

黑种草子总生物碱对溃疡性结肠炎小鼠的抗炎作用

周梦乔¹, 胡兴江², 张 乔², 刘雪玲², 吴 霞², 吴明兰², 李小冬³, 李卫芬³, 叶子奇^{2*}

(1. 浙江大学医学院附属第一医院实验动物中心, 浙江 杭州 310003; 2. 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江省药物临床研究与评价技术重点实验室, 浙江省中药临床评价与转化研究中医药重点实验室, 临床药理学部, 浙江 杭州 310003; 3. 浙江大学动物科学学院饲料科学研究所分子动物营养学教育部重点实验室, 浙江 杭州 310058)

摘要: **目的** 探索黑种草子总生物碱 (TAN) 对溃疡性结肠炎 (UC) 小鼠的抗炎作用。**方法** 通过 UPLC-TOF-MS/MS 对 TAN 化学成分进行分析。体内实验建立葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的小鼠 UC 模型, 分别给予 SASP (200 mg/kg) 和 TAN (2.5、5.0 mg/kg), 连续 7 d。给药结束后, 检测小鼠体质量、疾病活动指数、结肠长度、结肠病理损伤、IL-1 β 、IL-18、IL-6、NF- κ B、I κ B α 蛋白表达及其磷酸化水平。体外实验建立 LPS 和 Nigericin 双重诱导的 THP-1 细胞模型, 给予 TAN (12.5、25、50 μ g/mL) 和 MCC950 (NLRP3 抑制剂, 5 μ mol/L) 处理, 采用 ELISA 法检测细胞上清液 IL-1 β 、IL-18、IL-6 水平。**结果** TAN 主要由多种含量较大的特征型单体生物碱组成。TAN (2.5、5.0 mg/kg) 能改善 DSS 诱导的小鼠体质量减轻、疾病指数升高、结肠缩短和病理损伤, 降低 DSS 所致的结肠炎症因子 IL-1 β 、IL-18、IL-6 分泌及 NF- κ B、I κ B α 蛋白磷酸化水平。体外炎症模型证实, TAN 可抑制 LPS 和 Nigericin 双重诱导的 THP-1 细胞上清中的 IL-1 β 、IL-18、IL-6 水平。**结论** TAN 含有多种结构类似的单体生物碱, 具有改善溃疡性结肠炎小鼠炎症的作用, 该作用可能与其抑制 NF- κ B 通路有关。

关键词: 黑种草子; 总生物碱; 溃疡性结肠炎; 炎症; NF- κ B

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)07-2376-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.07.043

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 属于炎症性肠病, 在全球范围内流行, 是一类病因和发病机制尚不明确, 且易复发、难治愈的肠道慢性炎症性疾病。研究表明, UC 与免疫、炎症反应和肠道微生物群等多种因素相关^[1-3]。目前, 5-氨基水杨酸、糖皮质激素、免疫抑制剂、生物制剂等药物被认为是治疗 UC 的标准策略^[4], 但仍存在不良反应多、容易复发等问题, 大大限制了其临床应用^[5-8]。天然活性药物具有毒副作用小、价格低廉、多靶点起效等优势, 在治疗包括 UC 在内的慢性病方面更具有优势^[9]。

瘤果黑种草 *Nigella glandulifera* Freyn et Sint 又名腺毛黑种草, 属毛茛科金莲花亚科黑种草属植物。2020 年版《中国药典》记载, 瘤果黑种草的干燥成熟种子 (黑种草子) 为维吾尔族习用药材, 以治疗耳鸣、健忘、闭经乳少和热淋、石淋等。现代医学研究表明, 黑种草子具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种药理活性^[10-12]。课题组前期已从多味中药中筛选出具有 UC 治疗作用的活性成分^[6-7, 13-14], 其中

黑种草子总生物碱 (total alkaloids of *Nigella glandulifera* Freyn et Sint, TAN) 具有较强的抗炎活性, 可能具有治疗多种炎症性疾病的潜力^[15], 但是否对 UC 具有潜在的治疗作用仍未知。因此, 本研究旨在探索 TAN 对 UC 小鼠的干预作用及其相关机制。

