

# 基于谱效关系的茴香根皮抗肝纤维化有效成分筛选及其机制探讨

王百才<sup>1</sup>, 赵耀<sup>1</sup>, 耿若愚<sup>1</sup>,  
马冲<sup>1</sup>, 刘天华<sup>1</sup>, 胡君萍<sup>1,\*</sup>, 杨建华<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830017; <sup>2</sup>新疆医科大学第一附属医院, 乌鲁木齐 830011

**摘要:**为探讨茴香根皮治疗肝纤维化的化学成分, 揭示其药效物质基础和作用机制。本研究应用 UPLC-Orbitrap-MS/MS 技术定性鉴别茴香根皮 95% 乙醇提取物、石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位的化学成分, 根据质谱裂解规律和对照品验证及文献检索推断鉴定了各组分的 58 个共有化合物; 采用 MTT 法检测各组分对 HSC-T6 细胞增殖的影响, 谱效关系筛选抗肝纤维化潜在活性化合物, 结果显示茴香根皮抗肝纤维化贡献较大的成分是二氢辣椒碱、去氢骆驼蓬碱、异莨菪亭; 体外实验验证单体化合物抗肝纤维化活性及机制, 结果表明二氢辣椒碱、去氢骆驼蓬碱和异莨菪亭对活化的 HSC-T6 具有较好的抑制作用 ( $P < 0.01, P < 0.001$ ), 均可以抑制  $\alpha$ -SMA 的表达 ( $P < 0.01, P < 0.001$ ); 二氢辣椒碱和去氢骆驼蓬碱具有较强的促凋亡作用, 可以下调 Bax/Bcl-2 和 Caspase3 的相对表达量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。表明茴香根皮抗肝纤维化的药效物质可能为二氢辣椒碱、去氢骆驼蓬碱和异莨菪亭、东莨菪内酯、7-羟基香豆素等, 其机制可能是通过抑制肝星状细胞活化、调节 Bax/Bcl-2 的表达发挥作用, 体现了茴香根皮多成分多靶点抗肝纤维化的作用特点。

**关键词:**茴香根皮; 肝纤维化; 肝星状细胞; 灰色关联度; 谱效关系

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)3-0400-15

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.3.004

## Screening on the effective components of *Foeniculum vulgare* Mill. cortex against liver fibrosis and its mechanism based on spectrum-effect relationship

WANG Bai-cai<sup>1</sup>, ZHAO Yao<sup>1</sup>, GENG Ruo-yu<sup>1</sup>,  
MA Chong<sup>1</sup>, LIU Tian-hua<sup>1</sup>, HU Jun-ping<sup>1,\*</sup>, YANG Jian-hua<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China;

<sup>2</sup>The First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

**Abstract:** In order to explore the chemical constituents of *Foeniculum vulgare* Mill. cortex in the treatment of liver fibrosis, and to reveal its pharmacodynamic material basis and mechanism of action. In this study, UPLC-Orbitrap-MS/MS technology was used to qualitatively identify the chemical constituents of the ethanol extract, petroleum ether fraction, ethyl acetate fraction, n-butanol fraction and water fraction of the *F. vulgare* cortex. According to the mass spectrometry fragmentation rule, reference substance verification and literature search, 58 common compounds of each component were speculated and identified. MTT assay was used to detect the effect of each component on the proliferation of HSC-T6 cells, and the potential active compounds against liver fibrosis were screened by spectrum-effect relationship. The results of spectrum-effect relationship showed that dihydrocapsaicin, harmine and isoscopoletin contributed more to the anti-hepatic fibrosis of *F. vulgare* cortex. The anti-hepatic fibrosis activity and mechanism of monomeric compounds were verified in vitro. The results showed that dihydrocapsaicin, harmine and isoscopoletin had a good inhibitory effect on activated HSC-T6 ( $P < 0.01, 0.001$ ), and could inhibit the expression of  $\alpha$ -SMA ( $P < 0.01, 0.001$ ). Dihydrocapsaicin and harmine had strong pro-apoptotic effects and could down-regu-

late the relative expression of Bax/Bcl-2 and Caspase3 ( $P < 0.05, 0.01$ ). It is indicated that the pharmacodynamic substances of *F. vulgare* cortex against liver fibrosis may be dihydrocapsaicin, harmine, isoscopoletin, scopoletin, 7-hydroxycoumarin, etc. The mechanism may be to inhibit the activation of hepatic stellate cells and regulate the expression of Bax/Bcl-2, which reflects the multi-component and multi-target anti-liver fibrosis characteristics of *F. vulgare* cortex.

**Key words:** *Foeniculum vulgare* Mill. cortex; liver fibrosis; hepatic stellate cells; grey correlation degree; spectrum-effect relationship

肝纤维化是诱发肝硬化甚至肝癌的主要原因,约90%的肝癌是在肝纤维化或肝硬化的基础上发展而来,因此肝纤维化的治疗尤为重要<sup>[1]</sup>。肝纤维化在临床发病率逐年增加,严重危害了人们的生命安全。肝纤维化的主要原因包括慢性肝炎病毒感染、酗酒和非酒精性脂肪性肝炎<sup>[2]</sup>。肝纤维化的特征是细胞外基质的过度积聚,这是由细胞外基质的合成和沉积增加以及细胞外基质降解减少或不平衡引起的<sup>[3]</sup>。肝星状细胞激活被认为是肝纤维化的关键环节,它是肝脏中细胞外基质蛋白过量累积的主要原因<sup>[4,5]</sup>。

茴香根皮是伞形科植物茴香 *Foeniculum vulgare* Mill. 的干燥根皮,收录在部颁标准维吾尔药分册中,用于治疗湿寒性或黏液质性疾病,如湿寒性各种炎肿,两胁寒痛,腰背酸痛,闭经、闭尿、陈旧性肠梗阻等<sup>[6]</sup>。护肝布祖热颗粒是民族医药保肝经典方,由芹菜子、芹菜根、菊苣子、菟丝子、菊苣根、茴香根皮、小茴香组成,具有补肝利胆等功效。课题组前期研究发现护肝布祖热颗粒可以保护 CCl<sub>4</sub> 诱导的大鼠肝纤维化<sup>[7]</sup>。麦迪乃·赛福丁等发现民族药茴香根皮具有一定程度的促进肝组织修复并保护肝细胞膜的作用<sup>[8]</sup>。因此,茴香根皮可能具有抗肝纤维化作用。

药物谱效关系研究是将化学成分与药效研究相结合对有效化学成分进行分析的方法,是在图谱研究的基础上,最大限度地获取有用的化学信息,将谱图与药效结果联系起来,通过线性或非线性数学处理,建立“谱-效”数学模型,从而确定出与药效相关的化合物群<sup>[9]</sup>。通过对已知成分和未知成分的分析,能最大程度地反映中药复杂混合体系中所含化学成分的种类和含量,进而对中药质量进行整体描述和评价<sup>[10]</sup>。故本研究采用超高效液相色谱-质谱联用对维药茴香根皮化学成分进行了研究,结合茴香根皮乙醇提取部位、石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水萃余部位对 HSC-T6 细胞增殖的影响联合 UPLC-Orbitrap-MS/MS 借助偏最小二乘法及

灰色关联分析对茴香根皮化学成分进行筛选,并经体外实验验证茴香根皮有效成分抗肝纤维化的作用及其机制,为民族医药的研究和开发利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

茴香根皮药材(批号: HXGP-YP-210115)购自安萨尔维吾尔药业有限公司,经新疆医科大学胡君萍教授鉴定为伞形科植物茴香 *Foeniculum vulgare* Mill. 的干燥根皮。

DMEM 高糖培养基(批号 2116111,以色列 BI 公司);PBS 缓冲盐溶液(批号 2141302,以色列 BI 公司);胎牛血清(批号 2120140,以色列 BI 公司);FITC 偶联 Annexin-V 凋亡检测盒(批号 1026022,美国 BD 公司);0.25% 胰酶细胞消化液(批号 21089531,北京 Labgic Technology 公司);MTT 试剂(批号 EZ7890B104,德国 Biofroxx 公司);DMSO(批号 EZ6789C150,德国 Biofroxx 公司);Hochest33258 染色液(批号 20210709,武汉 Proteintech 公司);大鼠Ⅳ型胶原(IV-C,批号: 202305)、大鼠透明质酸(HA,批号: 202305)、大鼠层粘连蛋白(LN,批号: 202305)、大鼠Ⅲ型前胶原(PCⅢ,批号: 202305)ELISA 试剂盒(上海优选生物科技有限公司)。对照品去氢骆驼蓬碱(纯度≥98%,批号 H2303001)、二氢辣椒碱(纯度≥98%,批号 D2211001)、乙酰香兰素(纯度≥98%,批号 V2211001)、芹菜素(纯度≥98%,批号 Z30142203)、7-羟基香豆素(纯度≥98%,批号 H2211001)、对香豆酸(纯度≥98%,批号 H2107001)、异莨菪亭(纯度≥98%,批号 E2209001)(四川普西标物科技有限公司);香草醛(纯度≥98%,批号 20170520,天津市北联精细化学品开发有限公司)。

