

UPLC-Q-TOF-MS 联合网络药理学分析滇黄芩抗菌的潜在药效物质及作用机制

陈 威¹, 梁 新¹, 苏 捷², 陈琦松², 陈佳婧², 朱丽君², 雷 昌²

(1. 云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室(培育), 云南 大理 671000;

2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208)

摘要:目的 采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术、网络药理学分析滇黄芩抗菌的潜在药效物质及作用机制。方法 首先,采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定滇黄芩化学成分,并利用 TCMSP 数据库数据库预测其作用靶点,将结果在 GeneCards 数据库中检索抗菌相关靶点求交集获得关键核心靶点。其次,借助 STRING 数据库进行蛋白互作分析,并利用 Cytoscape 3.6.1 软件构建蛋白互作和“活性成分-靶点-通路”网络。最后,通过 DAVID 数据库进行基因本体论(GO)功能和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并利用分子对接技术验证上述结果。结果 从滇黄芩中鉴定出了 21 个化学成分;网络药理学研究显示,10 个关键抗菌作用的活性成分和 35 个潜在靶点,主要通过 10 条关键信号通路发挥抗菌作用。结论 滇黄芩通过多成分、多靶点、多通路的协同作用发挥抗菌作用,为进一步开展滇黄芩抗菌的药效物质及作用机制研究提供了新的思路和线索。

关键词:滇黄芩;抗菌;超高效液相色谱四级杆-飞行时间质谱;网络药理学

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2022.23.004

文章编号:1006-1959(2022)23-0018-07

Study on the Potential Effective Substances and Mechanism of Scutellaria Amoena Antibacterial Based on UPLC-Q-TOF-MS and Network Pharmacology

CHEN Wei¹, LIANG Xin¹, SU Jie², CHEN Qi-song², CHEN Jia-jing², ZHU Li-jun², LEI Chang²

(1. Yunnan Key Laboratory of Screening and Research on Anti-pathogenic Plant Resources from Western Yunnan (Cultivation),

Dali 671000, Yunnan, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China)

Abstract: Objective To explore the potential molecular mechanism of antibacterial of Scutellaria amoena by using ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) technology and network pharmacology. **Methods** At first, the main chemical components were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS, and the targets were predicted by TCMSP database. The key core targets were obtained by intersection of the results and the antibacterial related targets retrieved from GeneCards databases. Secondly, STRING database was used for protein interaction analysis, protein interaction and active components-targets-pathway network was constructed by Cytoscape 3.6.1. Finally, gene ontology (GO) function and KEGG pathway enrichment analysis were performed by DAVID database, and the above results were verified by molecular docking technique. **Result** A total of 21 chemical constituents in Scutellaria amoena were identified by UPLC-Q-TOF-MS. The network pharmacological studies revealed 10 active components and 35 potential targets of key antidepressant effects, which mainly exert antibacterial effects by 10 key signaling pathways. **Conclusion** This study revealed the antibacterial action of multiple components, multiple targets and multiple pathways of Scutellaria amoena, and provides a new idea and clue for the further research on the pharmacodynamical substances and the mechanism of antibacterial activities of Scutellaria amoena.

Key words: Scutellaria amoena; Antibacterial; Ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry; Network pharmacology

滇黄芩(Scutellaria amoena)为唇形科黄芩属植物的干燥根,是云南道地药材,药用历史悠久,为白族、彝族、傈僳族、藏族、纳西族等少数民族的药用

资源^[1],其性寒,味苦,归肺、胃、胆、肝、大肠经,具有清肺胃热、燥湿气、解毒、消炎、止血、安胎、降脂等功效^[2,3]。有研究表明^[4],滇黄芩对临床常见的金黄色葡萄球菌、链球菌和大肠杆菌等多种致病微生物均有不同程度的抑制作用,但对滇黄芩发挥抗菌作用的药效物质及作用机制尚缺乏整体认识,导致无法系统评估其潜在的应用价值与替代黄芩药用的合理性,限制了其进一步的应用和推广。超高效液相色谱四级杆飞行时间质谱(ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)技术是液质联用分

基金项目:1. 云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室开放课题(编号:APKL2111);2. 湖南省自然科学基金项目(编号:2020JJ5417)

