

· 研究报告 ·

Wentilactone A 的遗传毒性评价

侍雯婧^a, 田逸君^a, 黄才国^b, 朱玉平^a, 严 朗^a, 郑怡文^a (海军军医大学: a. 海军医学系卫生毒理学教研室; b. 基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 检测 Wentilactone A 的遗传毒性。方法 应用经典遗传毒性检测组合 (Ames 试验、体外培养 CHO 细胞染色体畸变试验和小鼠骨髓微核试验) 检测 Wentilactone A 的遗传毒性。结果 Ames 试验结果提示, Wentilactone A 在每皿 5 000、500、50、5、0.5 μg 5 个剂量下, 在加和不加代谢活化系统 (S9) 时, 对鼠伤寒沙门菌均无致突变性。CHO 细胞染色体畸变试验结果提示, 在终浓度 23.74、47.48、94.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 3 个剂量组, 在加和不加 S9 中, 于作用 4 h 和 24 h 的条件下培养的 CHO 细胞, 均未诱发染色体畸变。小鼠骨髓微核试验在 100、200、400 mg/kg 3 个剂量下作用 24 h 以及 400 mg/kg 剂量下作用 48 h 对骨髓细胞的微核诱发率, 与溶剂对照组比较均无显著差异 ($P>0.05$)。结论 Wentilactone A 对鼠伤寒沙门菌无致突变性, 对 CHO 细胞的染色体无致畸变作用, 对 ICR 小鼠无诱发骨髓细胞微核的效应。上述结果提示 Wentilactone A 不具有遗传毒性和潜在致癌性。

[关键词] Wentilactone A; Ames 试验; 染色体畸变试验; 微核试验; 遗传毒性

[中图分类号] R734.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2020)06-0533-06

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202004089

Genotoxicity evaluation of Wentilactone A

SHI Wenjing^a, TIAN Yijun^a, HUANG Caiguo^b, ZHU Yuping^a, YAN Lang^a, ZHENG Yiwen^a (a. Department of Hygiene and Toxicology, School of Naval Medicine; b. Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the genetic toxicity of Wentilactone A. **Methods** The classical genotoxicity test combination (Ames test, in vitro CHO cell chromosome aberration test and mouse bone marrow micronucleus test) was used to detect the genotoxicity of Wentilactone A. **Results** Ames test suggested that Wentilactone A was not mutagenic against *Salmonella typhimurium* with or without the metabolic activation system (S9) at five doses of 5 000, 500, 50, 5, and 0.5 $\mu\text{g}/\text{dish}$. CHO cell chromosome aberration test suggested that the CHO cells cultured in 4 h and 24 h did not induce chromosomal aberrations in three dose groups at the final concentration of 23.74, 47.48, 94.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$, with and without S9. The mouse bone marrow micronucleus test showed no significant difference in the bone marrow micronucleus induction rate of cells at three doses of 100, 200, and 400 mg/kg treated for 24 h and at dose of 400 mg/kg treated for 48 h compared with the solvent control group ($P>0.05$). **Conclusion** These results indicated that Wentilactone A did not exhibit genetic toxicity based on the Ames test, CHO chromosomal aberration test and micronucleus assay. It was suggested that Wentilactone A had no genetic toxicity and potential carcinogenicity.

[Key words] Wentilactone A; Ames test; chromosomal aberration test; micronucleus assay; genetic toxicity

Wentilactone A (WA) 是从海洋微生物中分离得到的去甲二萜类小分子化合物, 对小细胞肺癌细胞系 NCI-H460 和 NCI-H446 细胞的增殖具有抑制作用, 可诱导小细胞肺癌细胞系 NCI-H446 和 NCT-H1688 细胞凋亡^[1]。对小细胞肺癌细胞系 NCT-H1688 细胞的细胞迁移和集落形成

具有抑制作用^[2]。WA 作为一种有效抗肿瘤候选物, 已从制备工艺、理化性质、急性毒性、生殖毒性等方面证明其良好的成药性^[3]。遗传毒性安全性实验更是对其临床前研究全面性的补充, 为提高临床用药的安全性, 为了验证其是否具有遗传毒性, 本实验应用微生物回复突变试验 (Ames 试验)、体外培养 CHO 细胞染色体畸变试验和小鼠骨髓微核试验方法对 WA 的遗传毒性进行了系统的研究, 为 WA 的临床前毒性评价提供资料^[4]。