### 1.2 仪器

BDSR II 流式细胞仪(美国 BD 公司);TS2 倒置显微镜(日本 Nikon 公司);Multiskan GO 全波长酶标仪(美国 Thermo 公司)。

### 1.3 实验细胞

大鼠肝星状细胞 HSC-T6, 细胞株(批号 CLL-0116)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

### 1.4 茴香根皮浸膏的制备

称取茴香根皮 1 kg, 分别用 95% 乙醇回流提取 3 次(3,3,2 h), 料液比为 1:10, 过滤合并滤液, 浓缩乙醇提取物(ET), 乙醇提取物浸膏得率为 11.43%。乙醇提取物用水混悬, 依次使用石油醚, 乙酸乙酯, 正丁醇萃取, 合并萃取液蒸干溶剂, 分别得到石油醚部位(PP)、乙酸乙酯部位(PE)、正丁醇部位(PB)、水萃余部位(PW), 各部位浸膏得率分别为 12.02%、3.37%、4.33%、80.28%。

### 1.5 茴香根皮 UPLC-Orbitrap-MS/MS 图谱的检测

#### 1.5.1 对照品溶液的制备

精密称取去氢骆驼蓬碱、二氢辣椒碱、乙酰香兰素、芹菜素、7-羟基香豆素、对香豆酸、异莨菪亭、香草醛对照品适量, 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释并定容得到质量浓度为 500 ng/mL 的对照品溶液。

#### 1.5.2 UPLC-Orbitrap-MS/MS 供试品溶液制备

分别取茴香根皮醇提物和萃取物浸膏 100 mg 加入 500 μL 甲醇, 涡旋 30 s, 45 Hz 匀浆 4 min, 冰水浴超声 1 h, 后将样本在 4 °C, 12 000 r/min(离心力 13 800 × g, 半径 8.6 cm) 条件下离心 15 min, 小心地取上清液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

#### 1.5.3 色谱条件

色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>(1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm), 流动相为乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱 0~11 min, 15% A→75% A; 11~12 min, 75% A→98% A; 12~14 min, 98% A; 14~14.1 min, 98% A→15% A; 14.1~16 min, 15% A。柱温 30 °C, 流速为 0.5 mL/min, 进样量: 5 μL。

#### 1.5.4 质谱条件

采用电喷雾离子源(ESI), 正离子和负离子扫描模式。正离子模式下电喷雾电压为 4 000 V, 负离子模式下电喷雾电压为 -3 800 V, 采用 Orbitrap Exploris 120 质谱仪与 Xcalibur 软件结合, 基于 IDA 采集模式获取 MS 和 MS/MS 数据。扫描范围为 *m/z* 100~1 500, 筛选每个采集周期的前四个, 进一步获得相应的 MS/MS 数据, 护套气体流速 35 arb, 辅助气体流速 15 arb, 离子传输管温度 350 °C, 全 MS 分辨率为 60 000, MS/MS 分辨率为 15 000, NCE 模式碰撞能量: 16/32/48。

### 1.6 体外抗肝纤维化活性的测定

#### 1.6.1 细胞培养

将冻存的 HSC-T6 细胞株复苏, 用含 10% 胎牛血清的完全培养基重悬细胞, 接种于培养瓶中, 培养条件为 37 °C, 细胞培养箱内 CO<sub>2</sub> 浓度为 5%; 观察细胞形态、生长状态, 视情况进行换液或传代。

#### 1.6.2 MTT 法测定茴香根皮各部位抗肝纤维化活性

将浓度为 2 × 10<sup>4</sup> 个/mL 的细胞接种至 96 孔板中, 过夜贴壁生长后, 加入 1 μg/mL 的脂多糖 100 μL 干预 24 h, 之后加入含茴香根皮醇提物或不同萃取物的完全培养基, 使其终浓度为 200、400、600、800、1000 mg/mL, 每孔 200 μL。干预 48 h 后, 每孔加入 100 μL MTT 溶液, 放入培养箱孵育 4 h, 孵育完毕加入 150 μL DMSO 溶液, 490 nm 下检测 OD 值, 并计算细胞存活率。

### 1.7 茴香根皮抗肝纤维化谱效关系研究

#### 1.7.1 偏最小二乘法筛选活性成分

利用偏最小二乘法分别分析正负离子模式成分峰面积与 HSC-T6 细胞抑制率之间的关系, 细胞抑制率越高, 表明体外抗肝纤维化活性越好。将 MTT 法抑制率数据和正负离子模式检测到的成分峰面积数据输入到软件 SIMCA 14.1 中进行偏最小二乘法分析得到 VIP 值和相关系数。VIP 值越大, 说明该成分对药效的贡献越大, 相关系数大于零, 表明化学成分与抑制率正相关, 反之负相关<sup>[11,12]</sup>。

#### 1.7.2 灰色关联分析筛选活性成分

分别将正负离子模式茴香根皮化学成分峰面积和 MTT 抑制率数据导入在线网站 SPSSPRO (<https://www.spsspro.com/>) 进行灰色关联分析得到成分关联度和排名, 将成分关联度大于 0.7 的成分纳入筛选范围, 关联度越大评价结果越好<sup>[13]</sup>。

### 1.8 茴香根皮成分体外抗肝纤维化验证

#### 1.8.1 MTT 法测定单体化合物的抗肝纤维化活性

实验分组为正常组(control, Con)、模型组(model, Mod)、阳性药水飞蓟宾组(silybin, Sil)、去氢骆驼蓬碱组(harmine, Har)、二氢辣椒碱组(dihydrocapsaicin, Dih)、异莨菪亭组(isoscopoletin, Iso)等。给药组分别加入浓度为 25、50、100、200、400、800 μmol/L 的化合物干预 48 h, MTT 法检测 OD 值。

#### 1.8.2 划痕实验

先用马克笔在 6 孔板背面均匀的划出横线。待细胞生长至 70%~80% 时, 使用 200 μL 的灭菌枪头, 按照横线垂直划痕。使用 PBS 清洗 3 次, 洗去

划下的细胞,倒置显微镜下观察并拍照记录。之后分别加入浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$  的去氢骆驼蓬碱、二氢辣椒碱、异莨菪亭,24 h 后在倒置显微镜下观察并拍照记录,实验重复 3 次。

### 1.8.3 免疫荧光法检测 $\alpha$ -SMA 的表达

取 HSC-T6 细胞  $6 \times 10^3$  个/ $\text{mL}$  接种于 24 孔板中,培养过夜,加入 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  脂多糖 500  $\mu\text{L}$  干预 24 h。之后分别加入浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$  的去氢骆驼蓬碱、二氢辣椒碱、异莨菪亭,干预 48 h 后,无菌 PBS 清洗,固定液固定,使用 TritonX-100 室温通透,使用 5% 羊血清室温封闭,最后加入一抗工作液(1:100),4 °C 孵育,次日用无菌 PBS 清洗,滴加二抗工作液,避光孵育,清洗,封片,拍照。

### 1.8.4 Hoechst33258 染色检测细胞凋亡形态

给药方法同“1.8.3”,弃去孔板内含药培养基后,无菌 PBS 清洗,固定液固定 15 min,无菌 PBS 清洗,Hoechst33258 染色液染色,避光孵育 20 min,无菌 PBS 清洗,拍照。

### 1.8.5 JC-1 检测线粒体膜电位

给药方法同“1.8.3”,干预 48 h 后,弃去旧培养基,无菌 PBS 清洗,接着用 JC-1 染色工作液避光孵育 20 min,JC-1 染色缓冲液清洗,弃去洗液加入完全培养基,拍照。

### 1.8.6 Annexin V-FITC/PI 法检测细胞凋亡

将浓度为  $7 \times 10^4$  个/ $\text{mL}$  的肝星状细胞接种于 6 孔板中,培养过夜,加入 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  脂多糖 1 000  $\mu\text{L}$  干预 24 h,分别加入浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$  的去氢骆驼蓬碱、二氢辣椒碱、异莨菪亭干预 48 h 后,收集孔内培养基,无菌 PBS 清洗,收集 PBS 洗涤液,胰酶消化,无菌 PBS 清洗,100  $\mu\text{L}$  1  $\times$  Binding Buffer 重悬细

胞。空白组和各给药组分别加入 Annexin V-FITC 和 PI 染料,最后加 400  $\mu\text{L}$  1  $\times$  Binding Buffer,尼龙网过滤,上机检测。

### 1.8.7 ELISA 法检测上清 IV-C、HA、LN 和 PC III 的含量

给药方法同“1.8.3”,收集给药干预过后的细胞上清液 3 000 r/min 离心 10 min,用细胞上清按照试剂盒说明书进行后续步骤。

### 1.8.8 Western blot 检测 Bax、Bcl-2、Caspase3 蛋白的表达

采用 Western blot 法研究 Bax、Bcl-2、Caspase3 的蛋白表达水平。按试剂盒说明书提取细胞蛋白,BCA 蛋白定量,金属浴 15 min 使蛋白变性。取变性蛋白适量,选用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,加入奶粉孵育 2 h 洗涤后,加入一抗,4 °C 孵育过夜;TBST 洗涤后,加入对应二抗,室温孵育 1 h,显影。用 ImageJ 图像分析软件进行灰度值分析。

