

# 基于网络药理学和分子对接探讨藏麻黄挥发性成分对支气管炎的作用机制

常子惠<sup>1#</sup>,何文佳<sup>2#</sup>,多杰仁青<sup>3</sup>,崔小梅<sup>1</sup>,卫波宁<sup>1</sup>,德吉<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>西藏大学理学院; <sup>2</sup>西藏自治区农牧科学院水产科学研究所; <sup>3</sup>西藏藏医药大学,拉萨 850000

**摘要:**麻黄(*Ephedrae Herba*)具有发汗散寒、宣肺平喘、利水消肿的功效。现代研究表明麻黄对治疗支气管、哮喘有疗效。藏麻黄(*Ephedra saxatilis*)为西藏特有的麻黄属植物,其根、茎具有特殊香气,且目前其挥发性成分未有报道。为评价挥发性成分对支气管炎作用,用气质联用仪测定分析藏麻黄根、茎挥发性成分,并结合网络药理学和分子对接方法分析挥发性成分治疗支气管炎的关键靶点。分析检测到67个挥发性化合物,茎中含有挥发性主要成分为2,3,5,6-四甲基吡嗪(10.92%)、Z-9-十五烯醇(9.15%)、二羟基苯乙酮(7.92%);根含有的挥发性主要成分为亚油酸(7.81%)、红没药醇(7.1%)、Z-9-十五烯醇(5.98%)。有34个挥发性成分能够作用32个支气管炎疾病靶点。蛋白互作网络分析预测IL6、TNF、PTGS2、CXCL8为藏麻黄挥发性成分治疗支气管可能的潜在靶点。这些靶点与挥发性成分丁子香酚、月桂酸、反式法尼醇、 $\alpha$ -萜品醇、榄香醇和棕榈酸6种化合物靶点相互结合程度高,且分子对接效果好。本研究推测藏麻黄挥发性成分对支气管炎的治疗作用机制可能是通过抑菌作用参与炎症反应,并通过抑制TNF、IL-17、Toll样受体等炎症与免疫信号通路中IL6、TNF、PTGS2、CXCL8的表达,从而起到治疗支气管炎的作用。研究结果为挖掘藏麻黄挥发性成分中治疗支气管炎靶标分子及其产品开发提供重要参考依据。

**关键词:**藏麻黄;挥发性成分;支气管炎;网络药理学;分子对接

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)1-0133-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.1.017

## Study on therapeutic mechanism of volatile components from *Ephedra saxatilis* in treating bronchitis based on network pharmacology and molecular docking

CHANG Zi-hui<sup>1#</sup>, HE Wen-jia<sup>2#</sup>, DUO Jie-renqing<sup>3</sup>, CUI Xiao-mei<sup>1</sup>, WEI Bo-ning<sup>1</sup>, DE Ji<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Science, Tibet University; <sup>2</sup>Institute of Agriculture, Tibet Academy of Agricultural Sciences;

<sup>3</sup>University of Tibetan Medicine, Lhasa 850000, China

**Abstract:** *Ephedrae Herba* can disperse cold, relieve asthma and reduce swelling. *Ephedrae Herba* has been used in herbal medicine to cure bronchial asthma. *Ephedra saxatilis* is one of the species of the *Ephedra* genus endemic to Tibet. Its roots and stems have a special aroma, but its volatile components have not been well studied. To reveal its volatile chemical constituents and its therapeutic mechanism for treating bronchitis, the volatile components in roots and stems of *Ephedra saxatilis* were studied using gas chromatography-mass spectrometry. The key targets of volatile components in the treatment of bronchitis were analyzed by network pharmacology and molecular docking. A total of 67 volatile compounds were identified by GC-MS. The main volatile components in stems were 2,3,5,6-tetramethyl-1,4-pyrazine (10.92%), pentadecenol (9.15%), 2,2-dihydroxy-1-phenyl-ethanon (7.92%), and in roots were octadecadienoic acid (7.81%), bisabolone (7.1%), and pentadecenol (5.98%). A total of 34 volatile compounds acted on 32 targets associated with bronchitis. The target network analysis showed that IL6, TNF, PTGS2 and CXCL8 have high degrees of interaction, and so might be key targets of volatile components of *E. saxatilis* in the treatment of bronchitis. Six compounds, namely dodecanoic acid, *trans*-farnesol,  $\alpha$ -terpineol, elemol, and

收稿日期:2021-05-01 接收日期:2021-12-14

基金项目:西藏自治区自然科学基金(XZ2019ZRG-04(Z));西藏自治区科技计划(XZ202001YD0003C)

#共同第一作者

\*通信作者 Tel:86-018076907012; E-mail:dekyi1981@utibet.edu.cn

hexadecanoic acid, were predicted to be potential binding compounds for treating bronchitis. Docking analysis showed that the six compounds have high binding interactions with IL6, TNF, PTGS2 and CXCL8. We predict the therapeutic mechanism of volatile components of *E. saxatilis* on bronchitis might be through the inflammatory response involving bacteriostasis and inhibition of the expression of IL6, TNF, PTGS2 and CXCL8 targets in inflammatory and immune signaling pathways such as TNF, IL-17 and Toll-like receptors. The research may provide important clues for finding molecular targets in treating bronchitis.

**Key words:** *Ephedra saxatilis*; volatile components; bronchitis; network pharmacology; molecular docking

支气管炎主要是由支气管黏膜及周围组织的特异性反应而引起的炎症<sup>[1]</sup>,其发病周期长,致病主要受季节变化、病毒感染、过敏性感染等外部因素及呼吸道防御系统、免疫力降低等内部因素的影响<sup>[2]</sup>。

麻黄作为中药使用历史悠久,具有发汗散寒、利水消肿、宣肺平喘的功效<sup>[3]</sup>,是常用于支气管炎的中药,其含有多个活性成分。研究发现了麻黄与桂枝中药配伍中木犀草素、芹菜素、槲皮素等黄酮类化合物与 TNF- $\alpha$ 、LTB4 靶点作用,从而起到治疗支气管炎的作用<sup>[4]</sup>,但挥发性成分是否对支气管炎有作用目前未报道。藏麻黄为西藏特有的麻黄属植物,其根、茎具有特殊香气。藏医古籍《晶珠本草》<sup>[5]</sup>记载“才屯(麻黄)止血,清脾热”,《中华藏本草》<sup>[6]</sup>记载“清血热、心热、肝热、脾热及新旧热、利水、止血、止咳”。已有报道其他麻黄属植物挥发性成分,例如,甘肃草麻黄(*Ephedra sinica*)挥发性主要成分为 d- $\alpha$ -松油醇(21.4%)、十六烷酸(14.74%)、9-十六炔酸(7.51%)<sup>[7]</sup>;陕西草麻黄挥发性主要成分是 1- $\alpha$ -萜品烯醇(28.57%)、2,3,5,6-四甲基吡嗪(7.92%)<sup>[8]</sup>;中麻黄(*Ephedra intermedia*)挥发性主要成分为 1,4-桉叶素(12.8%)、1,8-桉叶素(9.9%);木贼麻黄(*Ephedra equisetina*)的挥发性主要成分是十六烷酸(26.22%)、邻苯二甲酸二丁酯(10.48%)<sup>[9]</sup>。藏麻黄因长期适应于高原环境,可能有特殊的药效物质。已发现藏麻黄根、茎具有的特殊香气有别于中药草麻黄、中麻黄等。其挥发性成分是什么,与其他麻黄属植物挥发性成分有何区别,麻黄根与茎的挥发性成分有何区别,目前未见报道。