作者简介:陈威(2000.6-),男,湖南长沙人,硕士研究生,主要从事药用植物研究

通讯作者:雷昌(1988.12-),男,湖南长沙人,硕士,助理研究员,主要从事中药活性物质及创新药物研究

析技术在近年的一个新进展,能够灵敏、可靠、快速全面地对中药多成分体系进行鉴定与分析;网络药理学是一门与中医药整体观、辨证论治原则相吻合的新兴药理学分支学科^[5,6],通过利用相关数据库和计算机软件,构建“中药-活性成分-靶点-通路”的机制网络,具有整体性、系统性的特点;两者结合可初步阐明复方制剂体内“多成分-多靶点-多通路”作用机制,近年来已被广泛用于中药药效物质及作用机制研究领域^[7-9]。本研究主要采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术、网络药理学分析滇黄芩抗菌的潜在药效物质及作用机制,以期对滇黄芩抗菌的药效物质及作用机制的进一步研究提供新的思路和理论基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 Acquity 超高效液相色谱仪、Xevo G2-XS 型四级杆飞行时间质谱仪、离子源为双源电喷雾离子源(美国 Waters 公司),超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司),万分之一电子分析天平(梅特勒)。水为屈臣氏蒸馏水,乙腈为质谱纯,甲酸为色谱纯,其余试剂均为分析纯。滇黄芩植物样品于 2019 年 8 月采自云南省大理州洱源县,经大理大学药物研究所肖朝江博士鉴定为滇黄芩(*Scutellaria amoena*C.H.Wright)。

1.2 滇黄芩化学成分分析 ①滇黄芩提取物的制备^[4]:取滇黄芩 10 g,粉碎后分别以 85%乙醇 200 ml 冷浸提取 3 次,24 h/次,再以超声提取 2 次,30 min/次,合并提取液,减压浓缩,冻干,即得滇黄芩提取物冻干粉;②供试品溶液的制备:精密称定滇黄芩提取物 3.0 mg,置具塞锥形瓶中,加入色谱甲醇 20 ml,超声(功率 250 W,频率 53 kHz)提取 20 min,放冷,0.22 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液,即得供试品溶液;③色谱条件:色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×100 mm,1.7 μm);以乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~4 min,5%~16% A;4~13 min,16%~48% A;13~20 min,47%~64% A;20~27 min,64%~89% A;27~30 min,89%~100% A;30~32 min,100%~5% A;32~33 min,5% A),流速 0.4 ml/min,柱温 35 ℃,进样量 3 μl;④质谱条件:采用电喷雾离子源(ESI),正、负离子 2 种模式进行检测。质谱数据格式为 Continuum,雾化气(N₂)流速为 800 L/h,离子源温度 120 ℃,脱溶剂气温度 600 ℃,毛细管电压 2.5 kV。锥孔电压(sampling cone)40 V,补偿电压(source offset)80 V,气帘气流速(cone gas flows)为 50 L/h,质量扫描范围为 100~1200 m/z,内参校准液亮氨酸-脑啡肽(554.2615 m/z)作为相对分子质量实时校正。

1.3 网络药理学分析

1.3.1 滇黄芩抗菌作用靶点的预测 通过中药药理学技术平台(TCMSP 数据库)对 UPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定的滇黄芩化合物检索查询,同时在“Related Targets”页面中将上述化合物编号导入,得到滇黄芩化学成分的靶标蛋白。将获得的化合物靶点信息导入 Uniport 数据库(<https://www.uniprot.org/>),借助 STRING(<https://string-db.org/>)中 Multiple proteins 搜索功能以及 UniProt(<http://www.uniprot.org/>)中 UniProtKB 搜索功能,输入蛋白质名称,物种选择为“Homo sapiens”,进行标准化,下载结果。在 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)数据库中检索抗菌相关靶点,将结果导入 Excel,与滇黄芩成分靶点一同导入 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)中进行映射,记录二者的交集部分,绘制韦恩图。

1.3.2 蛋白质相互作用(PPI)网络的构建 将上述筛选所得潜在靶点输入 STRING 数据库,限制物种为“Homo sapiens”,置信度为中等 0.04,得到 PPI 核心网络,并将结果以 TSV 文件导入 Cytoscape 3.6.1,导出相应的拓扑参数值,得到 PPI 图。

1.3.3 GO 功能与模块分析、KEGG 富集通路分析 将筛选出的滇黄芩抗菌的潜在靶点导入 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>),限制物种条件为“Homo sapiens”,阈值 $P<0.05$,采取基因本体论(GO)功能和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,再用 Graph-Pad Prism 7 和在线绘图网站 imageGP(<http://www.e-hbio.com/ImageGP/index>)将结果可视化。

1.3.4 滇黄芩“活性成分-靶点网络-通路”网络的构建 利用 Cytoscape 3.6.1 (<https://cytoscape.org/>)软件,构建滇黄芩活性成分-靶点-通路网络,分析化合物和靶点间的度(degree)值关系,其中节点代表化学成分、靶点和信号通路,边用来连接化学成分、靶点和信号通路。

1.3.5 分子对接验证 选取取值较为靠前的成分及靶点对其进行分子对接。在 TCMSP 平台下载活性成分结构的 mol2 格式文件,并在 PDB(<https://www.rcsb.org/>)数据库下载相应靶点 3D 结构的 pdb 文件,运用 AutoDock4.2.6 软件,对靶点及活性成分进行分子对接分析,并使用 PyMol2.4.1 软件进行可视化处理。