### 1.8.9 统计学方法

使用 SPSS 25.0 软件对实验数据进行统计,绘图使用 Graphpad prism 8 软件。组间比较采用 One-way ANOVA。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MTT 法测定各样品的抗肝纤维化活性

不同浓度(200、400、600、800、1 000 mg/L) ET、PP、PE、PB、PW 作用于 HSC-T6 细胞 48 h 的 MTT 结果显示:细胞存活率随药物浓度的升高显著降低(见图 1)。选用给药浓度为 0.8 mg/L 时的抑制率进行谱效关系研究,0.8 mg/L 时 ET、PP、PE、PB、PW 抑制率分别为 48.47%、11.38%、89.80%、51.13% 和 7.61%。

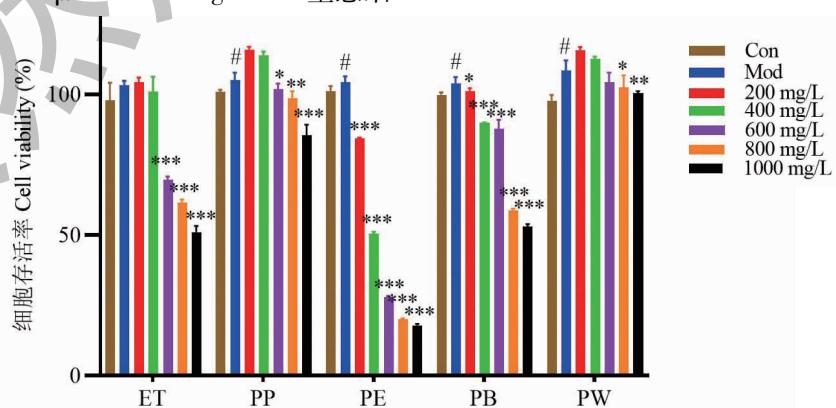


图 1 茴香根皮不同部位对 HSC-T6 增殖的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 1 Effects of different parts of *F. vulgare* cortex on the proliferation of HSC-T6 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

注:与 Mod 组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。Note: Compared with model, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

## 2.2 UPLC-Orbitrap-MS/MS 图谱的建立

通过 UPLC-Orbitrap-MS/MS 获得的茴香根皮不同部位总离子色谱图 (total ion chromatogram, TIC) (见图 2)。根据总离子流图中保留时间、一级质谱

提供的准分子离子峰及二级质谱提供的碎片离子信息与对照品比对，并与文献数据进行比较，共识别 58 个共有峰化合物<sup>[14,15]</sup>，结果见表 1。

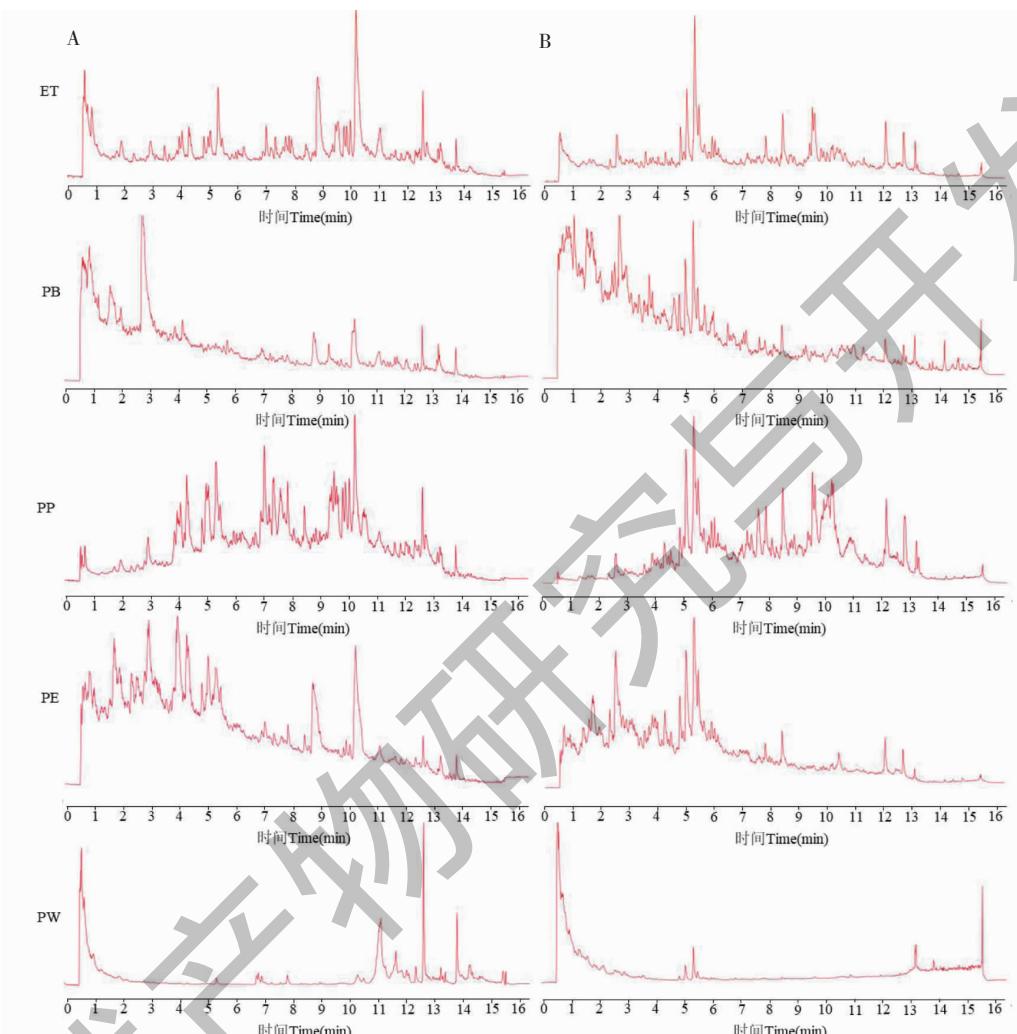


图 2 茴香根皮不同部位总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatograms of different parts of *F. vulgare* cortex

注：A：正离子模式；B：负离子模式。Note: A: Positive ion mode; B: Negative ion mode.

表 1 茴香根皮化合物不同部位峰面积

Table 1 Peak area of compounds from different parts of *F. vulgare* cortex

编号 No.	化合物 Compound	峰面积 Peak area (mAu · min)				
		乙醇部位 ET	石油醚部位 PP	乙酸乙酯部位 PE	正丁醇部位 PB	水部位 PW
X1	氧化白藜芦醇 Oxyresveratrol	3 053 218 691	11 110 371 941	4 202 990 546	5 730 577	44 257 375
X2	去氢骆驼蓬碱 Harmine *	3 039 218 567	636 571 290	7 042 931 951	0	89 946 900
X3	新川芎内酯 Neocnidilide	2 999 284 607	14 773 742 715	3 052 675 584	2 999 284 607	0
X4	骆驼蓬灵 Harmaline	2 171 396 845	2 267 306 166	3 258 009 785	93 601 369	103 121 812

续表1(Continued Tab. 1)