利用网络药理学方法筛选活性物质,预测靶标蛋白,寻找信号通路,可快速预测活性成分、靶标蛋白和疾病发生发展相关通路网络之间的相互作用。分子对接是一种运用计算机技术基于受体特性以及受体与药物分子之间相互作用方式的药物设计方法,其主要研究依据是配体和受体分子在结合过程中的构象变化。由于在线的 TCMSP 数据库中未包

括藏麻黄化学成分信息,因此,利用 GC-MS 推测藏麻黄挥发性成分,结合 TCMSP 在线数据构建小型数据库,利用化合物 CAS 号查询潜在的药物作用靶点,实施网络药理学分析与分子对接,预测藏麻黄挥发性成分治疗支气管炎的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

气质联用仪(GC-MS)(6890N+5975B,美国 Agilent 公司),挥发油提取器(常规玻璃仪器)。本研究所用的藏麻黄采自西藏拉萨,海拔 3 674 m,经西藏大学拉琼教授鉴定为藏麻黄(*E. saxatilis*);所用试剂有乙醚(分析纯,成都金山化学试剂有限公司)、无水硫酸钠(分析纯,成都金山化学试剂有限公司)。

### 1.2 数据库平台

中药系统药理学分析平台(TCMSP,<http://tcmsp.com/tcmsp.php>);Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>);GeneCards 数据库(<http://www.genecards.org/>);STRING 数据库(<http://string-db.org/>);Cytoscape 3.8.0 软件;R 4.0.5 软件及 ClusterProfiler 软件包;PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>);蛋白质晶体数据库 PDB(<http://www.rcsb.org>);CB-Dock 分子对接在线平台(<http://clab.labshare.cn/cb-dock/php/blinddock.php>)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 GC-MS 分析

##### 1.3.1.1 挥发油制备

采用传统水蒸气蒸馏法分别提取藏麻黄根、茎的挥发油。称取粉碎后的样品 200 g 于提取器中,加适量水浸泡 1 h,加热提取 6 h,冷却至室温后加适量乙醚萃取,待均匀分层后取出乙醚层,经无水硫酸钠干燥,乙醚自然挥干,得到具有特殊香味的淡黄色油状物。

##### 1.3.1.2 GC-MS 条件

美国 Agilent 公司 6890N/5975B 型气相色谱-质谱联用仪,GC 条件:HP-5MS 型色谱柱(30 m × 0.25

$\text{mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ ;程序升温:柱初始温度 $60^\circ\text{C}$ ,保温 $2\text{ min}$ ,以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温速率升至 $250^\circ\text{C}$ ,保温 $10\text{ min}$ ;载气 He;流速 $1\text{ mL}/\text{min}$ ;分流比 $100:1$ 。

MS 条件:EI 离子源;电子能量 $70\text{ eV}$ ;离子源温度 $260^\circ\text{C}$ ;扫描范围 $30\sim500\text{ aum}$ ;接口温度 $250^\circ\text{C}$ ;四级杆温度 $150^\circ\text{C}$ ;溶剂延迟 $3\text{ min}$ ;进样量 $1\text{ }\mu\text{L}$ 。

检索数据库为 NIST14,采用峰面积归一化法计算挥发油各成分的相对百分含量。

### 1.3.2 网络药理学分析

#### 1.3.2.1 检索化合物潜在的靶点与支气管炎相关靶点

利用 GC-MS 检测出的藏麻黄挥发油化合物的 CAS 号在中药系统药理学分析平台(TCMSP)获得化合物的 MOLID 及其潜在的作用靶点及相关基因名。检索得到的靶点再与 Uniprot 数据库比对,通过 Uniprot 进行 gene 名称标准化。在 GeneCards 数据库以“Bronchitis”为检索词搜索支气管炎相关靶点的 gene 名称,将化合物靶点和疾病相关靶点取交集分析。用上述靶点信息可分析藏麻黄挥发油对支气管炎的治疗机制。

#### 1.3.2.2 靶标蛋白互相作用核心网络的构建

将所得的共同靶基因在 STRING 数据库进行 PPI 网络分析,隐藏游离靶点,蛋白互作分值设为 $0.4$ ,导出 TSV 格式文件,导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建蛋白互作网络。

#### 1.3.2.3 化合物-靶点-通路网络

利用 Cytoscape 3.7.1 软件对化合物、靶点、通路信息进行化合物-靶点-通路网络的构建。

#### 1.3.2.4 靶点通路分析

将靶点通过 R 语言 ClusterProfiler 包进行 GO 功能富集分析,对得到的生物过程(biological process, BP)条目、细胞组成(cell composition, CC)条目、分子功能(molecular function, MF)条目以 $P < 0.05$ 加以筛选,各类别排名前 10 的 GO 条目绘制气泡图,KEGG 通路富集筛选得到的前 20 条信号通路( $P < 0.05$ )绘制气泡图。

#### 1.3.3 分子对接

在使用 Cytoscape 3.7.1 构建蛋白互作网络时对数据进行“Network Analyze”分析,根据分析结果选择 degree 值靠前的 4 个靶点作为分子对接的蛋白。在化合物-靶点-通路网络构建时对该网络也进行“Network Analyze”拓扑分析,选取 degree 值大于 10 的化合物与上述靶点分别进行分子对接。分别

从 PDB 和 PubChem 数据库下载上述筛选出的核心成分以及核心靶点的蛋白质晶体结构和化合物结构文件,利用 CB-Dock 网络平台对靶点与化合物进行对接。

## 2 结果

### 2.1 GC-MS 检测及结果

根据“1.3.1.2”方法对藏麻黄根、茎的挥发油进行分析,共检出 146 个化合物(见图 1、图 2)。根据 NIST14 匹配度和 RI 指数,推测了 67 个化合物(见表 1),其中茎的挥发油中含有 40 个化合物,占藏麻黄茎总挥发性成分的 67.91%。根挥发油中共推测了 38 个化合物,占藏麻黄根总挥发性成分的 61.43%。藏麻黄茎中挥发油主要化合物是 $2,3,5,6$ -四甲基吡嗪(10.92%)、Z-9-十五烯醇(9.15%)、二羟基苯乙酮(7.92%);藏麻黄根挥发油中主要化合物为亚油酸(7.81%)、红没药醇(7.1%)、Z-9-十五烯醇(5.98%)。根、茎共有挥发性成分有 12 个,分别为苯甲醛、 $\alpha$ -萜品醇、芳樟醇氧化物、 $2,3,5,6$ -四甲基吡嗪、香叶醇、百里香酚、 $\alpha$ -香柠檬烯、榄香醇、Z-9-十五烯醇、棕榈油酸、棕榈酸、亚油酸。