1 材料

1.1 试剂与药物 黑草种子购自安国市旭芳中药材经营有限公司, 经浙江理工大学生命科学与医药学院张琳教授鉴定为瘤果黑种草的干燥成熟种子。葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS) 购自美国 MP Biomedical 公司; 柳氮磺胺吡啶 (Sulfasalazine, SASP) 购自大连美仑生物技术有限公司; 乙醇、二氯甲烷、盐酸、氢氧化钠均购自国药集团化学试剂有限公司; IL-1 β 、IL-18、IL-6 ELISA 检测试剂盒均购自美国 RayBiotech 公司; 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、尼日利亚菌素 (Nigericin) 均购自美国 GlpBio 公司; 核因子- κ B (nuclear factor kappa B,

收稿日期: 2023-02-11

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LTGY24H030001, LQ23H280019, LQ24H280006); 浙江省药学会医院药学专项科研基金资助项目 (2021ZYY-09)

作者简介: 周梦乔 (1992—), 女, 助理实验师, 研究方向为中药药理学。Tel: (0571) 87236339, E-mail: 646757790@qq.com

* **通信作者:** 叶子奇 (1984—), 男, 硕士, 副主任药师, 研究方向为临床药理学及药理学。Tel: (0571) 87236339, E-mail: ziqiye@zju.edu.cn

NF-κB)、核因子 κB 抑制蛋白 α (inhibitor of kappa B alpha, p-IκBα)、磷酸化 NF-κB (p-NF-κB)、磷酸化 IκBα (p-IκBα) 均购自英国 Abcam 公司。

1.2 仪器 UPLC-TOF-MS/MS 液质联用系统 (美国 Waters 公司); TOF-MS/MS 质谱系统 (型号 5600+, 美国 AB Sciex 公司); 伯乐酶标仪 (型号 Microplate Reader 680, 美国 Bio-Rad 公司); 切片机 (型号 RM-2235, 德国 Leica 公司)。

1.3 动物和细胞 SPF 级 C57BL/6 小鼠, 雄性, 体质量 18~22 g, 购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2018-0008]。研究经浙江大学医学院附属第一医院实验动物伦理委员会批准 (伦理号 2021-1200)。人单核细胞白血病细胞株 THP-1 细胞购自中国典型培养物保藏中心。

2 方法

2.1 TAN 提取和纯化 ①取黑草种子 2 kg, 粉碎, 过 24 目筛; ②加入 10 倍量 70% 乙醇回流提取 2.5 h, 共 3 次, 抽滤, 合并滤液; ③滤液减压浓缩 (65 ℃) 至浸膏, 真空干燥, 得到干浸膏; ④干浸膏加入 4 L 2% 盐酸溶解, 过滤, 滤液用 4% 氢氧化钠溶液调 pH 至 10, 然后加入等体积二氯甲烷连续萃取 3 次, 合并萃取液; ⑤减压浓缩 (45 ℃) 至浸膏后真空干燥, 即得提取物 (6.74 g)。

2.2 TAN 成分分析 采用 UPLC-TOF-MS/MS。

2.2.1 色谱条件 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相水 (含 0.05% 甲酸) (A) -甲醇 (含 0.05% 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0 min, 80% A : 20% B; 15 min, 20% A : 80% B; 20 min, 20% A : 80% B; 25 min, 5% A : 95% B; 30 min, 95% A : 5% B); 体积流量 0.3 mL/min。

表 2 结肠组织病理学评分标准

分数/分	炎症程度	中性粒细胞+淋巴 组织细胞浸润	隐窝损伤程度	隐窝脓肿	黏膜下水肿	杯状细胞丢失	反应性上 皮增生
0	无	无	无	无	无	无	无
1	黏膜层	局部的	基底部 1/3	局部的	局部的	局部的	局部的
2	黏膜层+黏膜下层	多发的	基底部 2/3	多发的	多发的	多发的	多发的
3	黏膜层+黏膜下层+肌肉层	弥漫的	整个隐窝损伤	—	弥漫的	弥漫的	弥漫的
4	跨壁层	—	隐窝损伤+溃疡	—	—	—	—

2.5 体外实验 THP-1 细胞以每孔 5×10^5 个的密度接种到 24 孔板中, 加入 200 ng/mL 佛波酯刺激 3 d 后加药处理, TAN 低、中、高剂量组加入 12.5、25、50 μg/mL TAN; MCC950 组加入 5 μmol/L MCC950 (NLRP3 抑制剂)。药物处理 1 h 后, 加入 0.5 μg/mL LPS 刺激 3 h, 然后加入 Nigericin (10 μmol/L, NLRP3 激活剂) 处理 1.5 h。收集细胞培养基上清液, 采用 ELISA 试剂盒检测炎症因子 (IL-1β、IL-18 和 IL-6) 水平。