编号 No.	化合物 Compound	峰面积 Peak area (mAu · min)				
		乙醇部位 ET	石油醚部位 PP	乙酸乙酯部位 PE	正丁醇部位 PB	水部位 PW
X5	东莨菪内酯 Scopoletin *	2 163 856 499	1 870 345 920	28 548 365 490	937 562 401	59 866 015
X6	异补骨脂素 Isopsporalen	1 540 219 051	7 327 052 532	3 652 008 839	114 807 059	12 721 570
X7	8-甲氧基补骨脂素 Oxsoralen	1 510 055 248	7 396 091 245	2 789 968 139	246 591 613	17 661 506
X8	对甲氧基肉桂酸乙酯 Ethyl 4-methoxycinnamate	1 178 816 823	3 123 675 289	4 296 391 613	292 284 859	33 317 672
X9	异棕榈酸 Isopalmitic acid	735 624 493	1 273 686 420	628 869 207	78 169 547	0
X10	去甲氧基醉椒素 Demethoxyyangonin	612 598 172	2 645 397 244	881 143 208	101 198 653	7 949 421
X11	乙酰香兰素 Acetylvanillin *	528 392 070	961 417 897	4 098 769 647	91 786 666	0
X12	异莨菪亭 Isoscopoletin *	510 418 642	467 576 692	5 614 705 015	349 862 929	20 045 988
X13	龙胆酸 Gentisic acid	445 724 873	22 363 222	107 114 750	14 854 592	17 991 450
X14	3,4-二甲氧基-1,2-苯二甲酸 3,4-Dimethoxy-1,2-benzenedicarboxylic acid	411 058 548	692 548 148	3 205 072 258	153 771 185	7 742 470
X15	α-亚麻酸 α-Linolenic acid	399 525 660	1 254 641 166	353 062 999	46 008 431	22 421 150
X16	乙酰氧基丁香酚乙酸酯 Acetoxyeugenol acetate	379 644 547	5 350 726	2 517 557 785	0	5 926 169
X17	对羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoate	286 736 707	301 821 221	2 175 632 351	576 682 367	69 477 660
X18	7-羟基香豆素 7-Hydroxycoumarin *	282 943 235	239 708 357	2 543 322 354	144 462 122	0
X19	3,4,5-三甲氧基肉桂酸 3,4,5-Trimethoxycinnamic acid	270 045 078	89 063 442	1 056 853 238	18 416 645	0
X20	积血草酸 Asiatic acid	217 900 273	550 071 020	583 005 197	0	644 811
X21	7-去甲基软木花椒素 7-Demethylsuberosin	217 397 839	995 158 299	798 217 478	76 157 397	4 562 891
X22	二氢山芹醇 Columbianetin	159 061 481	225 958 811	207 097 603	0	1 248 473
X23	2-羟基苯乙酮 2-Hydroxyacetophenone	154 147 988	102 476 349	2 039 179 637	33 534 842	0
X24	野鸢尾黄素 Irigenin	142 800 515	155 895 462	353 035 939	28 264 984	10 218 226
X25	羟基苯甲醛 Hydroxybenzaldehyde	142 004 326	214 145 303	1 323 289 481	382 389 695	56 904 646
X26	日什亭醇 Rishitin	132 880 885	299 046 551	600 937 570	0	2 057 825
X27	4-羟基苯酞 4-Hydroxyphthalide	123 182 334	299 421 212	939 874 692	15 896 464	4 580 684
X28	3-羟基香豆素 3-Hydroxycoumarin	107 805 607	95 140 717	887 832 155	136 703 904	0
X29	7-甲氧基香豆素 7-Methoxycoumarin	99 544 767	75 324 294	1 081 629 983	45 150 827	32 576 582
X30	1,3-二咖啡酰奎宁酸 1,3-Dicaffeoylquinic acid	95 129 492	21 423 317	1 597 944 290	33 342 802	947 732
X31	假荆芥酸 Nepetalic acid	89 371 054	25 088 312	623 247 247	312 344 137	0
X32	6,7-二羟基香豆素 6,7-Dihydroxycoumarin	83 627 340	70 641 562	957 729 784	20 513 909	0
X33	棕榈酸 Palmitic acid	82 787 840	110 635 054	96 988 165	21 379 554	9 251 923
X34	茴香酸 Anisic acid	81 182 269	35 281 146	791 686 150	97 804 461	0
X35	3',5'-二甲氧基-4'-羟基苯乙酮 3',5'-Dimethoxy-4'-hydroxyacetophenone	67 268 000	69 823 306	430 434 906	0	0
X36	香豆素 Coumarin *	56 071 353	57 426 317	546 538 398	36 576 783	1 542 885
X37	芹菜素 Apigenin *	55 068 529	71 190 818	320 674 605	16 943 438	738 274
X38	槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸 Quercetin-3-O-glucuronide	54 249 370	19 723 440	353 583 010	165 552 302	4 056 648
X39	异阿魏酸 Isoferulic acid	49 076 848	41 976 084	297 775 726	44 873 407	0
X40	香草醛 Vanillin *	47 092 280	130 746 857	789 898 601	52 644 637	0
X41	大麦芽碱 Hordenine	46 292 567	118 433 138	584 076 715	381 331 149	0
X42	茴香酸乙酯 Ethyl p-anisate	45 811 073	327 145 025	297 815 635	28 535 882	20 090 680

续表 1(Continued Tab. 1)

编号 No.	化合物 Compound	峰面积 Peak area (mAu · min)				
		乙醇部位 ET	石油醚部位 PP	乙酸乙酯部位 PE	正丁醇部位 PB	水部位 PW
X43	咖啡酸 Caffeic acid *	40 413 852	57 147 346	817 001 830	17 798 049	0
X44	胡椒酸 Piperonylic acid	39 826 199	13 980 011	1 557 665 416	573 487 315	67 523 004
X45	茉莉酸 Jasmonic acid	37 063 825	188 327 674	101 098 853	5 765 032	0
X46	没食子酸 Gallic acid	31 959 539	4 846 379	768 612 506	105 999 757	0
X47	12-羟基茉莉酸 12-Hydroxyjasmonic acid	30 073 030	119 240 476	935 613 496	81 148 619	11 017 057
X48	迷迭香酸 Rosmarinic acid	28 664 509	8 223 136	489 824 439	0	655 544
X49	山奈酚 Kaempferol	24 809 317	50 801 324	123 427 916	13 907 723	0
X50	山奈素 Kaempferide	19 416 077	88 945 703	156 723 770	4 734 396	14 153 451
X51	鞣花酸 Ellagic acid	18 203 987	12 836 769	631 633 370	10 237 661	0
X52	二氢辣椒素 Dihydrocapsaicin *	17 423 395	7 379 489 931	21 568 279 218	1 224 228 654	289 472
X53	香草酸 Vanillic acid	16 309 288	28 867 711	100 090 180	9 417 427	4 154 354
X54	秦皮素 Fraxetin	10 323 175	8 537 238	296 168 733	19 036 270	0
X55	儿茶酸 Pyrocatechuic acid	9 840 067	13 483 972	445 669 715	30 234 645	0
X56	槲皮素 Quercetin	5 449 743	32 694 130	768 020 424	104 120 098	0
X57	槲皮素-3-O-半乳糖苷 Quercetin-3-O-galactoside	2 403 754	83 917 550	927 761 134	18 034 315	4 605 021
X58	香豆酰奎宁酸 Coumaroyl quinic acid	0	2 497 737	144 515 525	24 145 934	0

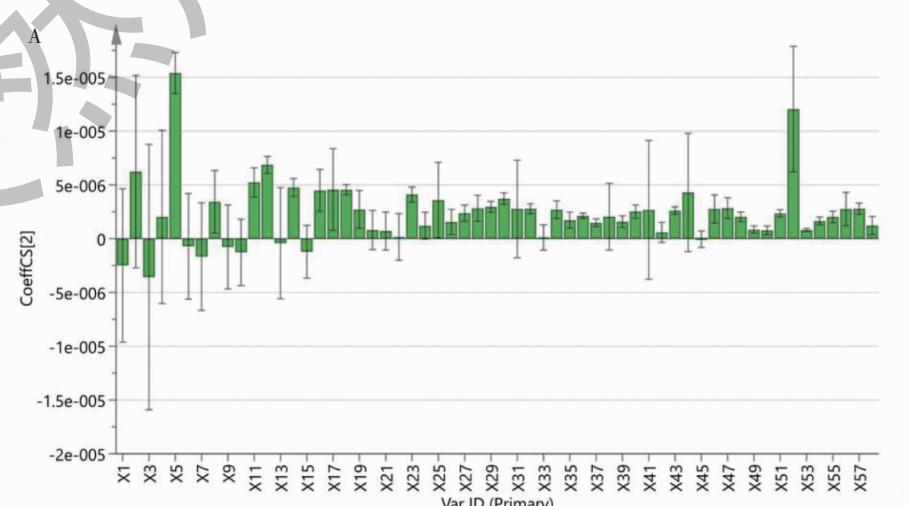
注: \* 经对照品比对鉴定。

Note : \* Identified by reference substance comparison.

### 2.3 偏最小二乘法和灰色关联分析结果

根据偏最小二乘回归分析原理,自变量投影重要性值(VIP)越大表示其对抑制率的解释能力越强。由分析结果(见图3)可知,共有11个成分VIP值大于1,且回归系数均大于0(见表2),说明11个成分与细胞抑制率呈正相关关系。这11个成分在

灰色关联度分析中关联度系数均>0.7,分别为二氢辣椒碱、去氢骆驼蓬碱、异莨菪亭、乙酰香兰素、3,4-二甲氧鄰苯二甲酸、对甲氧基肉桂酸乙酯、7-羟基香豆素、1'-乙酰氧丁香酚醋酸酯、4-羟基苯甲酸酯、2-羟基苯乙酮、1,3-二咖啡酰奎宁酸。



续图 3(Continued Fig.3)

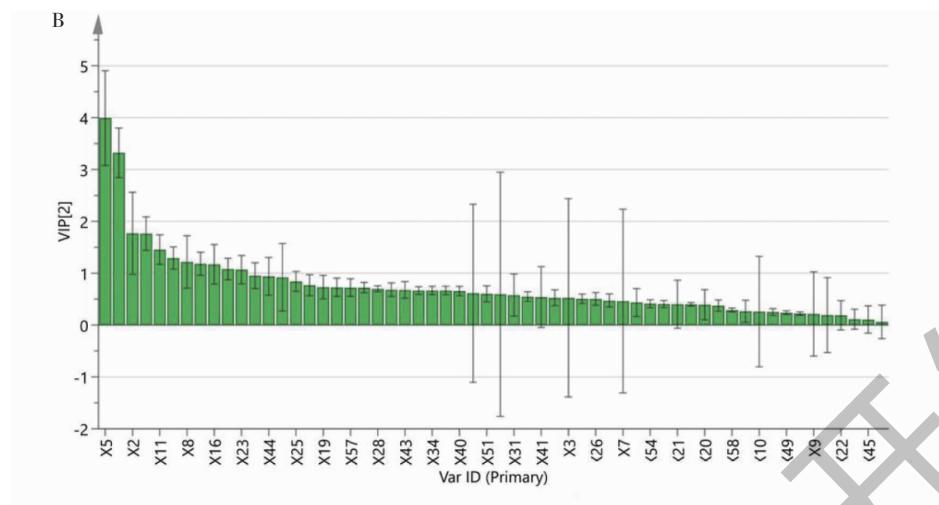


图3 标准化回归系数图、VIP 值图

Fig. 3 Standardized regression coefficient diagram and VIP value diagram.