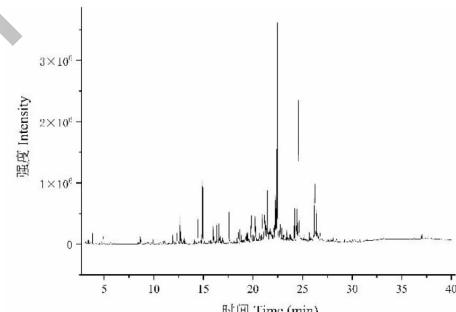


图 1 藏麻黄根挥发性成分总离子流图

Fig. 1 TIC of the volatile chemical compounds in *E. saxatilis* roots

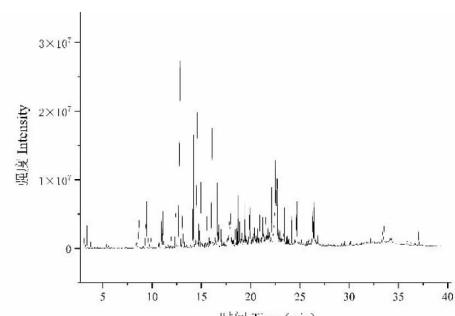


图 2 藏麻黄茎挥发性成分总离子流图

Fig. 2 TIC of the volatile chemical compounds in *E. saxatilis* stems

表 1 藏麻黄根、茎挥发性化学成分

Table 1 The volatile chemical constituents in roots and stems of *E. saxatilis*

| MOLID     | 化合物名称<br>Compound name                      | 分子式<br>Molecular formula                       | 保留指数<br>RI | CAS        | 百分含量<br>Percentage content(%) |           |
|-----------|---|--|------------|------------|-------------------------------|-----------|
|           |   |  |            |            | 茎<br>Stem                     | 根<br>Root |
| -         | 苯乙烯 Styrene                                 | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>                  | 893        | 100-42-5   | -                             | 0.12      |
| MOL004714 | α-小茴香烯 α-Fenchene                           | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                | 951        | 471-84-1   | 0.27                          | -         |
| MOL000708 | 苯甲醛 Benzaldehyde *                          | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O                | 961        | 100-52-7   | 1.42                          | 0.68      |
| -         | 白柠檬环 2,2,6-Trimethyl-6-vinyltetrahydropyran | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 972        | 7392-19-0  | 0.12                          | -         |
| -         | 2-甲基-1-辛烯-3-炔 2-Methyl-1-octen-3-yne        | C <sub>9</sub> H <sub>14</sub>                 | 981        | 17603-76-8 | 2.26                          | -         |
| MOL000668 | 2-正戊基呋喃 2-n-Pentylfuran                     | C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O               | 996        | 3777-69-3  | -                             | 0.3       |
| MOL000712 | 邻异丙基甲苯 o-Isopropyltoluene                   | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>                | 1 021      | 527-84-4   | -                             | 0.16      |
| -         | 4-侧柏醇 4-Thujanol                            | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 1 067      | 15537-55-0 | 0.74                          | -         |
| MOL012155 | 氧化芳樟醇物 Linalool oxide *                     | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> | 1 076      | 34995-77-2 | 1.91                          | 0.53      |
| MOL002202 | 2,3,5,6-四甲基吡嗪 Tetramethylpyrazine *         | C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>  | 1 087      | 1124-11-4  | 10.92                         | 2.52      |
| MOL001604 | 芳樟醇 Linalool                                | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 1 104      | 78-70-6    | 0.93                          | -         |
| -         | 3,6-壬二烯-1-醇 3,6-Nonadien-1-ol               | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O               | 1 156      | 56805-23-3 | 0.93                          | -         |
| -         | 对甲氧苯乙烯 p-Methoxystyrene                     | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O               | 1 157      | 637-69-4   | 1.41                          | -         |
| -         | 2-溴苯丙酮 2-Bromo-1-phenyl-1-propanone         | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> BrO              | 1 160      | 2114-00-3  | -                             | 0.89      |
| -         | 二羟基苯乙酮 2,2-Dihydroxy-1-phenylethanone       | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   | 1 163      | 1075-06-5  | 7.98                          | -         |
| MOL000118 | α-松油醇 α-Terpineol                           | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 1 187      | 10482-56-1 | 1.67                          | -         |
| MOL000719 | 水杨酸甲酯 Methyl salicylate                     | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   | 1 197      | 119-36-8   | -                             | 2.12      |
| MOL004483 | p-木焦油醇 p-Cresol                             | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>  | 1 198      | 93-51-6    | -                             | 3.16      |
| MOL000232 | α-萜品醇 α-Terpineol *                         | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>                | 1 200      | 98-55-5    | 3.64                          | 0.52      |
| MOL000267 | 香茅醇 Citronellol                             | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O              | 1 245      | 106-22-9   | 0.77                          | -         |
| MOL011089 | 3,4-二甲氧基甲苯 3,4-Dimethoxytoluene             | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>  | 1 247      | 494-99-5   | -                             | 0.09      |
| MOL000123 | 香叶醇 Geranol *                               | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 1 258      | 106-24-1   | 4.19                          | 0.99      |
| MOL012880 | 异蒲勒醇 Isopulegol                             | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 1 260      | 7786-67-6  | 0.36                          | -         |
| -         | 新异豆蔻醇 Neoisopulegol                         | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 1 267      | 29141-10-4 | 0.12                          | -         |
| MOL002042 | 百里香酚 Thymol *                               | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O              | 1 297      | 89-83-8    | 1.55                          | 1.06      |
| MOL000254 | 丁子香酚 Eugenol                                | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> | 1 359      | 97-53-0    | -                             | 1.07      |
| MOL001640 | 癸酸 Decanoic acid                            | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> | 1 377      | 334-48-5   | 0.16                          | -         |
| -         | 1,2,3-三甲基-1H-茚 1,2,3-Trimethylindene        | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub>                | 1 394      | 4773-83-5  | -                             | 0.13      |
| -         | α-香柠檬烯 α-Bergamotene *                      | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 1 415      | 18252-46-5 | 1.59                          | 0.42      |
| -         | 1,3-二甲基萘 1,3-Dimethyl-naphthalene           | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub>                | 1 421      | 575-41-7   | 0.55                          | -         |
| -         | 香叶基丙酮 Geranylacetone                        | C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O              | 1 445      | 3879-26-3  | 0.42                          | -         |
| MOL004715 | α-雪松烯 α-Himachalene                         | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 1 449      | 3853-83-6  | -                             | 0.08      |
| -         | β-紫罗兰酮 β-Ionone                             | C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O              | 1 488      | 14901-07-6 | 1.01                          | -         |
| MOL006297 | β-愈创木烯 β-Guaiene                            | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 1 491      | 88-84-6    | -                             | 0.61      |
| -         | 荜澄茄醇 Cubebol                                | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 515      | 23445-02-5 | -                             | 0.51      |
| MOL000034 | 榄香醇 Elemol *                                | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 537      | 639-99-6   | 0.31                          | 0.43      |