2.6 Western blot 法检测结肠组织 NF-κB、p-NF-κB、IκBα、p-IκBα 蛋白表达 将结肠组织置于含有 10% PMSF 的 RIPA 缓冲液中, 匀浆裂解 15 min, 离心后取上清, 采用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行定量。每组取 30 μg 蛋白, 上样、电泳分离后转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶封闭, 孵育 NF-κB、

2.2.2 质谱条件 ESI 离子源, 正离子模式; GS1、GS2、CUR 分别为 50、50、35 psi; 离子源喷雾电压 (IS)、温度 (TEM) 分别为 5 500 V、600 ℃; 去簇电压 (DP) 80 V。采用全扫描模式; 扫描范围 m/z 100~1 500; 驻留时间 200 ms。二级质谱采用 IDA 模式, 阈值 50 cps; 扫描范围 m/z 50~1 000; 驻留时间 70 ms; 碰撞能量 (CE) 40 eV。

2.3 模型构建 根据前期研究及预实验结果, TAN 剂量选择为 2.5、5.0 mg/kg。小鼠经适应性饲养 1 周后, 随机分为空白组、模型组、SASP 组 (200 mg/kg) 和 TAN 组 (2.5、5.0 mg/kg), 每组 6 只, 除空白组外所有小鼠自由饮用 3% DSS 溶液 7 d 以诱导 UC, 灌胃给予相应剂量药物, 早晚各 1 次。给药期间, 观察小鼠活动状态, 每天称定质量 1 次, 并进行疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分, 通过体质量降低情况、粪便性状及便血情况进行评估^[6], 评分标准见表 1。

表 1 DAI 评分标准

分数/分	体质量降低率/%	粪便性状	隐血/便血
0	0	正常	正常
1	1~5	稀便	血红蛋白阳性
2	5~10	稀便	血红蛋白阳性
3	10~20	稀便	血红蛋白阳性
4	>20	腹泻	便血

2.4 药效评价 小鼠麻醉后打开腹腔取结肠, 测量结肠长度并拍照, 将一部分结肠组织置于 4% 多聚甲醛固定中 2 d, 石蜡包埋后切片, 行常规 HE 染色, 于显微镜下观察结肠组织病理形态变化并评分, 对炎症程度、中性粒细胞和淋巴组织浸润、杯状细胞损伤程度等多个指标进行综合评价^[16], 评价标准见表 2; 其余结肠组织于液氮中冷冻保存。

p-NF-κB、IκBα、p-IκBα、β-actin 一抗, 再孵育二抗, 最后进行发光和显影。

2.7 统计学分析 通过 GraphPad Prism 7.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析及 Tukey's HSD 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 TAN 化学成分分析 从 TAN 中初步分离得到 4 种单体生物碱成分, 并与浙江大学生物工程学院张琳教授团队合作对其进行结构鉴定, 见图 1。通过对其光谱数据 (核磁共振和质谱) 与文献 [16] 报道的数据进行比较, 鉴定为 nigellamine B3 (**1**)、nigellamine A3 (**3**)、nigellamine B1 (**6**) 和 glandulamine A (**9**), 纯度均>95%。在此基础上结合精确分子量以及二级质谱裂解规律, 对其他 7 种 TAN 单

体成分的结构进行了推测，分别为 glandulamine B (2)、(7)、nigeglamine (8)、nigellamine A2 (10) 和 nigellamine glandulamine C (4)、nigellamine B2 (5)、glandulamine D A1 (11)。