表2 茴香根皮化合物 VIP 值、回归系数和关联度

Table 2 VIP value, regression coefficient and correlation degree of compounds from *F. vulgare* cortex

编号 No.	VIP 值 VIP value	回归系数 Regression coefficient	关联度 Correlation	编号 No.	VIP 值 VIP value	回归系数 Regression coefficient	关联度 Correlation
X52	3.992 01	1.20E-05	0.759	X31	0.594 70	2.76E-06	0.865
X2	3.321 31	6.23E-06	0.774	X36	0.578 24	2.12E-06	0.822
X12	1.768 99	6.86E-06	0.805	X41	0.547 88	2.68E-06	0.848
X11	1.764 22	5.24E-06	0.823	X48	0.541 95	2.03E-06	0.737
X14	1.454 74	4.76E-06	0.837	X3	0.526 43	-3.58E-06	0.698
X8	1.293 80	3.43E-06	0.771	X55	0.526 00	2.02E-06	0.749
X18	1.217 96	4.56E-06	0.818	X26	0.506 79	1.56E-06	0.820
X16	1.181 74	4.48E-06	0.745	X35	0.504 66	1.72E-06	0.820
X17	1.171 63	4.56E-06	0.937	X7	0.474 23	-1.67E-06	0.673
X23	1.081 43	4.11E-06	0.766	X38	0.462 80	2.04E-06	0.884
X30	1.068 32	3.72E-06	0.743	X54	0.434 77	1.64E-06	0.753
X44	0.952 60	4.30E-06	0.814	X37	0.412 29	1.48E-06	0.835
X4	0.940 05	2.02E-06	0.711	X21	0.405 27	7.08E-07	0.735
X25	0.920 64	3.58E-06	0.942	X39	0.402 84	1.59E-06	0.874
X29	0.841 47	2.96E-06	0.806	X20	0.399 56	8.05E-07	0.719
X19	0.768 55	2.71E-06	0.774	X24	0.392 94	1.20E-06	0.793
X32	0.733 60	2.78E-06	0.784	X58	0.374 80	1.22E-06	0.779
X57	0.728 63	2.78E-06	0.754	X42	0.290 64	5.88E-07	0.749
X47	0.724 52	2.83E-06	0.812	X10	0.267 35	-1.28E-06	0.661
X28	0.721 95	2.82E-06	0.862	X50	0.260 22	7.69E-07	0.828
X27	0.699 25	2.37E-06	0.815	X49	0.250 45	8.43E-07	0.861
X43	0.681 23	2.61E-06	0.763	X53	0.239 42	8.10E-07	0.875
X56	0.677 96	2.75E-06	0.776	X9	0.222 19	-7.73E-07	0.638

续表2(Continued Tab. 2)

编号 No.	VIP 值 VIP value	回归系数 Regression coefficient	关联度 Correlation	编号 No.	VIP 值 VIP value	回归系数 Regression coefficient	关联度 Correlation
X34	0.667 32	2.70E-06	0.816	X15	0.214 76	-1.22E-06	0.642
X46	0.666 72	2.76E-06	0.778	X22	0.192 47	1.63E-07	0.667
X40	0.666 69	2.51E-06	0.815	X33	0.188 51	1.09E-07	0.703
X6	0.657 71	-7.13E-07	0.685	X45	0.113 46	4.57E-08	0.696
X51	0.613 75	2.35E-06	0.728	X13	0.107 31	4.17E-07	0.649
X1	0.601 61	-2.49E-06	0.650	X5	0.061 44	1.54E-05	0.779

## 2.4 MTT 法筛选单体化合物体外抗肝纤维化活性验证结果

基于谱效关系及文献报道,本研究对具有潜在活性的化合物包括二氢辣椒碱、乙酰香兰素、异莨菪亭、7-羟基香豆素、1,3-二咖啡酰奎宁酸、去氢骆驼蓬碱等进行了体外抗肝纤维化活性验证,与对照组

比较,这些化合物对活化的 HSC-T6 细胞增殖均具有不同程度的抑制作用( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ ),其中二氢辣椒碱、去氢骆驼蓬碱、异莨菪抗肝纤维化活性最强(见图 4),故选用这三个化合物进行后续验证实验。

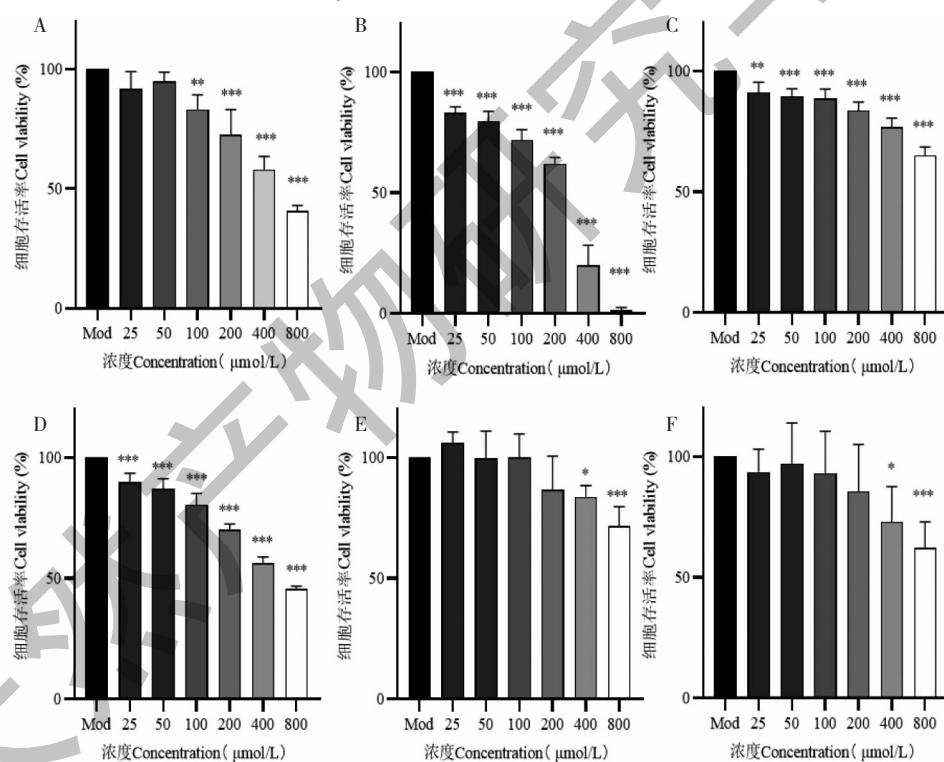
图 4 化合物对 HSC-T6 增殖抑制的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 4 Effect of compounds on the inhibition of HSC-T6 proliferation ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

注:A:去氢骆驼蓬碱;B:二氢辣椒碱;C:7-羟基香豆素;D:异莨菪亭;E:乙酰香兰素;F:1,3-二咖啡酰奎宁酸。与 Mod 组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。Note: A: Harmine; B: Dihydrocapsaicin; C: 7-Hydroxycoumarin; D: Isoscoleptin; E: Acetylvanillin; F: 1,3-Dicaffeoylquinic acid. Compared with model, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