续表1(Continued Tab. 1)

| MOLID      | 化合物名称<br>Compound name   | 分子式<br>Molecular formula                       | 保留指数<br>RI | CAS          | 百分含量<br>Percentage content (%) |           |
|------------|--|--|------------|--------------|--------------------------------|-----------|
|            |  |  |            |              | 茎<br>Stem                      | 根<br>Root |
| MOL003573  | α-卡拉可宁 α-Calacorene  | C <sub>15</sub> H <sub>20</sub>                | 1 542      | 21391-99-1   | -                              | 0.12      |
| MOL000615  | 杜松烯 Cadinene   | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                | 1 562      | 483-76-1     | -                              | 1.73      |
| MOL000305  | 月桂酸 Dodecanoic acid  | C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> | 1 580      | 143-07-7     | -                              | 1.96      |
| -          | 长叶醛 Longifolenaldehyde   | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O              | 1 597      | 19890-84-7   | 1.26                           | -         |
| -          | 顺式小茴香酚 D-Epi-1,10-cubenol  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 623      | 73365-77-2   | -                              | 0.85      |
| -          | 二氧化丁烯-1-氧化物 Diepicedrene-1-oxide   | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O              | 1 627      | 1000156-11-0 | -                              | 1.28      |
| -          | α-菖蒲醇 α-Acorenol   | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 636      | 1000374-18-0 | -                              | 2.55      |
| -          | γ-桉叶油醇 γ-Eudesmol  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 639      | 1209-71-8    | -                              | 1.18      |
| -          | α-桉叶油醇 α-Eudesmol  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 649      | 79254-46-9   | -                              | 3.41      |
| MOL000032  | β-桉叶醇 β-Eudesmol   | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 650      | 473-15-4     | 0.97                           | -         |
| -          | 5α-胆甾醇-3β-ol,2-亚甲基<br>2-Methylene-5α-cholestan-3β-ol   | C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O              | 1 657      | 22599-96-8   | -                              | 0.38      |
| -          | 1-氧杂螺[2.5]辛烷,5,5-二甲基-4-(3-甲基-1,3-<br>丁二烯基)-<br>1-Oxaspiro[2.5]octane,5,5-dimethyl-4-(3-methyl-<br>1,3-butadienyl)- | C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O              | 1 662      | 1000195-92-1 | -                              | 1.35      |
| -          | 肉豆蔻酸甲酯 Methyl myristoleate   | C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> | 1 666      | 56219-06-8   | 0.42                           | -         |
| -          | 1-庚曲康坦醇 1-Heptatriacanol   | C <sub>37</sub> H <sub>76</sub> O              | 1 670      | 105794-58-9  | 0.25                           | -         |
| MOL000252  | 反式法尼醇 trans-Farnesol   | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 675      | 4602-84-0    | 1.76                           | -         |
| -          | Z-9-十五烯醇 Z-9-Pentadecenol*   | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O              | 1 688      | 1000130-76-9 | 9.15                           | 5.98      |
| -          | 异龙胆酚 Isolongifolol   | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 695      | 1139-17-9    | 0.15                           | -         |
| -          | 4(15),5,10(14)-大根香叶三烯-1-醇<br>4(15),5,10(14)-Germacratrien-1-ol   | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O              | 1 699      | 81968-62-9   | 0.56                           | -         |
| -          | 红没药醇 Bisabolone  | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O              | 1 746      | 72441-71-5   | -                              | 7.1       |
| MOL001393  | 肉豆蔻酸 Tetradecanoic acid  | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> | 1 765      | 544-63-8     | -                              | 1.21      |
| MOL012766  | 1-萘甲醇 1-Naphthalenemethanol  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O              | 1 779      | 19078-37-6   | -                              | 0.68      |
| -          | 植酮 6,10,14-Trimethylpentadecan-2-one   | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O              | 1 849      | 502-69-2     | 0.8                            | -         |
| MOL000057  | 邻苯二甲酸酯 Diisobutyl phthalate  | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> | 1 860      | 84-69-5      | -                              | 0.46      |
| MOL001739  | 棕榈油酸 Palmitoleic acid*   | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> | 1 957      | 373-49-9     | 0.55                           | 1.64      |
| MOL000069  | 棕榈酸 Hexadecanoic acid*   | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> | 1 977      | 1957/10/3    | 3.01                           | 5.23      |
| -          | 油基醇 Z-9-Octadecen-1-ol   | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O              | 2 059      | 143-28-2     | -                              | 0.32      |
| -          | 乳化剂 Emulphor   | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> | 2 067      | 5353-25-3    | 0.13                           | -         |
| -          | 11,14-十八碳二烯酸甲酯<br>11,14-Octadecadienoic acid methyl ester  | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> | 2 069      | 56554-61-1   | 0.11                           | -         |
| MOL001745  | 11-十八碳烯酸甲酯<br>Methyl 11-Octadecenoate  | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> | 2 071      | 52380-33-3   | 0.27                           | -         |
| MOL000432  | 亚油酸 Octadecadienoic acid*  | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> | 2 145      | 60-33-3      | 2.78                           | 7.81      |
| MOL0057033 | 香叶基香叶醇 trans-Geranylgeraniol   | C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O              | 2 157      | 24034-73-9   | 0.51                           | -         |

注：“\*”表示藏麻黄根、茎共有成分；“-”表示未检出。

Note：“\*” indicates common chemical compounds in roots and stems of *E. saxatilis*; “-” means not be detected.

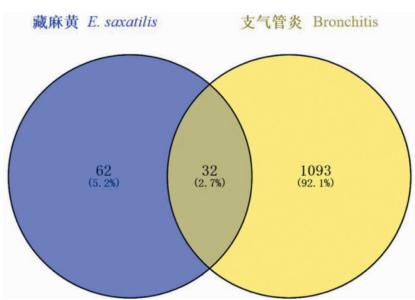


图3 化合物、疾病靶点交集韦恩图

Fig. 3 Venny diagram between chemical targets and disease targets

## 2.2 化合物潜在作用靶点与支气管炎相关靶点

藏麻黄根、茎的 67 个挥发性成分,命中 362 个靶点,去重后 34 个化合物命中 94 个靶点。通过对

94 个靶点与 GeneCards 数据库获得的 1 125 个支气管炎疾病靶点做韦恩交集处理,得到 32 个化合物与疾病的公共靶点(见图 3)。

## 2.3 靶标蛋白互相作用核心网络

上述 34 个化合物与支气管炎疾病的 32 个公共靶点导入 STRING 数据库进行 PPI 网络分析,获得化合物靶标蛋白互作核心网络数据。为了更直观表示蛋白互作核心网络关系,该数据用 Cytoscape 3.7.1 软件构建蛋白互作网络图(见图 4)。隐藏游离节点,该网络共有 30 个节点,178 条边。结果发现白细胞介素 6 (IL6)、肿瘤坏死因子 (TNF)、前列腺素内过氧化物合成酶 2 (PTGS2)、白细胞介素 8 (CXCL8) 这 4 个靶点可能是藏麻黄挥发性成分治疗支气管炎的关键靶点。

