [16] 卢汝梅, 杨泽华, 曾艳婷, 等. 壮药一匹绸化学成分的研究 (I) [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(9): 2142-2144.
- [17] 李丹妮, 吴佳雯, 蒋丽娟, 等. 壮药一匹绸中咖啡酸最优提取工艺研究 [J]. 亚太传统医药, 2020, 16(12): 88-91.
- [18] 覃兰芳, 赖茂祥, 刘布鸣, 等. 特色壮药材罗汉茶质量标准研究 [J]. 中医药导报, 2012, 18(11): 76-77.
- [19] 王刚, 涂自良, 陈黎, 等. 金果榄抗炎作用的实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1232-1233.
- [20] 朱伟群, 晏桂华, 李沛波. 岗梅水提取物抗炎作用的实验研究 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(3): 304-306.
- [21] 辛晓芳, 林爱华, 梅全喜. 银蒿解热合剂抗炎镇痛解热及岗梅解热作用研究 [J]. 中国药师, 2018, 21(6): 960-964.
- [22] Yang X Y, Gao X L, Du B Z, *et al.* *Ilex asprella* aqueous extracts exert *in vivo* anti-inflammatory effects by regulating the NF- κ B, JAK2/STAT3, and MAPK signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 225: 234-243.
- [23] 付志丽, 蒲健, 李龚路, 等. 金骨莲胶囊对炎症模型大鼠的抗炎作用及机制研究 [J]. 中国药房, 2021, 32(9): 1077-1082.
- [24] 罗才荣, 刘杰, 梁妍, 等. 基于分子对接技术的飞龙掌血抗炎活性生物碱筛选及其作用机制 [J]. 贵州医科大学学报, 2021, 46(6): 639-646.
- [25] Ferreira L L G, Andricopulo A D. ADMET modeling approaches in drug discovery [J]. *Drug Discov Today*, 2019, 24(5): 1157-1165.
- [26] 顾耀文, 张博文, 郑思, 等. 基于图注意力网络的药物 ADMET 分类预测模型构建方法 [J]. 数据分析与知识发现, 2021, 5(8): 76-85.
- [27] Dong N, Xue C Y, Zhang L, *et al.* Oleanolic acid enhances tight junctions and ameliorates inflammation in *Salmonella typhimurium*-induced diarrhea in mice via the TLR4/NF- κ B and MAPK pathway [J]. *Food Funct*, 2020, 11(1): 1122-1132.
- [28] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗炎及其抗变态反应 [J]. 抗感染药学, 2011, 8(4): 235-240.
- [29] 苏国莹. 咖啡酸和绿原酸抑制 AGEs 诱导的炎症反应 [D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [30] 李佳行. 连翘苷对肝脏纤维化的改善作用及机制研究 [D]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学, 2020.

[责任编辑 李亚楠]