## 2.5 单体化合物对 HSC-T6 细胞迁移的影响

与模型相比,二氢辣椒碱组细胞愈合率没有明显差异,异莨菪亭组和去氢骆驼蓬碱组的细胞划痕

愈合率显著降低( $P < 0.001$ )(见图 5),说明异莨菪亭和去氢骆驼蓬碱显著抑制 HSC-T6 细胞运动能力。

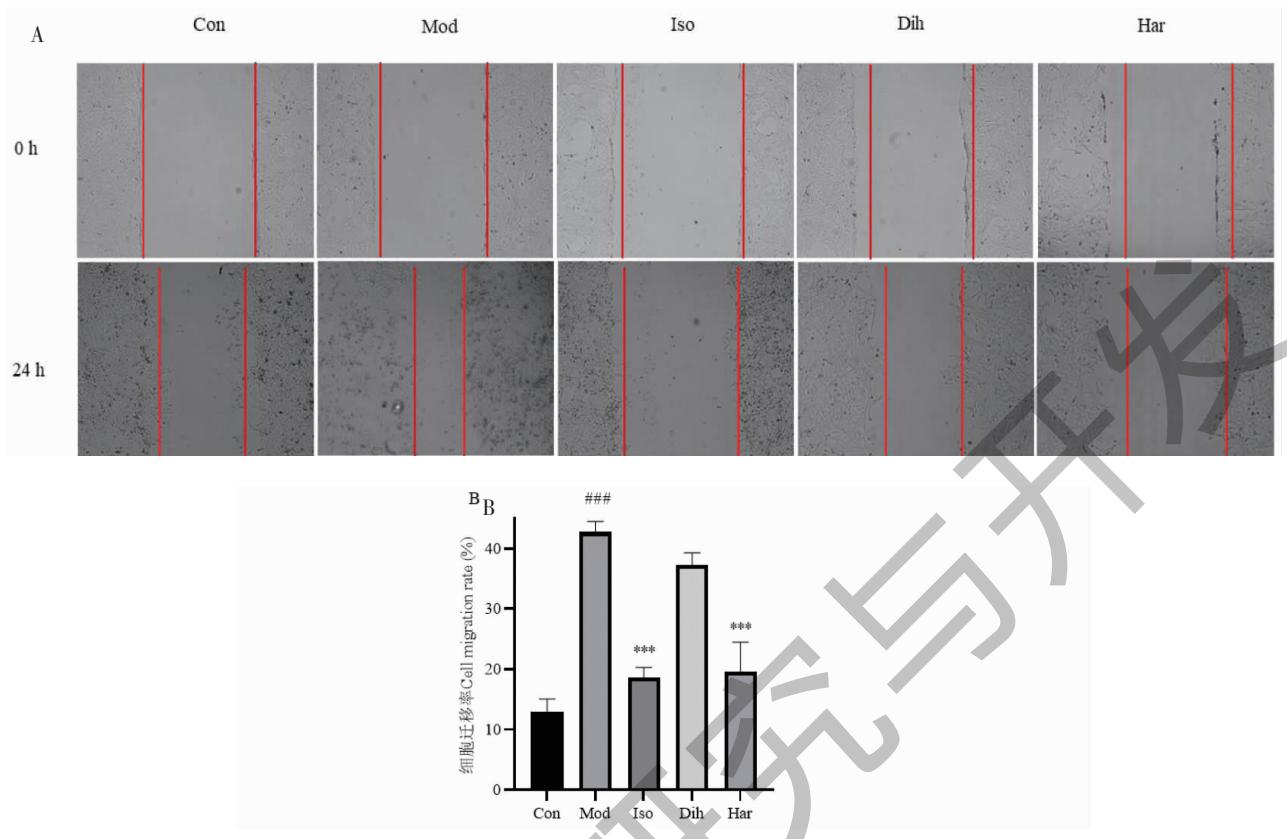


图 5 化合物对 HSC-T6 细胞运动能力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

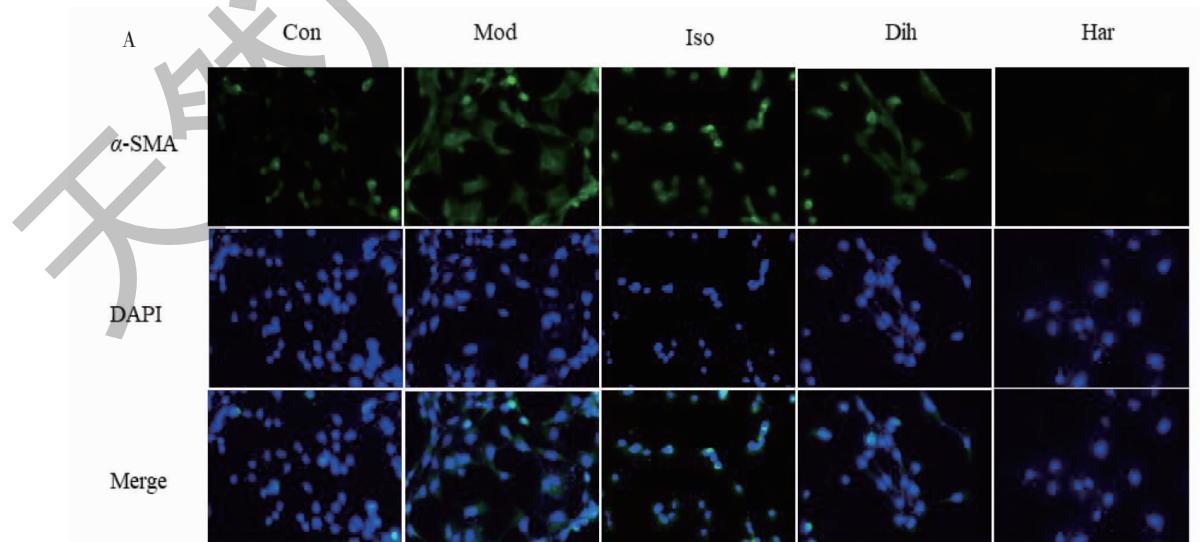
Fig. 5 Effects of compounds on the motility of HSC-T6 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

注:与 Con 组比较,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ;与 Mod 组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ,  $^{***}P < 0.001$ , 下同。Note: Compared with control,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ; Compared with model,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ,  $^{***}P < 0.001$ , the same below.

## 2.6 单体化合物对 HSC-T6 细胞 $\alpha$ -SMA 的影响

免疫荧光染色显示,与正常组比较,模型组  $\alpha$ -SMA 荧光强度明显升高( $P < 0.001$ );与模型组比

较,二氢辣椒碱组、去氢骆驼蓬碱组、异莨菪亭组  $\alpha$ -SMA 荧光强度明显降低( $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ ),差异有统计学意义(见图 6)。



续图 6(Continued Fig.6)

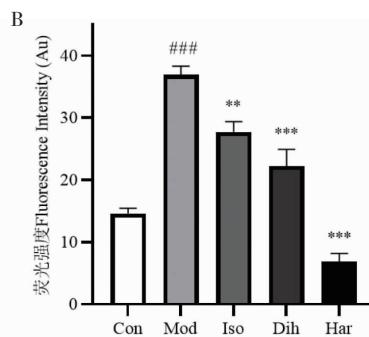


图 6 化合物对 HSC-T6 细胞  $\alpha$ -SMA 表达的影响 ( $\times 200$ ) ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 6 Effect of compounds on the expression of  $\alpha$ -SMA in HSC-T6 cells ( $\times 200$ ) ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

## 2.7 单体化合物对 HSC-T6 凋亡的影响

细胞凋亡发生时细胞核会发生一系列形态变化,例如核皱缩,染色质凝聚,产生凋亡小体等。利用染料对细胞核染色,如果细胞是存活状态,经过染色后是均匀的蓝色荧光,如果细胞处于凋亡状态,染色后是致密浓染的亮蓝色荧光。本研究采用 Hoechst33258 染色观察 HSC-T6 细胞核的形态变化(见图 7A)。结果发现,与正常组相比,给药组均出现核破裂、皱缩、致密浓染细胞等。

当细胞处于凋亡状态,细胞内的线粒体膜电位会下降,而且这种改变是比细胞核形态学变化要早,之后会不可逆地进入凋亡过程,因此线粒体膜电位的降低用于判断细胞是否进入凋亡早期阶段。正常线粒体内,JC-1 聚集在线粒体基质中形成聚合物,聚合物发出强烈的红色荧光;在化合物诱导线粒体膜电位崩溃时,由于膜电位的下降或丧失,JC-1 只能以单体的形式存在于胞浆中,发出绿色荧光。本研究结果发现(见图 7B),正常组细胞的红色荧光强度高,绿色荧光几乎不可见,表明正常组细胞线粒体膜电位较高。说明异莨菪亭、二氢辣椒碱和去氢骆驼蓬碱可以导致 HSC-T6 的线粒体膜电位下降,发生凋亡。

流式细胞术检测结果显示二氢辣椒碱组、去氢骆驼蓬碱组、异莨菪亭组的凋亡率分别为( $59.00 \pm 3.90\%$ )、( $86.87 \pm 8.80\%$ )、( $37.17 \pm 4.71\%$ )。异莨菪亭组与正常组相比,细胞凋亡率升高( $P < 0.05$ ),二氢辣椒碱组、去氢骆驼蓬碱组与正常组相比细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05, P < 0.001$ ),表明二氢辣椒碱、去氢骆驼蓬碱、异莨菪亭可以促进肝星状细胞的凋亡(见图 7C)。

## 2.8 单体化合物对 IV-C、HA、LN 和 PC III 的影响

与正常组相比,模型组 HSC-T6 细胞上清 IV-C、

HA、LN 和 PC III 的含量显著增加( $P < 0.05$ );与模型组相比,去氢骆驼蓬碱组 IV-C、HA、LN 和 PC III 的含量均显著降低( $P < 0.05$ ),二氢辣椒碱组的 HA 和 PC III 含量显著降低( $P < 0.05$ ),异莨菪亭组和水飞蓟宾组 HA 的含量显著降低( $P < 0.05$ )(见图 8)。