2 结果

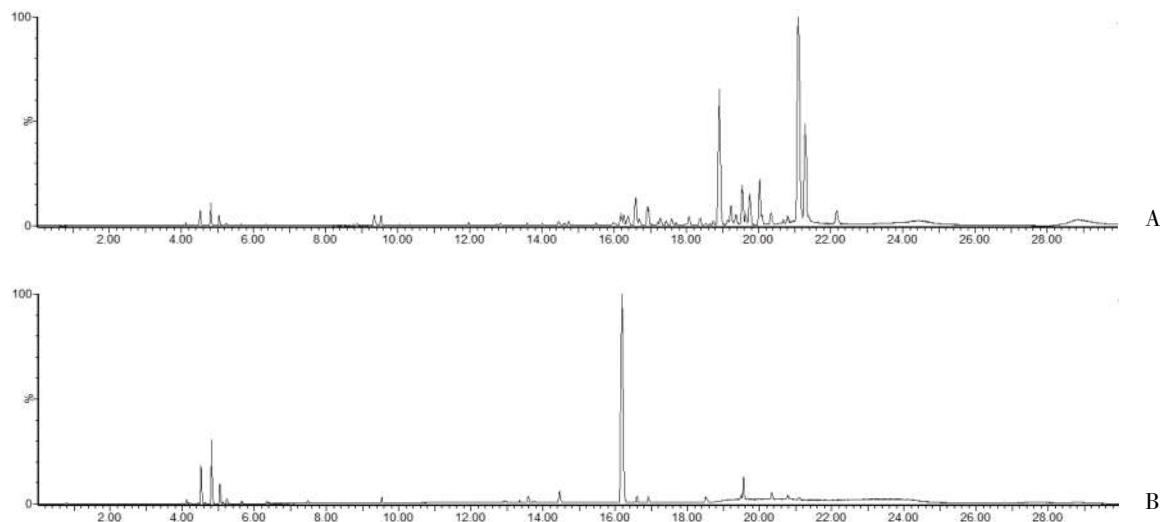
2.1 滇黄芩的主要化学成分 通过 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析得滇黄芩总离子流色谱图,见图 1。采用 MassLynx V4.1 软件提取总离子流色谱图,获取化学成分的保留时间、质谱准分子离子峰和碎片离

子峰等信息,参考自检数据库和相关文献,推测化学成分,结果在滇黄芩中共鉴定 21 个化学成分, UPLC-Q-TOF/MS 数据见表 1。

2.2 网络药理学分析结果

2.2.1 滇黄芩中化合物与抗菌作用的交集基因 通过

TCMSP 获取各活性成分作用靶点, 查询结果包括滇黄芩 122 个无重复靶点。通过 Gene Cards 查询获得抗菌作用靶点 1895 个,无重复靶点。由在线韦恩图可知,滇黄芩中化合物与抗菌作用的交集基因有 67 个, 借助 Venny 2.1.0 将结果可视化,结果见图 2。