[作者简介] 侍雯婧, 本科, 助教, 研究方向: 特殊毒理学、药物安全性评价, Email: swjmmjj@163.com

[通信作者] 郑怡文, 讲师, Email: yiwenzheng@sina.com, Tel: (021)81871027

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 化合物 WA

Ames 试验用 WA(含量:99.9%,批号:20121115,黄色粉末)、体外培养 CHO 细胞染色体畸变试验用(规格:10 ml,含量:50.8 mg/ml,批号:20130506,黄色澄清溶液)、小鼠骨髓微核试验用 WA(规格:10 ml/支:100mg,含量:10.2 mg/ml,批号:20130407,黄色澄清溶液),均由海军军医大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室提供。WA 的化学结构见图 1。

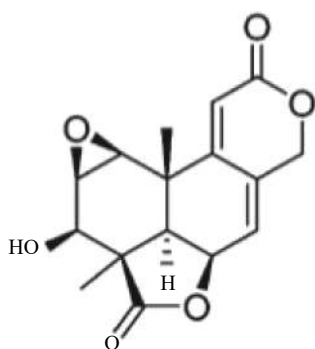


图 1 Wentilactone A 的结构式

1.1.2 菌株

组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门菌(*S. typhimurium*) TA97、TA98、TA100、TA102 和 TA1535 共 5 支菌株,复旦大学公共卫生学院环境卫生教研室赠予。实验前对其进行鉴定(R 因子和自发回变数鉴定),均符合规定标准。

1.1.3 细胞

中国仓鼠卵巢(CHO)细胞由复旦大学公共卫生学院毒理教研室赠予。

1.1.4 动物

ICR 小鼠(SPF 级)共 60 只,每组 10 只,雌雄各半,5~6 周龄,购入时体重 16.5~20.8 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,动物质量合格证号:2008001629237。自购入起 3 天进行检疫,给药时体重 20.3~23.6 g。

1.2 试验方法

按《新药(西药)临床前研究指导原则汇编》^[5-6]的设计要求,分别应用 Ames 试验^[7]、体外培养 CHO 细胞染色体畸变试验^[8]和小鼠骨髓微核试验^[9]检测 WA 的遗传毒性。检测终点覆盖了基因突变、染色体畸变和细胞有丝分裂异常。

1.3 实验步骤

1.3.1 Ames 实验

根据《药物遗传毒性研究技术指导原则》的要

求,应用 *S. typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA102 和 TA1535 共 5 支菌株,设每皿 5 000、500、50、5、0.5 μg 5 个剂量组。此外,设空白对照、溶剂对照和阳性对照组(具体剂量见表 1)。采用标准平板掺入法,使细菌在加和不加代谢活化系统 S9 的条件下接触受试物,每皿均加入供试品或溶剂对照 DMSO 0.1 ml,每个剂量组及对照组均设 3 个平行皿。并用最低极限的琼脂培养基培养 48 h 后,先用显微镜观察平皿上的菌苔生长情况,确定受试物无明显的抑菌或杀菌作用,再人工计数每皿回复突变的菌落数,记录原始数据,并计算每组的均值和标准差,与溶剂对照组进行比较,重复实验一次。

表 1 阳性对照品名称及浓度

组别	菌株	阳性对照品	溶液终浓度 ($\mu\text{g}/\text{皿}$)	加入量 ($\mu\text{l}/\text{皿}$)	浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
-S9组	TA97	敌克松	50	100	500
	TA98	敌克松	50	100	500
	TA100	甲基磺酸甲酯	1	100	10
	TA102	甲基磺酸甲酯	1	100	10
	TA1535	4-硝基喹啉-N-氧化物	0.5	100	5
+S9组	TA97	2-氨基苄	10	100	100
	TA98	2-氨基苄	10	100	100
	TA100	2-氨基苄	10	100	100
	TA102	1,8-二羟基蒽醌	50	100	500
	TA1535	环磷酰胺	50	100	500

1.3.2 染色体畸变试验

在加和不加代谢活化系统 S9 的条件下,体外培养的 CHO 细胞中加入相应浓度的供试品或对照品,反应体系总体积为 10 ml。低、中、高剂量组供试品终浓度分别为 23.74、47.48 和 94.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$,阳性对照组丝裂霉素 C 和环磷酰胺的终浓度分别为 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、60 $\mu\text{g}/\text{ml}$,另设溶剂对照组分别作用于细胞 4 h 后换液继续培养至 24 h,和药物作用细胞 24 h 后收集细胞。收获细胞前 4 h,加入终浓度 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 秋水仙素,培养结束收集细胞,经离心、低渗处理、固定、离心、制片和 Giemsa 染色,每个剂量组制备 2~3 张玻片标本。