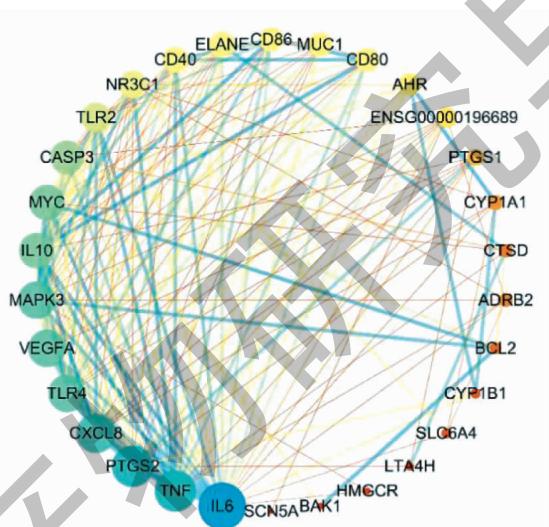


图4 化合物靶标蛋白互作核心网络

Fig. 4 Core network of compound target protein interaction

注:节点表示蛋白,每条边则表示蛋白与蛋白之间的相互作用关系。节点越大或条越粗表示关联度越大。颜色随着蛋白互作关联度的减小

呈现出由蓝色到黄色再到橙色的渐变过程。Note:Nodes represent proteins, and each edge represent the protein-protein interaction relationship. Larger nodes or thicker bars represent a greater degree of association. The color gradually changed from blue to yellow, to orange shows the decreases the protein-interaction association.

## 2.4 GO 分析和 KEGG 通路分析

用“1.3.2.4”方法对藏麻黄挥发性成分与支气管炎的 32 个交集靶点做 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集分析结果发现有 173 个生物过程 (BP)、19 个细胞组成 (CC)、29 个分子功能 (MF) 条目(见图 5)。结果上述 32 个靶点主要富集在脂多糖的响应、细菌源分子的响应、氧化应激反应、对毒性物质的反应及细胞对脂多糖的反应等生物过程;在细胞组成方面,主要富集在膜筏、膜微域、膜区域、浆膜外腔等;在分子功能方面体现在细胞因子受体结合、细

胞因子活性、热休克蛋白结合、蛋白酶结合等。

KEGG 富集分析结果得到 55 个通路,其中对前 20 条通路( $P < 0.05$ )进行可视化分析,结果(见图 6)显示藏麻黄挥发性成分的靶点主要富集在乙型肝炎、脂质和动脉粥样硬化、沙门氏菌感染、Toll 样受体信号通路等。IL6、TNF、PTGS2、CXCL8 蛋白共同参与了 Toll 样受体、阿米巴病、军团菌病、恰加斯病(美洲锥虫病)、百日咳、乙型肝炎、类风湿性关节炎、疟疾等信号通路。

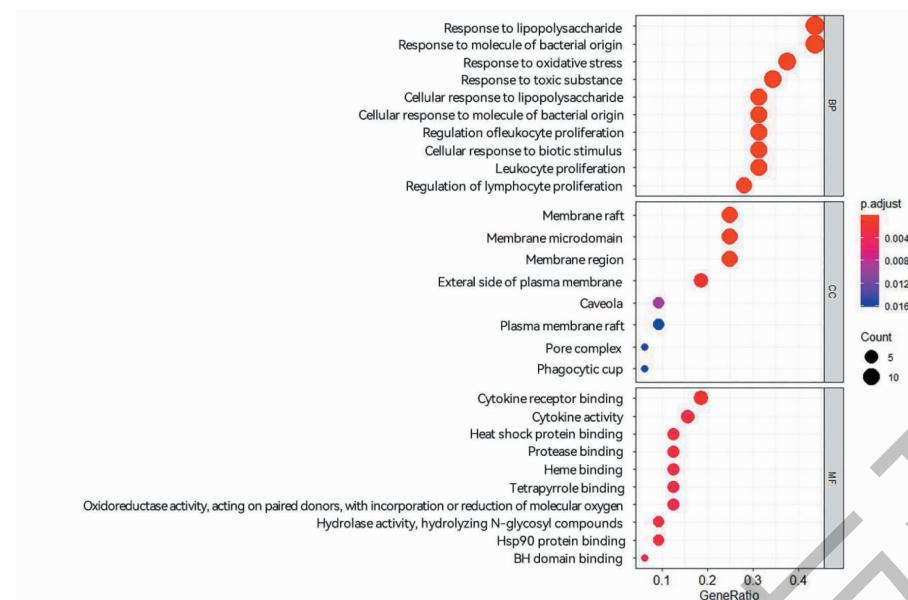


图 5 GO 功能富集分析

Fig. 5 GO functional enrichment analysis

注:圆点大小表示富集的基因数,圆点越大富集基因越多;颜色代表富集的显著程度,颜色越红富集越显著。下同。Note: The circular dot size indicates the number of enrichment genes. The circular dot size larger, the number of genes increase. The color indicates the significance of enrichment. The more significant enrichment, the color to be redder. The same below.

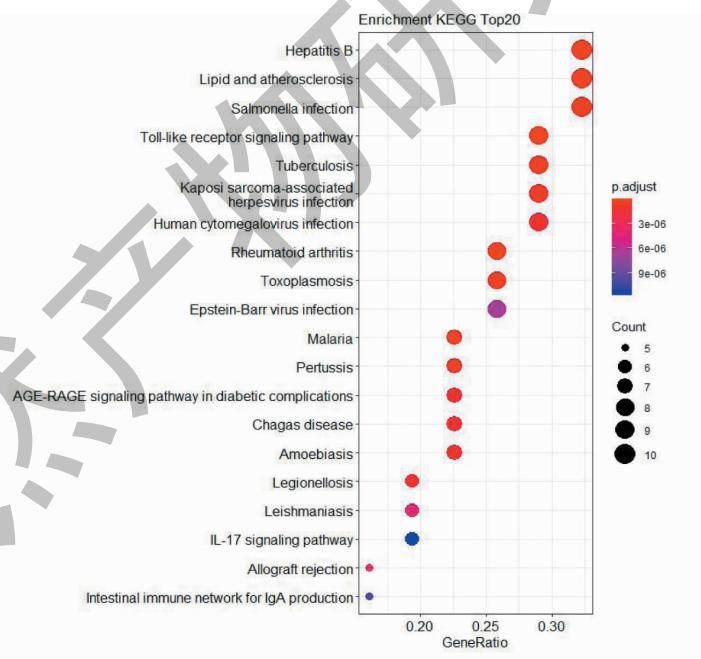


图 6 KEGG 前 20 个通路富集分析

Fig. 6 The top 20 of KEGG pathway enrichment analysis

## 2.5 化合物-靶点-通路网络

32 个公共靶点、KEGG 前 20 条通路 ( $P < 0.05$ ) 与对应公共靶点的 21 个化合物用 Cytoscape 软件进行“Network Analyze”分析,获得化合物-靶点-通路网