注:A:正离子;B:负离子

图 1 滇黄芩在正离子和负离子模式下的总离子流

表 1 滇黄芩化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定

| 化合物 | t_R /(min) | 名称 | 分子式 | m/z 实测值 | 二级质谱 m/z | ppm |
|-----|--------------|----------------------------------|----------------------|---------------|------------------|------|
| 1 | 3.686 | (2R,3R)-2',3,5,6',7-五羟基双氢黄酮 | $C_{15}H_{12}O_7$ | 303.0503[M-H] | 178 207 | -0.7 |
| 2 | 3.709 | 2,3,5,6,7-五羟基黄酮 | $C_{15}H_{12}O_7$ | 303.0503[M-H] | 178 259 285 | -0.7 |
| 3 | 5.131 | 5,7,2'-三羟基-6-甲氧基黄酮 7-O-β-D-葡萄糖醛酸 | $C_{22}H_{20}O_{12}$ | 475.0879[M-H] | 235 299 352 | 0.4 |
| 4 | 5.643 | 黄芩苷 | $C_{21}H_{18}O_{11}$ | 445.0781[M-H] | 269 251 241 223 | 2.2 |
| 5 | 5.647 | 芹菜素 | $C_{15}H_{10}O_5$ | 271.0607[M+H] | 139 242 | 0.4 |
| 6 | 5.651 | 黄芩素 | $C_{15}H_{10}O_5$ | 269.0455[M-H] | 251 241 197 | 1.9 |
| 7 | 5.654 | 去甲汉黄芩素 | $C_{15}H_{10}O_5$ | 269.0455[M-H] | 241 225 197 | 1.9 |
| 8 | 6.347 | 千层纸素 A-7-O-β-D-吡喃葡萄糖醛酸苷 | $C_{22}H_{20}O_{11}$ | 461.1079[M+H] | 283 268 175 | -1.1 |
| 9 | 6.349 | 汉黄芩苷 | $C_{22}H_{20}O_{11}$ | 461.1079[M+H] | 270 285 | -1.1 |
| 10 | 6.404 | 白杨素 | $C_{15}H_{10}O_4$ | 253.0498[M-H] | 144 146 155 183 | -1.2 |
| 11 | 6.408 | 白杨素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖醛酸苷 | $C_{21}H_{18}O_{10}$ | 429.0832[M-H] | 253 175 | 2.3 |
| 12 | 7.754 | 5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮 | $C_{16}H_{12}O_6$ | 299.0556[M-H] | 284 | 0 |
| 13 | 8.079 | 丁二酸二异丁酯 | $C_{12}H_{22}O_4$ | 229.1448[M-H] | 180 200 207 | 3.5 |
| 14 | 12.839 | 邻苯二甲酸二丁酯 | $C_{16}H_{22}O_4$ | 279.1593[M+H] | 205 276 | -1.1 |
| 15 | 15.840 | 肉豆蔻酸 | $C_{14}H_{28}O_2$ | 227.2004[M-H] | 122 199 216 | -3.1 |
| 16 | 16.182 | 苯乙醛 | C_8H_8O | 121.0654[M+H] | 139 177 | 0.8 |
| 17 | 16.188 | 亚油酸 | $C_{18}H_{32}O_2$ | 279.2326[M-H] | 134 145 175.22 | 0.7 |
| 18 | 16.922 | 棕榈酸 | $C_{16}H_{32}O_2$ | 255.2330[M-H] | 240 116 | 2.4 |
| 19 | 20.692 | 邻苯二甲酸二异辛酯 | $C_{24}H_{38}O_4$ | 391.2861[M+H] | 242 279 312, 388 | 3.3 |
| 20 | 20.695 | 硬脂酸 | $C_{18}H_{36}O_2$ | 283.2639[M-H] | 169 265 | 0.7 |
| 21 | 20.780 | 千层纸素 A | $C_{16}H_{12}O_5$ | 283.2642[M-H] | 268 | 1.6 |

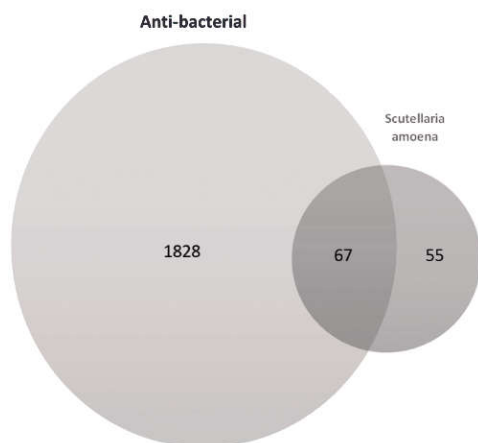


图 2 滇黄芩中化合物及其与抗菌作用相关靶点的交集基因

2.2.2 蛋白-蛋白相互作用网络的构建 凭借 STRING 和 Cytoscape 3.6.1 构建交集基因的蛋白质相互作用 (PPI),网络含有 72 个节点和 2034 条边。对网络发展中所存在的各个点的拓扑参数进行研究分析,得到节点度值 27, 故以大于等于 2 倍度值进行筛选分析, 得到 PTGS2、CASP9、AKT1、HSP90AA1、TP53、JUN 等为主的 35 个关键靶点,见图 3。

2.2.3 生物过程和通路富集分析 DAVID 中 GO 功能

富集分析中获得的 GO 条目共 288 个 ($P<0.05$),其中包括生物过程条目 230 个, 涉及对药物的反应、DNA 模板转录的正调控、凋亡过程的负调节等;细胞组成条目 17 个,涉及细胞外间隙、细胞溶质、质膜等;分子功能条目 41 个,涉及酶结合、蛋白结合、转录因子结合等。该结果中生物过程、细胞成分和分子功能分别占 79.9%、5.9%和 14.2%, 运用 GraphPad Prism 7 对生物通路结果进行可视化处理,结果见图 4。KEGG 通路富集分析共获得 88 条信号通路 ($P<0.05$), 涉及 HIF-1、TNF、p53 和 FoxO 信号通路等,选取排名靠前的通路绘制气泡图,结果见图 5。