镜检时每组观察 200 个染色体中分散良好、数目完整的中期分裂相细胞(若观察到大量染色体畸变细胞,如阳性对照组,分析细胞数可相应减少为至少 100 个细胞)。计数染色体或染色单体的断裂、缺失及其他类型结构异常的数目(裂隙和核内

复制一般不作为畸变类型),记录原始数据计算畸变率。

1.3.3 小鼠骨髓微核实验

检疫期结束后分别按低、中、高组小鼠给药,分别予 100、200、400 mg/kg 剂量给药,其中高剂量组设两组分别在药物作用 24 h 和 48 h 后处死,并设阳性对照组和溶剂对照组。分别在药物作用 24 h 和 48 h 后处死小鼠,取股骨骨髓制成骨髓涂片,每只动物制 2 张涂片,经甲醇固定后用 pH6.8 的 Giemsa 染液染色。

每只动物镜检约 2000 个骨髓嗜多染红细胞(PCE),计数含微核的 PCE 数(MNPCE),计算微核发生率,同时记录 200 个 PCE 计数过程中观察到的正染红细胞(NCE)的数目,并计算 PCE/NCE 值。

1.4 剂量设计

对于易溶无毒的化合物,细菌实验最高浓度应达到 5 mg/ml^[10]。Ames 试验设每皿 5 000、500、50、5、0.5 μg 5 个剂量组,每皿均加入相应浓度的供试品溶液 0.1 ml,另设空白对照、溶剂对照和阳性对照。在哺乳动物细胞体外遗传实验中,毒性水平应高于 50% 细胞抑制率或细胞融合率^[11]。通过预实验确定供试品的 IC₅₀ 为 94.96 μg/ml。染色体畸变试验的低、中、高剂量组为 23.74、47.48 和 94.96 μg/ml,试验时在 10 ml 的试验体系中分别加入 0.1 ml 各剂量组的应用液,另设阳性对照组和溶剂对照。ICR 小鼠的微核试验采用小鼠经尾静脉注射给药,总剂量分别为 100、200、400 mg/kg(单次给药剂量分别为 50、100、200 mg/kg,分上、下午两次经尾静脉注射给药),给药容积为 20 ml/kg 体重;同时设阳性对照组和溶剂对照组。阳性对照组以 40 mg/kg 体重的剂量腹腔注射环磷酰胺,给药容积为 10 ml/kg 体重;溶剂对照组给药方式与受试物组相同,以 20 ml/kg 体重的容积经尾静脉注射生

理盐水。

1.5 统计方法

Ames 试验结果的评价是以溶剂对照组的回复突变菌落数为基础,与受试物各剂量组相比较。若某剂量组回复突变菌落数为溶剂对照组的 2 倍以上,呈现可重复性,并在一定的剂量范围内存在着剂量-反应关系,则判断为阳性^[12]。染色体畸变试验和小鼠骨髓微核试验均采用卡方检验或方差分析方法研究给药组与对照组之间是否具有统计学意义^[13]。

2 结果与分析

2.1 Ames 试验结果

受试物各剂量组和对照组的平皿均可见背景菌苔生长。5 支菌株的自发回复突变菌落数以及阳性对照品诱发的回复突变菌落数均在历史参考范围内,并且各菌株阳性对照组的回复突变菌落与空白对照组相比数目显著增加,提示本试验系统符合要求。在最高剂量已达到 5 000 μg/ml 的受试条件下,未观察到受试物的抑菌现象。各剂量组受试物在加或不加 S9 时对 TA97、TA98、TA100、TA102 和 TA1535 所诱发的回复突变菌落数均与自发的突变菌落数相近,未观察到明显的剂量-反应关系。结果见表 2 和表 3。

2.2 染色体畸变试验结果

染色体分析结果显示,阳性对照组能够诱发受试细胞染色体的畸变率明显增高,24 h 在 +S9 和 -S9 的情况下染色体畸变率分别为 11% 和 11%,与溶剂对照组相比,均有统计学差异 ($P < 0.05$); 23.74、47.48 和 94.96 μg/ml 受试物在 24 h、+S9 条件下染色体畸变率分别为 1%、1% 和 0.5%, 24 h、-S9 条件下染色体畸变率分别为 0%、0.5% 和 0%; 4 h、-S9 条件下染色体畸变率分别为 0%、

表 2 WA 对 5 支菌株的回变菌落数试验结果(个/皿, $\bar{x} \pm s$) (第 1 次)