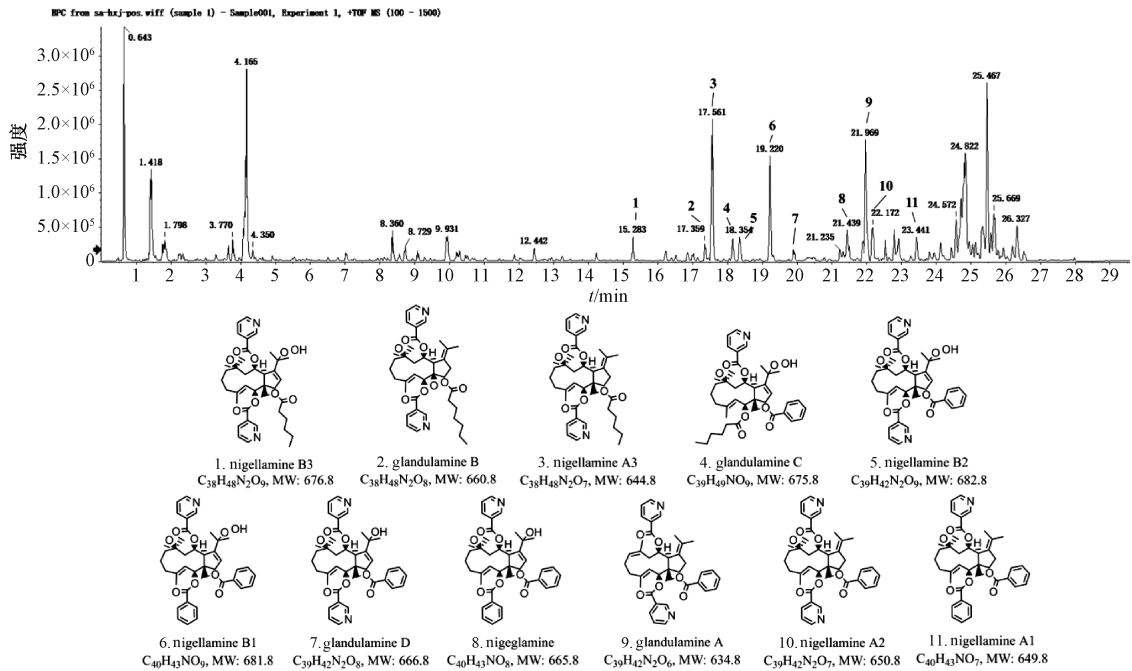
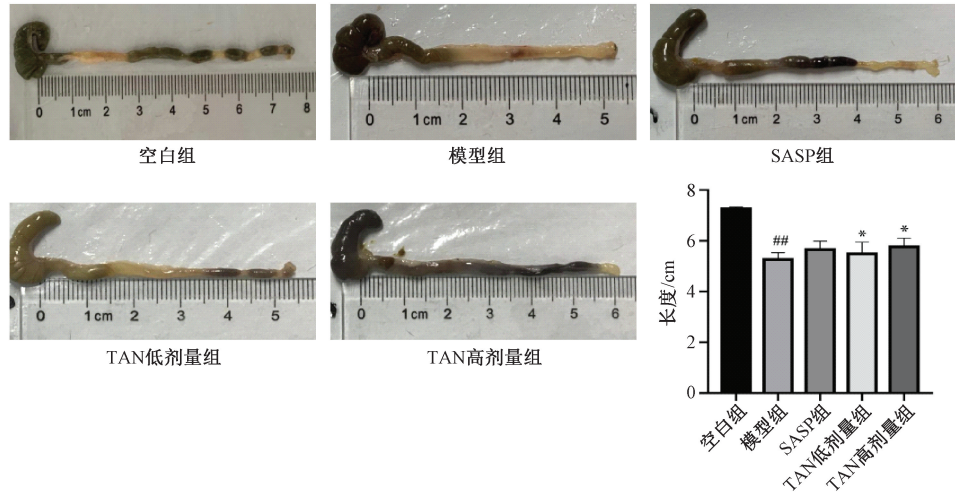


图 1 TAN 中主要单体成分结构和峰归属

3.2 TAN 对 DSS 诱导 UC 小鼠结肠长度的影响 如图 2 所示，与空白组比较，模型组小鼠结肠长度缩短 ($P<0.01$)；与模型组比较，TAN 各剂量组小鼠结肠长度增加 ($P<0.05$)，SASP 组小鼠结肠长度也有所增加，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