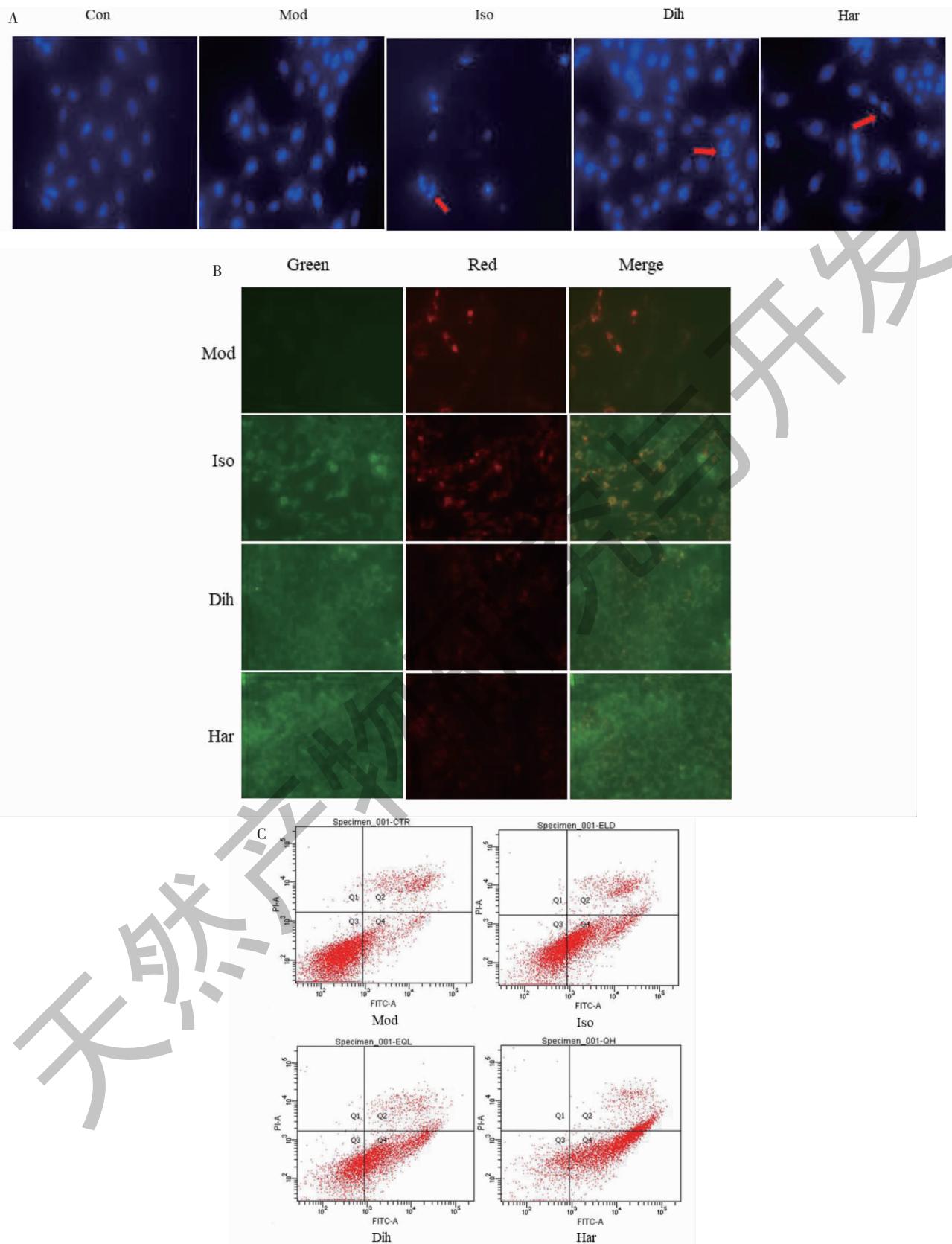
## 2.9 Western blot 结果

二氢辣椒碱组和去氢骆驼蓬碱组 Bax/Bcl-2 相对表达量与模型组相比差异有显著性( $P < 0.05$ )。模型组 HSC-T6 中 Caspase3 相对表达量高于正常组。二氢辣椒碱组和去氢骆驼蓬碱组 Caspase3 相对表达量显著高于模型组( $P < 0.01, P < 0.001$ ),异莨菪亭组和水飞蓟宾组 Caspase3 相对表达水平与模型组相比没有显著性(见图 9)。

## 3 讨论与结论

中药多靶点多成分的协同作用已成为中药研究的热点。药效成分研究是药物研究的基础,其活性成分及作用方式均存在复杂性的特点。2002 年,李戎提出谱效关系理论,为中医药效研究指明新的研究方向<sup>[16]</sup>。本研究在茴香根皮醇提取物和不同萃取物 UPLC-Orbitrap-MS/MS 图谱共有峰与其抗肝纤维化作用数据量化的基础上,采用偏最小二乘法和灰色关联分析对茴香根皮总离子流图谱共有峰与抗肝纤维化作用的大小进行相关性研究,可较大程度反映成分对药效的贡献作用。

本研究以茴香根皮醇提取物、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水部位为研究对象,开展高效液相色谱联用质谱分析,构建茴香根皮液质图谱,正负离子模式共标定了 58 个共有峰,分析图谱,可见各样品的共有峰面积有差别,可用于谱效关系研究。谱效关系分析有 11 种成分对抗肝纤维化作用的贡献较大( $VIP > 1$  和回归系数  $> 0$ )。其中,已有文献报道具有抗肝纤维化作用的化合物有没食子酸、芹菜素、山

图 7 各化合物对 HSC-T6 细胞凋亡的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Fig. 7 Effects of compounds on the apoptosis of HSC-T6 cells( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

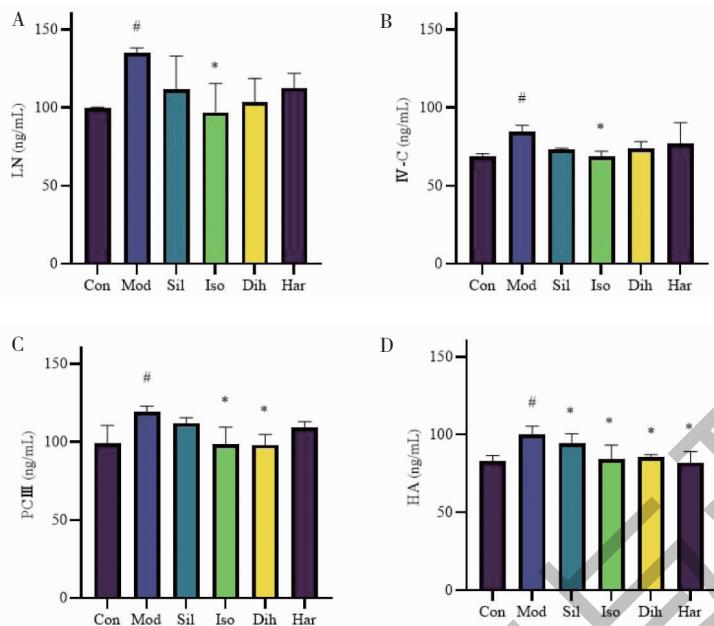


图 8 化合物对 HSC-T6 细胞上清 IV-C、HA、LN 和 PCIII 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 8 Effects of compounds on IV-C, HA, LN and PCIII in the supernatant of HSC-T6 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

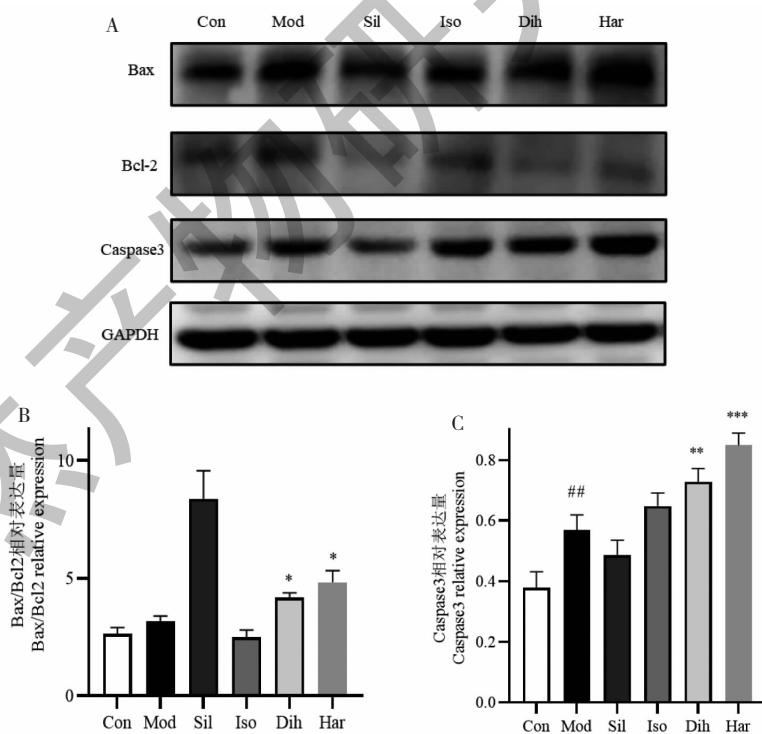


图 9 化合物对 HSC-T6 细胞 Bax、Bcl-2、Caspase3 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 9 Effects of compounds on Bax, Bcl-2 and Caspase3 in HSC-T6 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

柰酚、秦皮乙素、东莨菪内酯和大黄酸等<sup>[17-22]</sup>，体现了茴香根皮多成分多靶点发挥抗肝纤维化作用的特点。去氢骆驼蓬碱、二氢辣椒碱和异莨菪亭是首次