组别(μg/ml)	TA97		TA98		TA100		TA102		TA1535	
	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
5 000	36±5	40±4	21±3	21±2	131±26	93±17	177±21	185±25	25±3	14±2
500	36±5	39±8	17±4	20±3	114±22	90±23	195±8	207±7	23±1	19±1
50	39±10	35±5	21±7	21±3	115±21	97±8	196±33	179±18	19±8	16±4
5	41±6	40±3	21±5	22±4	114±15	87±19	195±21	193±8	19±2	14±1
0.5	37±6	39±3	20±3	19±3	128±15	91±12	201±14	205±14	20±6	16±4
空白对照组	40±7	36±5	17±2	19±4	99±17	89±9	213±30	197±34	21±7	19±4
溶剂对照组	40±6	34±1	22±5	26±2	95±8	89±9	193±8	199±29	23±3	14±1
阳性对照组	839±24	841±47	936±56	1 077±55	968±27	1 111±66	1 101±17	1 024±53	342±44	345±13

0%和0%。综上,受试物各剂量组细胞染色体畸变率均小于5%,与溶剂对照组结果相比,其差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果见表4-6。

2.3 小鼠骨髓微核试验的结果

试验结果经统计学分析表明,WA在100、200、400 mg/kg剂量下未观察到对小鼠骨髓的抑制作用,溶媒对照组和阳性对照组雌、雄性小鼠骨髓PCE微核发生率分别为2.10%和21.36%、1.90%和20.88%,两组相比差异均有统计学意义($P<0.05$),验证了本次试验系统的有效性。WA 100和2000 mg/kg剂量24 h采样组雌、雄小鼠骨髓PCE微核率分别为1.60%和1.80%、1.90%和1.60%;400 mg/kg剂量24 h和48 h采样组雌、雄小鼠骨髓

PCE微核率分别为2.10%和2.80%、2.40%和1.29%,与溶媒对照组相比均无显著差异($P>0.05$)。结果见表7。

3 讨论

沙门菌回复突变试验(Ames试验)被研究者广为采用,该法的特点是快速、简便、敏感、经济,是经典的测试化学物质或药物致突变性实验^[10]。染色体畸变分析是采用中国仓鼠卵巢(CHO)细胞体外培养的方法进行的。CHO细胞在加或不加代谢活化系统的条件下,与受试物接触一定时间后再于收集染色体4 h前用秋水仙碱处理,使细胞的有丝分裂停止在中期相。然后收集细胞,经低渗、固

表3 WA对5支菌株的回变菌落数试验结果(个/皿, $\bar{x}\pm s$) (第2次)

组别($\mu\text{g}/\text{皿}$)	TA97		TA98		TA100		TA102		TA1535	
	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
5 000	38±5	34±5	20±5	21±5	128±24	105±26	179±21	189±19	20±4	20±3
500	39±7	34±3	21±2	20±7	108±13	92±28	192±16	187±30	16±3	19±4
50	38±9	30±3	19±3	18±1	117±14	102±5	197±5	196±22	17±3	18±1
5	37±8	29±4	18±2	17±1	111±5	98±33	206±24	191±21	16±1	20±2
0.5	35±6	33±8	24±2	23±3	107±7	97±8	203±6	193±10	15±4	15±4
空白对照组	38±3	41±4	22±3	23±4	96±12	93±8	205±17	186±19	18±2	18±4
溶剂对照组	38±3	37±8	22±3	23±4	98±7	100±12	202±15	197±10	18±2	19±4
阳性对照组	881±18	876±35	900±11	1 077±111	964±113	996±8	1 024±37	1 011±8	392±8	392±22

表4 WA对24 h体外培养CHO细胞的染色体畸变试验结果(+S9)

组别	观察细胞数(个)	各类染色体畸变数								畸变细胞数(个)	畸变率(%)
		断裂	断片	双着丝粒	三辐体	四辐体	碎片或微小体	环状	多倍体		
23.74 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200	1	1	0	0	0	0	0	1	2	1
47.48 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200	2	2	0	0	0	0	0	0	2	1
94.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5
溶剂对照组	200	200	0	0	0	0	0	3	3	3	1.5
阳性对照组	100	9	0	0	1	3	3	0	0	14	14

注:阳性对照组:+S9、环磷酰胺(60 mg/ml);溶剂对照组:DMSO; * $P<0.05$,与溶剂对照组比较。

表5 WA对24 h体外培养CHO细胞的染色体畸变试验结果(-S9)