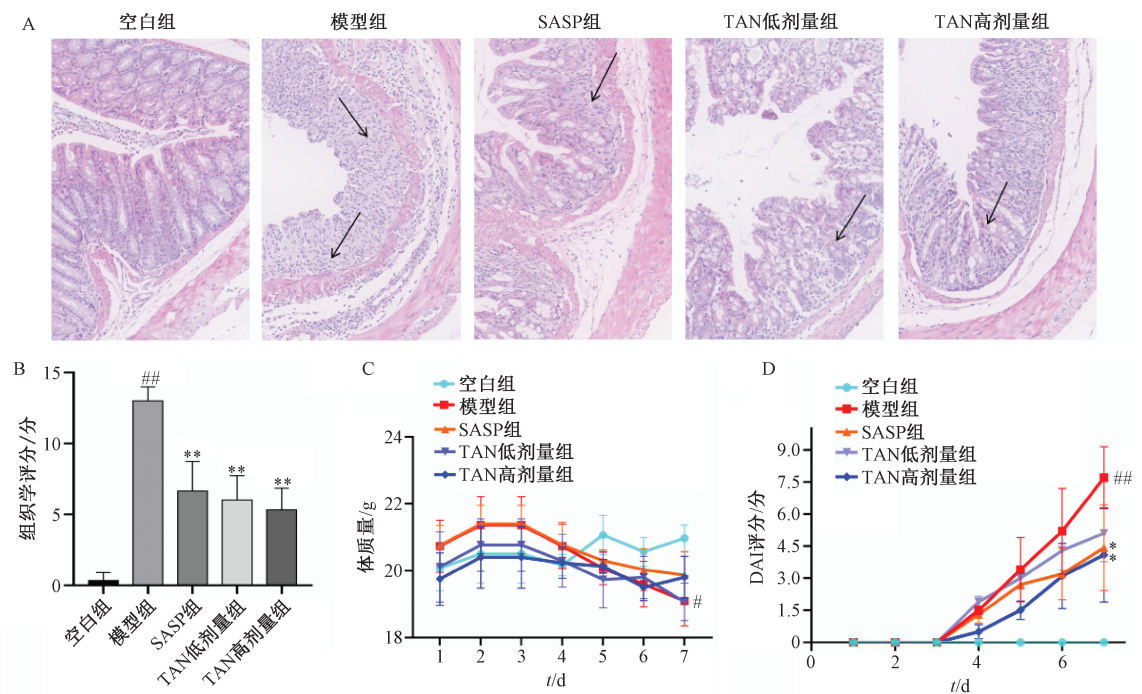


注：与空白组比较，## $P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ 。

图 2 TAN 对 DSS 诱导 UC 小鼠结肠长度的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

3.3 TAN 对 DSS 诱导 UC 小鼠体质量、DAI 评分和结肠病理组织的影响 正常组小鼠结肠上皮组织完整，组织结构正常，腺体排列规则，无炎性细胞浸润；模型组小鼠结肠组织黏膜层不完整，腺体不规则，且有许多炎症细胞浸润；与模型组比较，SASP 组和 TAN 各剂量组小鼠结肠组织炎性细胞浸润减少，组织更完整，腺体排列规则，见图 3A。与空白组比较，模型组小鼠结肠组织学评分升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，SASP 组和 TAN 各剂量组小鼠结肠组织学评分降低 ($P<0.01$)，见图 3B。与空白组比较，模型组小鼠体质量降低 ($P<0.05$)；与模型组比较，各给药组小鼠体质量无明显变化 ($P>0.05$)，见图 3C。与空白组比较，模型组小鼠 DAI 评分升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，SASP 组和 TAN 高剂量组小鼠 DAI 评分降低 ($P<0.05$)，见图 3D。

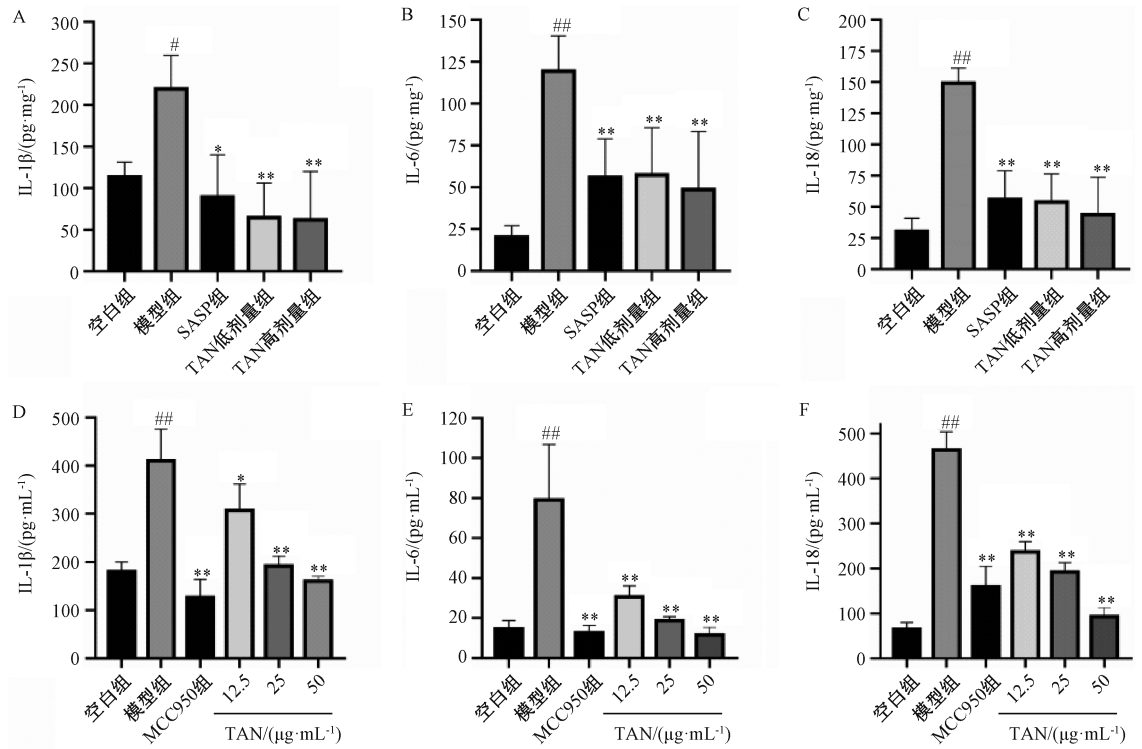
3.4 TAN 对 UC 小鼠结肠组织和 THP-1 细胞上清液中炎症因子水平的影响 与空白组比较，模型组小鼠结肠组织 IL-