2.2.4 滇黄芩“活性成分-靶点-通路”网络的构建 构建主要成分-靶点-通路网络,其中“菱形”代表通路,“三角形”代表抗菌作用靶点,“V 形”代表化学成分,该网络由 65 个节点,包括 10 种成分、35 个靶点、10 条通路和 294 条边,其中化学成分芹菜素、黄芩素、5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮等节点较大,表明与其相连的节点较多,可能是重要活性成分;另外,PTGS2、HSP90AA1、CASP9 等靶点节点较大,可能是重要作用靶点,其中 HIF-1、TNF、p53 等通路可能是重要通路,见图 6。

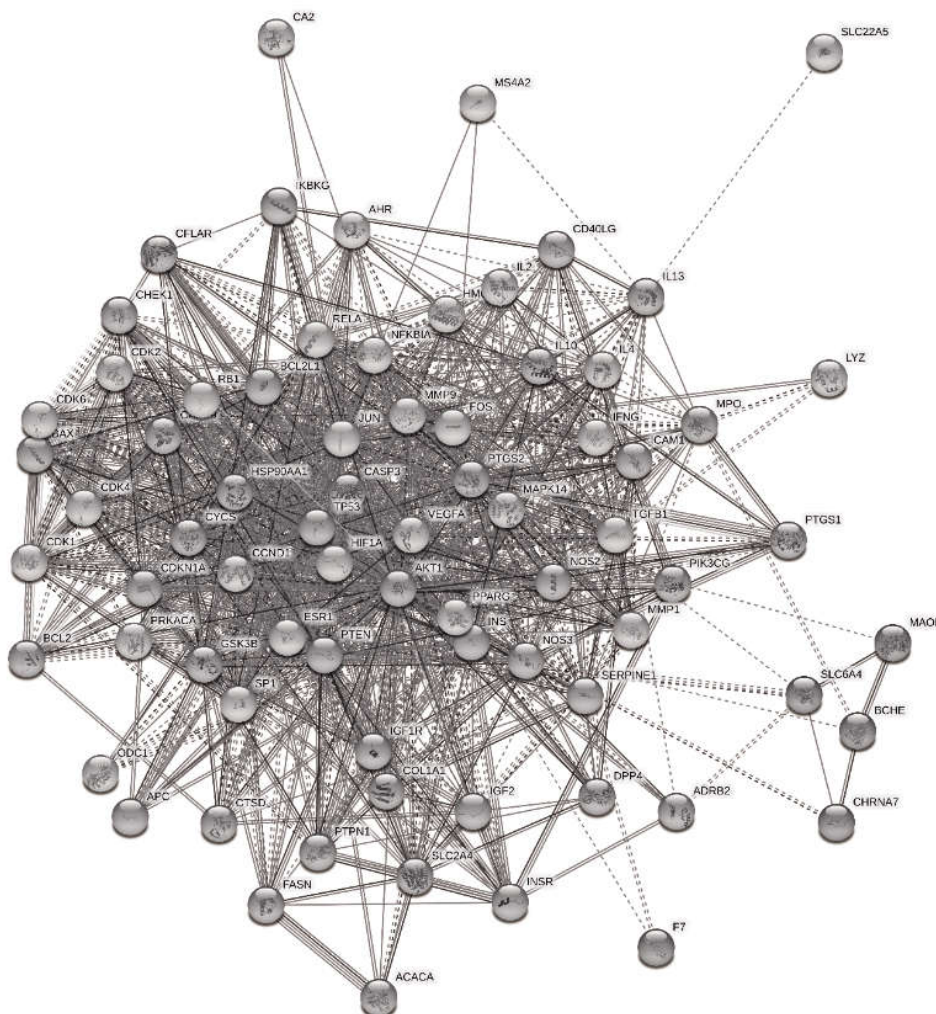


图 3 滇黄芩与抗菌蛋白质相互作用核心网络(PPICN)