络关系图。发现共有 73 个节点,209 条边(见图 7)。藏麻黄根、茎挥发性成分中丁子香酚( $\text{degree} = 28$ )、月桂酸( $\text{degree} = 17$ )、反式法尼醇( $\text{degree} = 17$ )、 $\alpha$ -萜品醇( $\text{degree} = 13$ )、榄香醇( $\text{degree} = 12$ )、

棕榈酸(degree = 12)为作用于支气管炎疾病靶点的

主要有效成分。

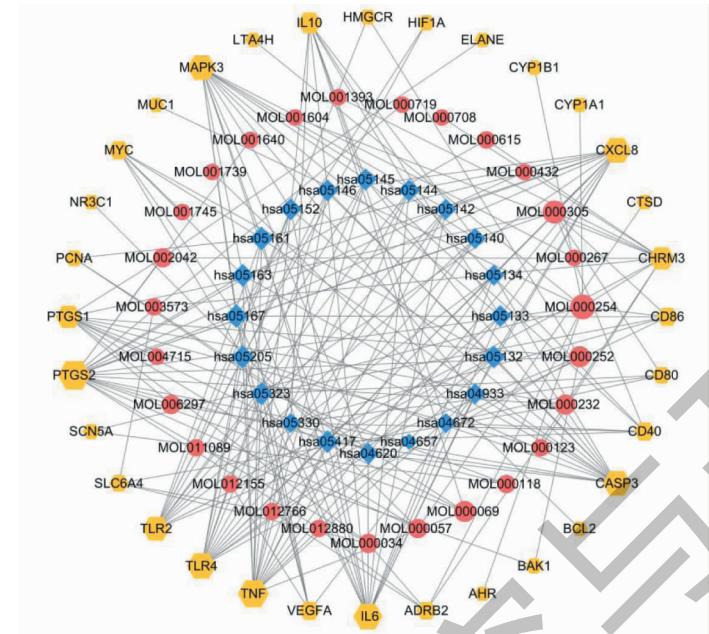


图 7 化合物、靶点和通路相互作用网络图

Fig. 7 The network of compounds interaction with targets and pathway

注:红色节点代表化合物,黄色节点代表靶点,蓝色节点代表作用通路。Note: The red color nodes represent compounds, the yellow nodes represent targets, and the blue nodes represent pathways.

## 2.6 分子对接分析

用“1.3.3 方法”将“2.3 分析结果”中的 4 个靶点蛋白和“2.5 分析结果”中的 6 个化合物进行分子对接。根据靶点与配体之间的结合能用 Vina 分值评价, 得分小于 0 说明蛋白和化合物可以结合, 得分越低靶点与配体之间结合越容易。对接结果(见表

2) 显示藏麻黄挥发性成分丁子香酚、月桂酸、反式法尼醇、 $\alpha$ -萜品醇、榄香醇、棕榈酸与 IL6、TNF、PTGS2、CXCL8 这 4 个靶点具有良好的结合作用。图 8 为对接效果较好的反式法尼醇、榄香醇、棕榈酸、丁子香酚与 PTGS2 之间的分子对接示例。

表 2 核心靶点与化合物的对接数值

Table 2 Docking values of core targets and compounds

| 蛋白<br>Protein | PDB ID | MOLID     | 维纳值<br>Vina score | 空腔大小<br>Cavity size | 中心 Center |     |     | 大小 Size |    |    |
|---------------|--------|-----------|-------------------|---------------------|-----------|-----|-----|---------|----|----|
|               |        |           |                   |                     | x         | y   | z   | x       | y  | z  |
| IL6           | 4eni   | MOL000254 | -5.5              | 1 259               | 100       | 2   | -31 | 28      | 18 | 35 |
|               | 4eni   | MOL000305 | -4.8              | 688                 | 98        | -42 | -13 | 23      | 23 | 30 |
|               | 4eni   | MOL000252 | -6.4              | 8 832               | 111       | -22 | -17 | 34      | 34 | 35 |
|               | 4eni   | MOL000069 | -5.6              | 688                 | 98        | -42 | -13 | 25      | 25 | 25 |
|               | 4eni   | MOL000232 | -5.8              | 8 832               | 111       | -22 | -17 | 34      | 34 | 35 |
|               | 4eni   | MOL000034 | -6.6              | 8 832               | 111       | -22 | -17 | 34      | 34 | 35 |
| TNF           | 2e7a   | MOL000254 | -5.6              | 1 023               | -1        | -7  | 3   | 18      | 18 | 18 |
|               | 2e7a   | MOL000305 | -5.6              | 391                 | 20        | -8  | 24  | 23      | 23 | 23 |
|               | 2e7a   | MOL000252 | -5.6              | 391                 | 20        | -8  | 24  | 23      | 23 | 23 |
|               | 2e7a   | MOL000069 | -5.1              | 1 023               | -1        | -7  | 3   | 25      | 25 | 25 |
|               | 2e7a   | MOL000232 | -5.4              | 1 023               | -1        | -7  | 3   | 17      | 17 | 17 |

续表2(Continued Tab. 2)

| 蛋白<br>Protein | PDB ID | MOLID     | 维纳值<br>Vina score | 空腔大小<br>Cavity size | 中心 Center |    |    | 大小 Size |    |    |
|---------------|--------|-----------|-------------------|---------------------|-----------|----|----|---------|----|----|
|               |        |           |                   |                     | x         | y  | z  | x       | y  | z  |
| PTGS2         | 2e7a   | MOL000034 | -6.2              | 1 023               | -1        | -7 | 3  | 19      | 19 | 19 |
|               | 5f19   | MOL000254 | -6.7              | 4 392               | 14        | 49 | 65 | 26      | 30 | 29 |
|               | 5f19   | MOL000305 | -6                | 4 392               | 14        | 49 | 65 | 23      | 30 | 29 |
|               | 5f19   | MOL000252 | -7.7              | 5 179               | 12        | 53 | 17 | 33      | 23 | 29 |
|               | 5f19   | MOL000069 | -6.9              | 5 179               | 12        | 53 | 17 | 33      | 25 | 25 |
|               | 5f19   | MOL000232 | -6.5              | 4 392               | 14        | 49 | 65 | 26      | 30 | 29 |
| CXCL8         | 3il8   | MOL000254 | -5.7              | 129                 | 3         | 24 | 14 | 18      | 18 | 18 |
|               | 3il8   | MOL000305 | -4.9              | 129                 | 3         | 24 | 14 | 23      | 23 | 23 |
|               | 3il8   | MOL000252 | -5.6              | 129                 | 3         | 24 | 14 | 23      | 23 | 23 |
|               | 3il8   | MOL000069 | -4.8              | 129                 | 3         | 24 | 14 | 25      | 25 | 25 |
|               | 3il8   | MOL000232 | -5.1              | 129                 | 3         | 24 | 14 | 17      | 17 | 17 |
|               | 3il8   | MOL000034 | -5.9              | 129                 | 3         | 24 | 14 | 19      | 19 | 19 |