注：A 中箭头指示为 UC 的特征病理变化，包括黏膜层不完整、腺体不规则、有许多炎症细胞浸润等。与空白组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图 3 TAN 对 DSS 诱导 UC 小鼠体质量、DAI 评分和结肠病理组织的影响 ($\times 200$, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

1β 、IL-18、IL-6 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，SASP 组和 TAN 各剂量组小鼠结肠组织 IL-1 β 、IL-18、IL-6 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 4A~4C。与空白组比较，模型组小鼠细胞上清液 IL-1 β 、IL-18、IL-6 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，MCC950 组和 12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ TAN 组小鼠细胞上清液 IL-1 β 、IL-18、IL-6 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 4D~4F，进一步证实了 TAN 的抗炎活性。

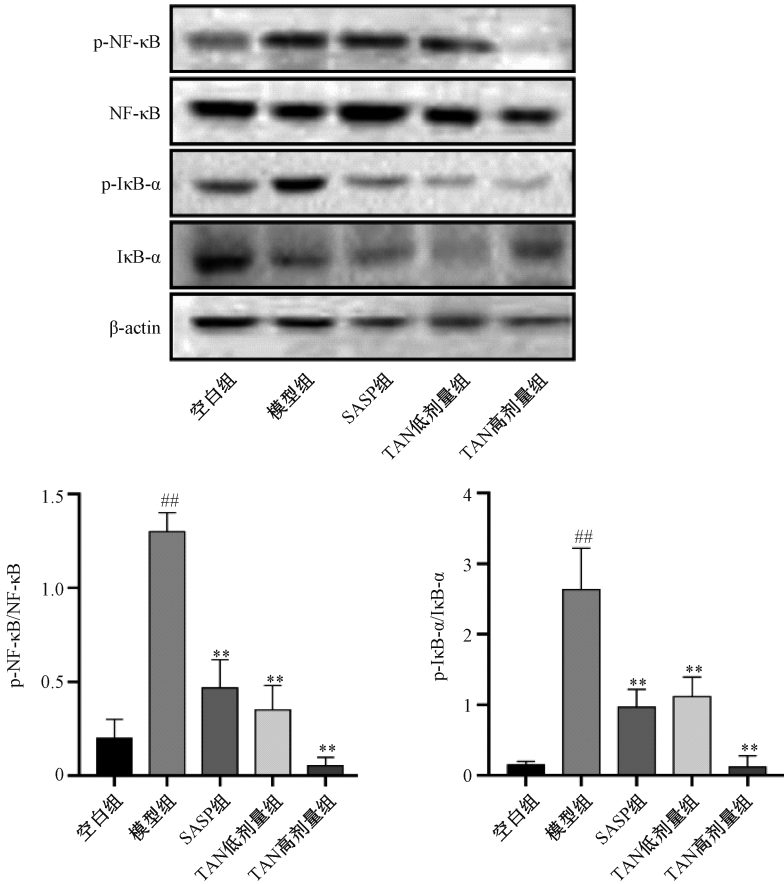


注：与空白组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图 4 TAN 对 UC 小鼠结肠组织和 THP-1 细胞上清液中炎症因子水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