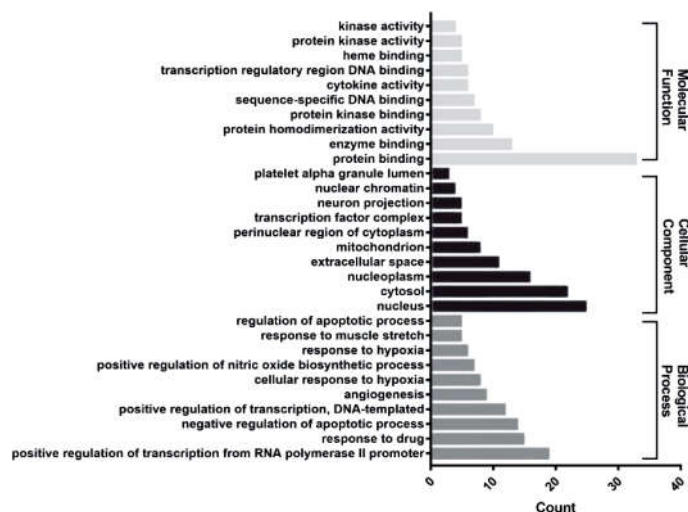


图 4 滇黄芩活性成分潜在靶点的 GO 生物学过程富集分析

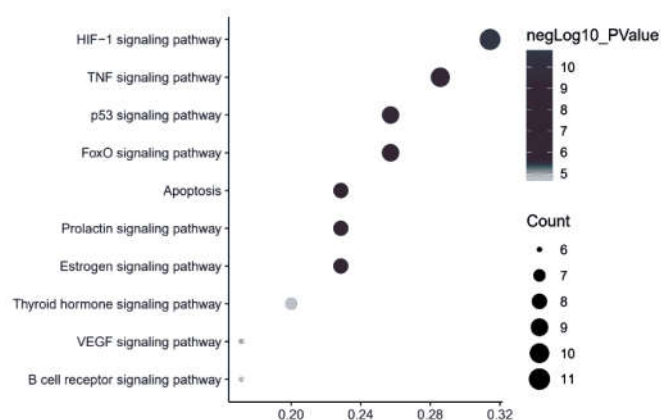


图 5 滇黄芩活性成分潜在抗菌靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

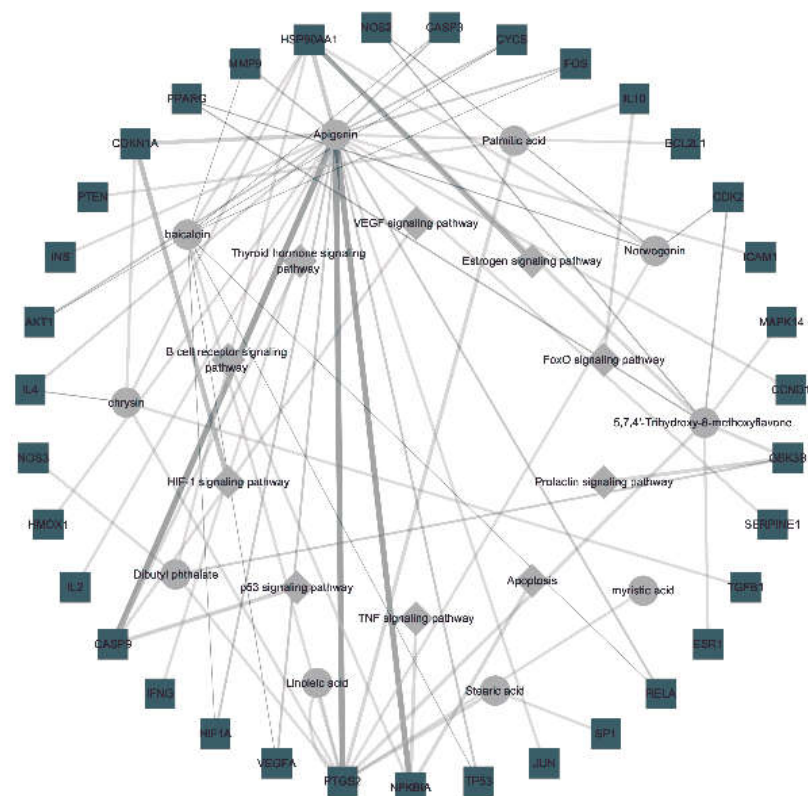


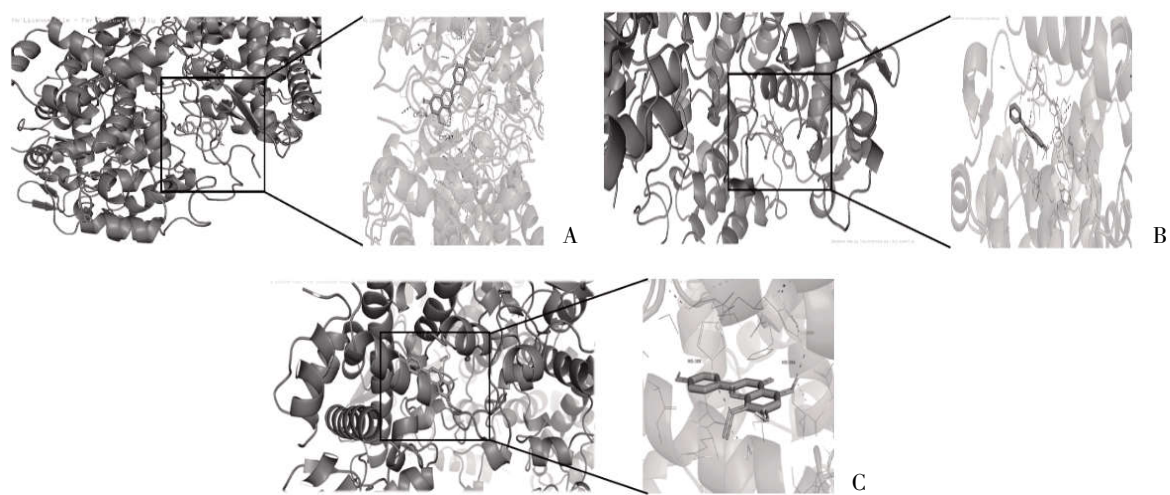
图 6 滇黄芩活性成分-靶点-通路网络图

2.2.5 分子对接结果 将度值靠前的活性成分芹菜素、黄芩素、5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮与潜在活性成分中度值较为靠前的 PTGS2、HSP90AA1、CASP9 以及 NFKBIA 进行分子对接,结果显示所有

靶点与分子均对接成功,见表 2。结合能数值越小,则结合越稳定,本研究选取结合最稳定的对接结果见图 7。

表 2 滇黄芩活性成分与靶点分子对接结果

| 成分 | 靶点 | 结合能(kcal/mol) |
|--------------------|----------|---------------|
| 芹菜素 | PTGS2 | -9.5 |
| | HSP90AA1 | -9.3 |
| | CASP9 | -9.3 |
| | NFKBIA | -7.5 |
| 黄芩苷 | PTGS2 | -9.5 |
| | HSP90AA1 | -8.5 |
| | CASP9 | -9.4 |
| | NFKBIA | -7.9 |
| 5,7,2'-三羟基-8-甲氧基黄酮 | PTGS2 | -9.4 |
| | HSP90AA1 | -6.6 |
| | CASP9 | -9.2 |
| | NFKBIA | -7.5 |



注:A:PTGS2 与芹菜素;B:PTGS2 与黄芩苷;C:PTGS2 与 5,7,2'-三羟基-8-甲氧基黄酮

图 7 滇黄芩活性成分与靶点分子的对接结果

3 讨论