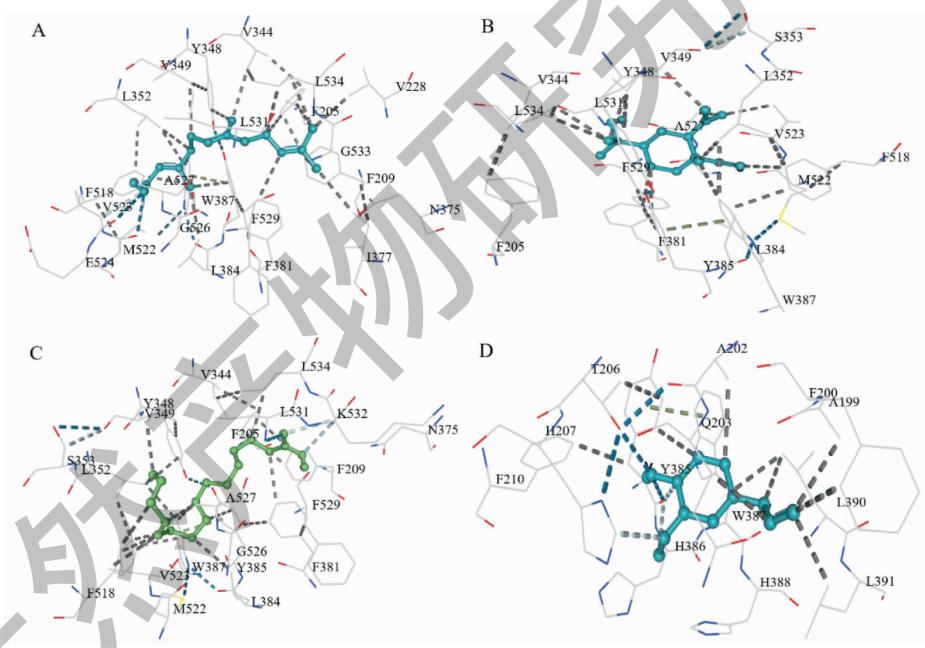


图8 反式法尼醇(A)、榄香醇(B)、棕榈酸(C)、丁子香酚(D)与PTGS2的分子对接图

Fig. 8 The structure of trans-farnesol (A), elemol (B), hexadecanoic acid (C) and eugenol (D) docking to PTGS2

### 3 讨论与结论

本研究发现了藏麻黄茎中挥发性主要成分与中麻黄和木贼麻黄中已报道的挥发性主要成分不同。2,3,5,6-四甲基吡嗪为藏麻黄与草麻黄共有的挥发性主要成分。除了麻黄碱及伪麻黄碱以外,2,3,5,6-四甲基吡嗪亦是麻黄的主要活性成分,在食品香料添加剂中应用较广。藏麻黄茎的其他两个主要成

分为Z-9-十五烯醇(9.15%)和二羟基苯乙酮(7.92%)。Z-9-十五烯醇被报道为白花前胡(*Peucedanum praeruptorum*)茎挥发性主要成分,其挥发油具有对大肠杆菌、伤寒沙门氏菌和福氏志贺氏菌有抑菌活性<sup>[10]</sup>,但是Z-9-十五烯醇物质是否具有活性未报道。二羟基苯乙酮对慢性阻塞性肺疾病患者有降低平均肺动脉压作用<sup>[11]</sup>,但对支气管炎作用方面

未报道。藏麻黄根挥发性主要成分为亚油酸(7.81%)、红没药醇(7.1%)、Z-9-十五烯醇(5.98%)。亚油酸为不饱和脂肪酸,有降低血脂、软化血管的作用。红没药醇是西藏扁芒菊(*Waldheimia glabra*)、刺蕊草属植物(*Pogostemon speciosus*)、巴西菊属植物(*Eremanthus erythropappus*)和母菊(*Matricaria chamomilla*)等植物中含有的主要成分,有抗炎、抗癌、抗菌和抗氧化等活性<sup>[12]</sup>。藏麻黄根、茎共有挥发性成分中棕榈油酸、棕榈酸、亚油酸都属于不饱和脂肪酸,有重要的营养价值和经济价值。 $\alpha$ -萜品醇、芳樟醇氧化物、 $\alpha$ -香柠檬烯、百里香酚、榄香醇也是植物挥发油中常见的成分,有抑菌、抗炎和抗氧化等多个活性。综合以上,说明藏麻黄根茎挥发油在食品、药物开发等具有应用前景。

支气管炎多为散发性疾病,流行倾向较小,发病时间多为寒冷季节或气候突变之时,年老体弱者易发。临床验证<sup>[13]</sup>表明麻黄治疗急性支气管炎、小儿毛细支气管炎效果显著。支气管炎是炎症反应机制的疾病,本研究筛选出 IL6、TNF、PTGS2、CXCL8 等 4 个核心靶蛋白,可能在藏麻黄挥发性成分治疗支气管炎的过程中起重要作用。IL-6 是一种具有多种生物活性的趋化因子,可刺激多种疾病的炎症和自身免疫过程,具有激活和调节免疫细胞等生理特性,通过参与淋巴细胞和单核细胞的分化,促进 B 细胞的成熟,分泌 IgG、IgE、IgA 等细胞因子,从而参与多种炎症反应及疾病的发生发展过程<sup>[14]</sup>,是治疗感染、炎症、自身免疫和癌症的药物靶标。TNF 是一种涉及系统性炎症的细胞因子,同时也是属于引起急性反应的众多细胞因子中的一员,主要由巨噬细胞分泌,可诱发某些肿瘤细胞系的细胞死亡。TNF- $\alpha$  可以激活中性粒细胞和巨噬细胞,以增加其细胞毒性作用,释放更多 IL-6、IL-8 等细胞炎性因子,进而加快炎症反应进程<sup>[15]</sup>。PTGS2 负责产生炎性前列腺素,是诱导生物活性的脂类调节物,在炎症介质的刺激下,其水平显著升高,且哮喘患者支气管肺泡灌洗液中的 PTGS2 含量较多,表明 PTGS2 与哮喘的炎症相关<sup>[16]</sup>。CXCL8 是巨噬细胞和上皮细胞等分泌的细胞因子,能吸引中性粒细胞、嗜碱细胞和 T 细胞,还参与中性粒细胞的激活。它可从几种类型的细胞中释放出来,以应对炎症的刺激,其主要生物活性是吸引和激活中性粒细胞,中性粒细胞与 CXCL8 接触后发生形态变化,定向游走到反应部位并释放一系列活性产物,这些作用可导致机体局部的炎症反应,

达到杀菌和细胞损伤的目的。此外 CXCL8 对嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和淋巴细胞也有一定作用。