3.5 TAN 对 DSS 诱导 UC 小鼠结肠组织 NF-κB 通路相关蛋白表达的影响 如图 5 所示,与空白组比较,模型组小鼠结肠组织 p-NF-κB p65/NF-κB p65 和 p-IκBα/IκBα 比值升高 ($P<0.01$);与模型组比较,SASP 组和 TAN 各剂量组小鼠

结肠组织 p-NF-κB p65/NF-κB p65 和 p-IκBα/IκBα 比值降低 ($P<0.01$)。结果表明,抑制 NF-κB 信号通路激活可能是 TAN 和 SASP 发挥抗炎和抗 UC 的作用机制之一。



注:与空白组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$ 。

图 5 TAN 对 DSS 诱导 UC 小鼠结肠组织 NF-κB 通路的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

4 讨论

目前,已发现很多种天然生物碱类成分具有抗 UC 的活性,如异喹啉生物碱巴马汀^[9]、苦参总生物碱^[17]、刺槐生物碱^[18]等。本研究成功从 TAN 中分离得到 4 种单体生物碱成分,并鉴定出 11 种,首次发现并证实了 TAN 对 UC 的潜在治疗价值和开发潜力。另外,生物碱类化合物通常具有较低的毒性,且黑种草子是一种常见的药食两用的药物,本研究发现,在 200 mg/kg TAN 作用下未显示出任何毒性,表明其安全性较好,值得进一步开发。本研究证实,TAN 具有类似于 SASP 的抗 UC 活性,并可降低 DSS 诱导的 UC 小鼠疾病指数,延长结肠长度,减轻病理损伤,降低结肠中炎症因子(IL-1β、IL-6 和 IL-18)水平。另外,体外炎症模型亦初步证实了其抗炎活性。

前期已有报道提示,黑种草子提取物具有一定的抗炎活性,可能是通过作用于 NF-κB 等信号通路发挥作用^[19-23],由此推测,TAN 对 UC 的改善作用可能也与其抑制 NF-κB 信号通路的激活有关。NF-κB 通路在炎症、细胞存活、凋亡、增殖、肿瘤发生和其他癌症相关疾病的控制

中均发挥着关键作用,激活可诱导 DSS 诱导的 UC 小鼠产生炎症细胞因子^[7]。本研究发现,TAN 可通过抑制 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织 NF-κB p65 和 IκBα 的磷酸化,阻断 NF-κB 通路激活,提示其抗 UC 机制是通过抑制 NF-κB 途径介导的。

课题组从体内外两方面验证了 TAN 的抗 UC 活性,分析了 TAN 对促炎细胞因子分泌水平的影响,并通过蛋白表达实验发现该作用可能与抑制 NF-κB 信号通路的激活有关,但具体而深层次的抗炎机制尚未进行研究;虽然成功地分离得到了 11 种 TAN 单体成分,但其抗 UC 作用及相关作用机制仍有待研究。

综上所述,本研究对黑种草子中 TAN 单体成分进行了分离及系统的化学成分分析,发现了一些具有较高纯度者可用于后续研究。同时,首次在 DSS 诱导的小鼠体内证实了 TAN 具有与 SASP 类似的抗 UC 活性,包括改善体质量减轻、疾病指数升高、结肠缩短、病理损伤和肠黏膜完整性等,可能与其抑制 NF-κB 信号通路的激活,并进一步抑制促炎细胞因子分泌相关。上述结果扩大了 TAN 在抗炎领域

的应用范围，可能具有预防和治疗 UC 和其他肠道炎症性疾病的潜力。

参考文献:

[1] Luo H, Cao G Q, Luo C, *et al.* Emerging pharmacotherapy for inflammatory bowel diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 178: 106146.

[2] Wang G Q, Tang H Y, Zhang Y, *et al.* The intervention effects of *Lactobacillus casei* LC2W on *Escherichia coli* O157: H7-induced mouse colitis [J]. *Food Sci Hum Well*, 2020, 9 (3): 289-294.

[3] Ng S C, Bernstein C N, Vatn M H, *et al.* Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2013, 62 (4): 630-649.

[4] Antunes J C, Seabra C L, Domingues J M, *et al.* Drug targeting of inflammatory bowel diseases by biomolecules [J]. *Nanomaterials*, 2021, 11 (8): 2035.