课题组前期对滇黄芩做过抗菌活性研究^[4],但缺少对其药效物质基础及作用机制的系统探讨。UPLC-Q-TOF-MS 技术是分析中药药效的强有力工具,在没有标准品的条件下,通过采用串联质谱分析化合物的一级和二级质谱信息,可以大致推测其化合物结构和类型,从而进行定性分析。本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对滇黄芩的化学成分进行分析,鉴定出了 21 个主要化学成分,以黄酮类化合物为主,提示滇黄芩抗菌的物质基础可能是黄酮类成分,这与既往研究报道相似^[10-12]。在此基础上,进一

步采用网络药理学方法对滇黄芩的主要活性成分、作用靶点、相关生物信号通路等几个方面的关联性进行了探讨,并由“活性成分-靶点-通路”网络图可知芹菜素、黄芩素、5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮等可能为滇黄芩抗菌的主要药效物质。研究表明,芹菜素与氨基糖苷类和喹诺酮类抗生素联用对 MRSA 菌株呈现协同作用^[13];黄芩素是一种具有抗肿瘤、抗菌、抗炎等功能的天然生物活性化合物,能够抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成,并通过下调 NF-κB 和 p38 MAPK 表达水平对肺炎球菌性肺炎小鼠发挥良好的保护作用^[14,15];其余几种节点较大的重要活

性成分文献报道较少,其药效及作用机制需进一步研究证明。

滇黄芩抗菌靶点 PPI 网络显示,PTGS2、TP53、AKT1、CASP9、HSP90AA1、JUN 等 35 个关键靶点在滇黄芩抗菌中发挥重要作用。有研究表明^[16],中药主要通过 PTGS2 参与红素结合和控制双加氧酶活性,产生炎症反应,提高促炎介质水平治疗布鲁氏菌病。当发生幽门螺旋杆菌引发的胃炎感染时,可引起抑癌基因 TP53 下调,并且持续的炎症导致 TP53 突变与胃癌的发展紧密相关^[17,18]。AKT1 与多种细菌感染途径有关,如铜绿假单胞菌感染可通过抑制 Akt1/mTOR 通路诱导自噬体形成^[19]。GO 生物学过程富集分析显示,滇黄芩抗菌主要涉及药物反应、蛋白结合、酶结合、信号转导、RNA 聚合酶 II 启动子转录的阳性调控等生物过程。由 KEGG 通路富集网络分析显示,HIF-1、TNF、p53 和 FoxO 等信号通路可能是滇黄芩抗菌的关键通路。TNF 是一类具有多种生物学效应的细胞因子,能够与细胞膜上的特异性受体结合,进而促进细胞生长、分化凋亡及诱发炎症等生物学效应,参与抗细菌和免疫调节等生物学过程^[20]。HIF-1 通路的激活可增强巨噬细胞对结核分枝杆菌的杀菌作用^[21]。