在茴香根皮中发现含量相对较高且具有较好抗肝纤维化活性的化合物，可能为潜在质量标志物。其中去氢骆驼蓬碱可能通过降低肺组织中 TGF-β1、

Smad3 和 NF- $\kappa$ B p65 的表达改善细粒棘球蚴继发感染引起的小鼠肺组织纤维化<sup>[23]</sup>。二氢辣椒碱和异莨菪亭抗肝纤维化的研究尚未见报道。

Bcl-2 属于抗凋亡基因,是协调细胞生命和死亡的关键因子<sup>[24]</sup>,Bax 属于促凋亡基因,是 Bcl-2 家族的促凋亡蛋白<sup>[25]</sup>。caspase3 作为细胞凋亡的重要效应因子,是细胞凋亡蛋白酶级联反应的必由之路,其被激活预示着凋亡步入不可逆阶段<sup>[26]</sup>。在凋亡中,Bax/Bcl-2 的比值是衡量细胞经线粒体途径凋亡的重要指标,Bax/Bcl-2 比值升高时,凋亡增加;反之,凋亡减少。当细胞感受到凋亡信号后,可以通过调控 Bcl-2、Bax 等凋亡因子的表达而活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9(Caspase9),进而激活 Caspase3,引发 Caspase 家族级联反应,从而诱导细胞凋亡。本研究通过实验证实,去氢骆驼蓬碱、二氢辣椒碱可以降低活化肝星状细胞内线粒体功能并打破线粒体膜电位平衡,使促凋亡因子(Bax)被大量释放,最终导致细胞凋亡,减少肝星状细胞的增殖,抑制细胞外基质和  $\alpha$ -平滑肌激动蛋白的表达,从而减轻肝纤维化<sup>[27,28]</sup>。在后续的实验中,需要对筛选出的单体化合物进行体内实验证,在 mRNA 和蛋白水平上进一步研究茴香根皮单体化合物抗肝纤维化的作用机制。

综上所述,本研究通过采用 UPLC-Orbitrap-MS/MS 技术联合偏最小二乘法和灰色关联分析阐明了茴香根皮的抗肝纤维化的可能成分,体现了茴香根皮多成分多靶点抗肝纤维化的作用特点,对于明确中药药效物质基础研究和中药质量标准的提升具有重要意义,为进一步了解其作用机制和临床应用提供参考依据。

## 参考文献

- Chen Y, Ren SS, Fan Y, et al. Research progress on the role and mechanism of TGF- $\beta$ 1 in the occurrence and development of liver fibrosis [J]. Shandong Med J (山东医药), 2021, 61:110-114.
- Geng J, Peng W, Huang Y, et al. Ginsenoside-Rg<sub>1</sub> from *Panax notoginseng* prevents hepatic fibrosis induced by thioacetamide in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 634:162-169.
- Roehlen N, Crouchett E, Baumert TF. Liver fibrosis: mechanistic concepts and therapeutic perspectives [J]. Cells, 2020, 9:875.
- Lo RC, Kim H. Histopathological evaluation of liver fibrosis and cirrhosis regression [J]. Clin Mol Hepatol, 2017, 23: 302-307.
- Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017, 14:397-411.
- Editorial Board of 'Chinese Materia Medica' of State Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese Materia Medica Uyghur Medicine Roll (中华本草维吾尔药卷) [M]. Shanghai : Shanghai Science and Technology Press, 2005:74-76.
- He HY, Yang JH, Yang XJ, et al. Protective effect of Hugan Buzure on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats [J]. Chin Med Pharmacol Clin (中医药理与临床), 2018, 34:19-22.
- Safordine M. Study on the protective effect of different extracts of *Foeniculum vulgare* Mill. cortex on acute and chronic liver injury [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University (新疆医科大学学报), 2012.
- Liu JS, Zhang XY, Li B, et al. Study on anti-inflammatory active components of *Ligusticum* based on spectrum-effect relationship [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2022, 47:3295-3302.
- Li Q, Du SM, Zhang ZL, et al. TCM fingerprint technology progress and future development direction [J]. Chin Tradit Herbal Drugs (中草药), 2013, 44:3095-3104.
- Huang LL, Zheng Y, Wang X, et al. Study on the spectrum-effect relationship of antioxidant components in *Hibiscus mutabilis* leaves [J]. Chin J Modern Appl Pharm (中国现代应用药学), 2022, 39:2489-2497.
- Dai MM, Zhang Q, Neng JJ, et al. Based on the spectrum-effect relationship, the active ingredients of Raphani Semen in promoting intestinal motility were discussed [J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med (山东中医药大学学报), 2021, 45:806-815.
- Zhang CY, Yang LJ, Chen CP, et al. Spectrum-effect relationship between UPLC-Q-Orbitrap HRMS fingerprint and antibacterial activity of *Physalis Calyx seu Fructus* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2023, 35:1699-1707.
- Zhang HL, Tan P, Wu RG, et al. Mass spectrometric fragmentation pathways of harmaline and harmaline [J]. World Chin Med (世界中医药), 2013, 8:85-86.
- Xu YH, Liu Y, Ding L. Determination of natural capsaicin, dihydrocapsaicin and synthetic capsaicin in edible oils by GPC-HPLC-MS/MS [J]. Chem Anal Meter (化学分析计量), 2016, 25:72-76.
- Li R, Sun X, Liu B, et al. Screening and identification of hepatotoxic component in *Evodia rutaecarpa* based on spectrum-effect relationship and UPLC-Q-TOFMS [J]. Biomed Chromatogr, 2023, 37:122-129.

- atogr, 2016, 30: 1975-1983.
- 17 Zhao C, Li JX, Chen SQ, et al. Mechanism of gallic acid against experimental liver fibrosis [J]. Chin Public Health (中国公共卫生), 2016, 32: 1498-1501.
- 18 Chen XD, Zhong WL, Yan PY, et al. Apigenin inhibits liver fibrosis in mice through the PDK1/AKT signaling pathway [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2022, 38: 1010-1016.
- 19 Cai W, Zhao L, Li HR, et al. Effect of kaempferol on TGF- $\beta$ 1/Smads signalling pathway in mice infected with *Schistosoma japonicum* [J]. Chin J Schistosomiasis Control (中国血吸虫病防治杂志), 2014, 26: 399-404.
- 20 Pandey A, Raj P, Goru SK, et al. Esculetin ameliorates hepatic fibrosis in high fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease by regulation of FoxO1 mediated pathway [J]. Pharmacol Rep, 2017, 69: 666-672.
- 21 Yang ZY, Zuo ZP, Bai CH, et al. Effects of Scopoletin on hepatic fibrosis in rats [J]. Pharmocol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2017, 33: 51-53.
- 22 Guo Y, Sheng YL, Lu FM, et al. Effects of rhein on the expression of  $\alpha$ -SMA, MMP-13 and TIMP-1 mRNA in liver of rats with hepatic fibrosis [J]. J Mod Med Health (现代医药卫生), 2021, 37: 9-11.
- 23 Emmett WR, Gong YH, Ma RJ, et al. Effect of harmine on pulmonary fibrosis induced by *Echinococcus granulosus* infection in mice [J]. J Pathogen Biol (中国病原生物学杂志), 2021, 16: 1414-1419.
- 24 Matsuda F, Inoue N, Manabe N, et al. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells [J]. J Reprod Develop, 2012, 58: 44-50.
- 25 Levy MA, Claxton DF. Therapeutic inhibition of BCL-2 and related family members [J]. Expert Opin Inv Drug, 2017, 26: 293-301.
- 26 Fossati S, Cam J, Meyerson J, et al. Differential activation of mitochondrial apoptotic pathways by vasculotropic amyloid- $\beta$  variants in cells composing the cerebral vessel walls [J]. FASEB J, 2010, 24: 229-241.
- 27 Chen CH, Chen MF, Huang SJ, et al. Saikosaponin a induces apoptosis through mitochondria-dependent pathway in hepatic stellate cells [J]. Am J Chinese Med, 2017, 45: 351-368.
- 28 Chen MF, Huang SJ, Huang CC, et al. Saikosaponin d induces cell death through caspase-3-dependent, caspase-3-independent and mitochondrial pathways in mammalian hepatic stellate cells [J]. Bmc Cancer, 2016, 16: 532.

## 《天然产物研究与开发》青年编委会

### 青年编委(以姓氏笔划为序)

#### Members

王扣	王红兵	戈惠明	尹文兵	尹胜	吕兆林
WANG Kou	WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LYU Zhaolin
刘相国	孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱莉
LIU Xiangguo	SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li
汪海波	沐万孟	张炳火	张德武	陈益华	林昌俊
WANG Haibo	MU Wanmeng	ZHANG Binghuo	ZHANG Dewu	CHEN Yihua	LIN Changjun
欧阳杰	易华西	罗应刚	周文	胡友财	袁涛
OUYANG Jie	YI Huaxi	LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao
夏永刚	高慧敏	唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕
XIA Yonggang	GAO Huimin	TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan
曾克武	蓝蔚青	廖晨钟	薛永波		
ZENG Kewu	LAN Weiqing	LIAO Chenzhong	XUE Yongbo		