[5] Ding P H, Liu J J, Li Q Y, *et al.* Investigation of the active ingredients and mechanism of Hudi Enteric-Coated Capsules in DSS-induced ulcerative colitis mice based on network pharmacology and experimental verification [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 4259-4273.

[6] Hu X J, Xu N N, Yang X, *et al.* *Nigella A* ameliorates inflammation and intestinal flora imbalance in DSS induced colitis mice [J]. *AMB Express*, 2020, 10 (1): 1-10.

[7] Zhang Q, Xu N N, Hu X J, *et al.* Anti-colitic effects of Physalin B on dextran sodium sulfate-induced BALB/c mice by suppressing multiple inflammatory signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 259: 112956.

[8] Cui M X, Zhang M, Liu K H. Colon-targeted drug delivery of polysaccharide-based nanocarriers for synergistic treatment of inflammatory bowel disease: A review [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 272: 118530.

[9] Zhang X J, Yuan Z W, Qu C, *et al.* Palmatine ameliorated murine colitis by suppressing tryptophan metabolism and regulating gut microbiota [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 137: 34-46.

[10] Zhang Q Q, Zuo Y, Xu M L. The correlation of serum Vaspin, S100A12 and PCT levels with the severity of ulcerative colitis and its clinical significance [J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13 (7): 7914-7920.

[11] Caballol B, Gudino V, Panes J, *et al.* Ulcerative colitis: shedding light on emerging agents and strategies in preclinical and early clinical development [J]. *Expert Opin Investig Drugs*,

2021, 30 (9): 931-946.

[12] Zhang X, Liu X T, Zhou W, *et al.* Blockade of IDO-Kynurenine-AhR axis ameliorated colitis-associated colon cancer *via* inhibiting immune tolerance [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 12 (4): 1179-1199.

[13] Aikemu A, Xiaerfuding X, Shiwenhui C, *et al.* Immunomodulatory and anti-tumor effects of *Nigella glandulifera* freyn and sint seeds on ehrlich ascites carcinoma in mouse model [J]. *Pharmacogn Mag*, 2013, 9 (35): 187-191.

[14] Li X D, Wu X, Wang Q, *et al.* Sanguinarine ameliorates DSS induced ulcerative colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and modulating intestinal microbiota in C57BL/6 mice [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154321.

[15] Martin-Gallausiaux C, Larraufie P, Jarry A, *et al.* Butyrate produced by commensal bacteria down-regulates indolamine 2, 3-dioxygenase 1 (IDO-1) expression *via* a dual mechanism in human intestinal epithelial cells [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2838.

[16] Gao J B, Zhang X J, Zhang R H, *et al.* *In vitro* human dihydroorotate dehydrogenase inhibitory, anti-inflammatory and cytotoxic activities of alkaloids from the seeds of *Nigella glandulifera* [J]. *Planta Med*, 2018, 84 (14): 1013-1021.

[17] Wu X, Xu N N, Ye Z Q, *et al.* Polysaccharide from *Scutellaria barbata* D. Don attenuates inflammatory response and microbial dysbiosis in ulcerative colitis mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 206: 1-9.

[18] Wangchuk P, Navarro S, Shepherd C, *et al.* Diterpenoid alkaloids of *Aconitum laciniatum* and mitigation of inflammation by 14-*O*-acetylneoline in a murine model of ulcerative colitis [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12845.

[19] 于世博, 孔祥耀, 陈明翠, 等. 维药黑种草子对急性乙醇性肝损伤小鼠保护作用及抑制 NF-κB 炎症反应信号通路的研究 [J]. 世界中医药, 2016, 11 (9): 1831-1834.

[20] 耿东升, 李学强, 陈雪莲, 等. 瘤果黑种草子提取物对慢性阻塞性肺病大鼠模型肺部炎症的影响 [J]. 中成药, 2014, 36 (8): 1758-1761.

[21] 耿东升, 赵雪飞, 陈雪莲. 瘤果黑种草子挥发油抗炎、祛痰药理作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34 (8): 605-607.

[22] 耿东升, 赵丽萍, 史荣梅, 等. 维药瘤果黑种草子总皂苷镇咳祛痰及抗炎作用研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2013, 36 (7): 908-911.

[23] 李雅丽, 王增尚, 刘 博, 等. 黑种草子化学成分和药理研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2016, 51 (14): 1157-1161.