综上所述,本研究初步揭示了滇黄芩抗菌的关键药效物质为芹菜素、黄芩素、5,7,4'-三羟基-8-甲氧基黄酮,其抗菌的作用机制与 HIF-1、TNF、p53、FoxO 通路相关,为后续该药材的合理开发、质量控制、药效物质基础及作用机制研究提供了理论依据。

参考文献:

- [1]郑进,张超,钱子刚.云南民族医药大辞典[M].上海:上海科学技术出版社,2019:673.
- [2]付胜男,虎春艳,刘海鸥,等.滇黄芩地上部分化学成分的分离子鉴定[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(10):55-59.
- [3]李欣坪,王蒙蒙,王子晨,等.滇黄芩茎叶乙醇提取物及其不同溶剂萃取部位的抗氧化和降脂活性研究[J].中国药房,2021,32(2):220-225.
- [4]刁红梅,吴秀蓉,肖朝江,等.三种滇西地区药用黄芩属植物与正品黄芩抗菌活性研究[J].中国民族民间医药,2020,29(12):37-41.
- [5]谷文超,陈聪,宋咏梅,等.网络药理学在中医复方研究中的应用现状[J].山东中医杂志,2021,40(6):662-667.
- [6]张改君,苗静,郭颖,等.多组学联用在中药作用机制研究中的应用[J].中草药,2021,52(10):3112-3120.
- [7]董庆海,刘慧,刘俊丽,等.基于 UPLC-Q/TOF MS 及网络药理学的丹参川芎嗪注射液抗血瘀活性成分和机制研究[J].

质谱学报,2021,42(1):24-35.

- [8]刘畅,刘雄伟,丁晶鑫,等.基于 UPLC-Q-TOF-MS 结合网络药理学的黄褐毛忍冬保肝活性成分及其潜在靶点研究[J].江苏大学学报(医学版),2021,31(1):73-82.
- [9]李泽运,曹星,袁永亮,等.排毒清脂片的 UPLC-Q-TOF-MS 成分分析及网络药理学探索[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(7):129-134.
- [10]姚姗姗,刘静茹,陈静,等.基于网络药理学探究中药黄连抗菌作用机制[J].中国畜牧兽医,2020,47(5):1593-1601.
- [11]Hariri BM,McMahon DB,Chen B,et al. Plant flavones enhance antimicrobial activity of respiratory epithelial cell secretions against *Pseudomonas aeruginosa* [J].PLoS One,2017,12(9):e0185203.
- [12]Yao J,Pan D,Zhao Y,et al.Wogonin prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury and inflammation in mice via peroxisome proliferator-activated receptor gamma-mediated attenuation of the nuclear factor-kappaB pathway[J].Immunology,2014,143(2):241-257.
- [13]张新娟,左国营,张云玲,等.芹菜素联合抗生素的抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌作用[J].中国医院药学杂志,2012,32(10):755-758.
- [14]张洛嘉,谢明杰.黄芩素抑制金黄色葡萄球菌生物被膜的形成[J].中国生物化学与分子生物学报,2018,34(3):334-340.
- [15]许鹏飞,陈渊锦,王丽苹,等.黄芩素有效抑制小鼠肺炎球菌性肺炎感染引起的炎症[J].药物生物技术,2021,28(4):336-341.
- [16]张鹏葛,王一瑞,刘纪杉,等.中医药治疗布鲁氏菌病的用药规律及药物作用机制分析[J].山东医药,2021,61(20):30-35.
- [17]Ferraz MA,Zabaglia LM,Pereira WN,et al.Downregulated expression of E-cadherin and TP53 in patients with gastric diseases: the involvement of *H. pylori* infection and its virulence markers[J].J Gastrointest Cancer,2016,47(1):20-26.
- [18]Shimizu T,Marusawa H,Matsumoto Y,et al.Accumulation of somatic mutations in TP53 in gastric epithelium with *Helicobacter pylori* infection [J].Gastroenterology,2014,147(2):407-417.
- [19]Li R,Tan S,Yu M,et al.Annexin A2 regulates autophagy in *Pseudomonas aeruginosa* infection through the Akt1-mTOR-ULK1/2 signaling pathway [J].J Immunol,2015,195(8):3901-3911.
- [20]Montfort A,Colacios C,Levade T,et al.The TNF paradox in cancer progression and immunotherapy [J].Front Immunol,2019,10:1818.
- [21]Li Q,Xie Y,Cui Z,et al.Activation of hypoxia-inducible factor 1 (Hif-1) enhanced bactericidal effects of macrophages to *Mycobacterium tuberculosis*[J].Tuberculosis,2021,126:102044.

收稿日期:2022-04-06;修回日期:2022-04-21

编辑/杜帆