本研究发现了藏麻黄 34 个挥发性成分作用于支气管炎 32 个靶点。这些靶点中包括了茎的主要成分 2,3,5,6-四甲基吡嗪,根的主要成分亚油酸和根茎共有的成分苯甲醛、 $\alpha$ -萜品醇、芳樟醇氧化物、2,3,5,6-四甲基吡嗪、香叶醇、百里香酚、榄香醇。与 IL6、TNF、PTGS2、CXCL8 具有良好结合作用的靶点有丁子香酚、月桂酸、反式法尼醇、 $\alpha$ -萜品醇、榄香醇和棕榈酸。其中丁子香酚和月桂酸是根的成分,反式法尼醇是茎的成分, $\alpha$ -萜品醇、榄香醇和棕榈酸是根茎共有的成分。由此可见,藏麻黄根和茎挥发油都对治疗支气管炎可能有作用。丁子香酚被认为是植物源农药,具有杀菌作用。月桂酸有提高抗炎因子 IL-10、降低促炎因子 IL-6 表达的作用,在一定程度上可以缓解机体的炎症反应<sup>[17]</sup>。法尼醇有抑制变形链球菌(*Streptococcus mutans*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)和放线菌(*Actinomyces naeslundii*)的作用,高浓度法尼醇抑制小鼠白念感染中 IL-17 的表达。 $\alpha$ -萜品醇存在于植物挥发油中,有抑菌、抗氧化和抗炎作用,其酯类化合物有驱虫作用。上述 3 个物质都有抑制炎症因子的作用,但是棕榈酸被报道有促炎作用<sup>[18]</sup>。丁子香酚和榄香醇都是植物精油中常见的物质,与精油中的其他成分一起被报道其抑菌效果显著<sup>[19]</sup>。由此表明月桂酸、反式法尼醇、 $\alpha$ -萜品醇、丁子香酚和榄香醇可能通过抑菌作用参与炎症反应。GO 富集结果也显示上述化合物的靶点显著富集在细菌源分子的响应过程。四个靶标分子共同富集在 Toll 样受体信号通路中。Toll 样受体属于固有免疫病原模式识别受体,可识别入侵病原微生物,在炎症、免疫细胞调控等方面起关键作用。由此表明藏麻黄根茎挥发油中丁子香酚、月桂酸、反式法尼醇、 $\alpha$ -萜品醇、榄香醇可能通过抑制 TNF、IL-17、Toll 样受体等炎症与免疫信号通路中 IL6、TNF、PTGS2、CXCL8 的表达,抑制炎症与病原微生物免疫反应,从而起到治疗支气管炎的作用。而棕榈酸引起促炎因子的分泌,导致机体的炎症反应。

本研究基于网络药理学及分子对接的方法以藏麻黄根、茎挥发性成分为研究对象,综合分析其干预支气管炎的生物学途径及通路,并用反向分子对接进行验证,得出活性成分干预支气管炎主要呈现多分子、多靶点、多通路的特点,且各挥发性成分间存

在协同效应。研究结果为藏麻黄的实验研究和临床应用提供参考,但本研究结果仅是通过理论推测藏麻黄挥发性成分与支气管炎作用的机制,还需再进行药理实验才能进一步验证。

## 参考文献

- 1 Zhong NS. Respiratory Disease (呼吸病学) [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2012:64.
- 2 Cheng Y, Qiu ZX, Li WM, et al. Research progress on the pathogenesis of chronic bronchitis[J]. West China Med J(华西医学), 2017, 32:606-611.
- 3 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 333-334.
- 4 Ni QH, Li CH, Yang JJ, et al. A network-based pharmacological study on the key components and synergistic mechanism of ephedra-cinnamomycin in the treatment of bronchitis [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2021, 43(1):246-254.
- 5 Luo DS. Jingzhu Materia Medica(晶珠本草) [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Publishing House, 2004:143-144.
- 6 Luo DS. Chinese Tibetan Materia Medica (中华藏本草) [M]. Beijing: Nationalities Publishing House, 1997:33-34.
- 7 Xu AX, Ge B, Song PS, et al. Chemical constituents of essential oils of Herba Ephedrae from Gansu [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2006, 26:804-807.
- 8 Wang YH, Wang QH, Xiang YG, et al. GC-MS analysis of volatile oil from *Ephedra sinica* in Datong, Shanxi province [J]. Acta Chin Med Pharm(中医药学报), 2011, 39(6): 58-60.
- 9 Ji L, Xu ZL, Pan JG, et al. GC-MS analysis of constituent of essential oils from stems of *Ephedra sinica* Stapf, *Ephedra intermedia* Schrenk et C. A. Mey. and *Ephedra equisetina* Bge [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1997, 22(8):42-65.
- 10 Chen BH, Wang MZ, Liu JQ. Chemical constituents of the volatile oil from the roots of *Peucedanum praeruptorum* and its antibacterial activities[J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2002, 10:366-370.
- 11 Lin CL, Zhang ZX, Xu YJ. Effects of dihydroxyacetophenone on pulmonary hemodynamics and plasma ANP as well as cAMP/cGMP level in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国结合医学杂志), 1995, 15(3):131-133.
- 12 Ji D, Yan L, Ling L, et al. Essential oil composition and bioactivities of *Waldeheimia glabra* (Asteraceae) from Qinghai-Tibet Plateau[J]. Molecules, 2017, 22(3):460.
- 13 Wu YL. Effective observation on treating pediatric bronchiolitis with the Shegan Mahuang decoction[J]. Clin J Chin Med (中医临床研究), 2018, 10(2):32-33.
- 14 Lan Y, Zhang KF, Lian YY, et al. Study on the protective effect of bergenin on acute liver injury in rats based on IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2021, 33:1445-1451.
- 15 Zhao JR, Zhang XQ. Progress in application of TNF- $\alpha$  inhibitors in immune checkpoint therapy[J]. Canc Res Prev Treat (肿瘤防治研究), 2021, 48:414-417.
- 16 Zhang Z. MiR-124-3p suppresses prostatic carcinoma by targeting PTGS2 through the AKT/NF- $\kappa$ B pathway [J]. Mol Biotechnol, 2021, 63:621-630.
- 17 Wu L, Zhang HF, Ding J, et al. Extraction of lauric acid from badger oil used in monk's medicine for moisturizing therapy and network pharmacology study of anti-inflammatory effect [J]. J Med Pharm Chin Minorities(中国民族医药杂志), 2020, 26(3):27-31.
- 18 Li LZ. Palmitic acid and  $\beta$ -hydroxybutyrate induce inflammatory responses in bovine endometrial cells by activating oxidative stress-mediated NF- $\kappa$ B signaling[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University(沈阳农业大学), 2019.
- 19 Weli AM, Al-Omar WI, Al-Sabahi JN, et al. Biomarker profiling of essential oil and its antibacterial and cytotoxic activities of *Cleome austroarabica* [J]. Adv Biomark Sci Tech, 2021, 3:1-7.