组别	观察细胞数(个)	各类染色体畸变数								畸变细胞数(个)	畸变率(%)
		断裂	断片	双着丝粒	三辐体	四辐体	碎片或微小体	环状	多倍体		
23.74 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47.48 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5
94.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
溶剂对照组	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
阳性对照组	100	4	4	0	0	0	0	4	0	12	12*

注:阳性对照组:-S9、丝裂霉素C(0.5 mg/ml);溶剂对照组:DMSO; * $P<0.05$,与溶剂对照组比较。

表6 WA对4h体外培养CHO细胞的染色体畸变试验结果(-S9/4h)

组别	观察细胞数(个)	各类染色体畸变数								畸变细胞数(个)	畸变率(%)
		断裂	断片	双着丝粒	三辐体	四辐体	碎片或微小体	环状	多倍体		
23.74 μg/ml	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47.48 μg/ml	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
94.96 μg/ml	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
溶剂对照组	200										
阳性对照组											

* P<0.05, 与溶剂对照组比较。

表7 WA对小鼠骨髓嗜多染红细胞的微核效应试验结果

组别	性别	动物数(只)	观察PCE数(个)	PCE/NCE($\bar{x}\pm s$)	微核率($\bar{x}\pm s, \%$)
100 mg/kg	雌	5	10 020	2.40±0.89	1.60±0.96
200 mg/kg	雌	5	10 010	1.63±0.40	1.80±1.31
400 mg/kg (24 h采样)	雌	5	10 016	1.95±0.40	2.10±1.20
400 mg/kg (48 h采样)	雌	5	10 009	1.58±0.44	2.80±1.81
溶媒对照组	雌	5	10 009	2.37±0.69	2.10±1.20
阳性对照组	雌	5	9 095	2.18±0.30	21.36±7.84*
100 mg/kg	雄	5	10 016	1.56±0.30	1.90±1.28
200 mg/kg	雄	5	10 009	1.52±0.28	1.60±0.70
400 mg/kg (24 h采样)	雄	5	10 006	1.40±0.73	2.40±2.01
400 mg/kg (48 h采样)	雄	5	8 802	1.43±0.63	1.29±1.26
溶媒对照组	雄	5	9 029	2.13±0.58	1.90±1.45
阳性对照组	雄	5	10 011	1.62±0.42	20.88±4.94*

* P<0.05, 与溶剂对照组比较。

定、涂片和染色后,在显微镜下观察染色体数量和结构的改变,检测受试物的诱变性^[7]。微核试验是检测化合物对染色体损伤作用的重要方法。凡能使染色体发生断裂或使染色体和纺锤体联结损伤的化合物,微核试验都可检测^[8]。

本研究采用遗传毒性研究经典组合的方法,分别从原核系统到真核系统,从体外试验系统到体内试验系统,体外试验中包含了加与不加代谢活化系统,能检测基因突变、染色体畸变等多个遗传学终点,符合国际标准化的要求^[5-6]。

本研究结果显示,本试验条件下,采用标准平板掺入法,WA在每皿5 000、500、50、5、0.5 μg的受试剂量下,加或不加S9时对组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门菌均无致突变性;对CHO细胞,在23.74、47.48、94.96 μg/ml 3个剂量组,加或不加S9,于24 h和48 h诱发的细胞染色体畸变率均小于5%,与溶剂对照组结果相比较其差异均无统计学意义(P>0.05),表明WA在受试剂量下无致CHO细胞

染色体畸变效应;WA在100、200、400 mg/kg 3个剂量下,对ICR小鼠的微核诱发率与溶剂对照组比较均无显著差异,表明其在受试剂量下对ICR小鼠无致微核效应^[14]。上述结果提示WA没有遗传毒性和潜在致癌性。

此前有文献表明WA对小细胞肺癌的增殖有抑制作用,但对于遗传毒性未见报道。本研究对降低WA在研发过程中用于临床试验和疾病治疗的用药风险发挥重要作用。

【参考文献】

- [1] 姜文丽. Wentilactone A对小细胞肺癌增殖抑制和诱导凋亡的分子机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2016. DOI:CNKI:CDMD:2.1016.327748
- [2] 姜文丽, 黄才国. Wentilactone A抑制小细胞肺癌系NCI-H1688细胞的迁移研究[J]. 药学实践杂志, 2016, 34(3): 219-222.
- [3] LV C, HONG Y, MIAO L, et al. Wentilactone A as a novel potential antitumor agent induces apoptosis and G2/M arrest of human lung carcinoma cells, and is mediated by HRas-GTP accu-

- mulation to excessively activate the Ras/Raf/ERK/p53-p21 pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e952.
- [4] 田逸君, 郑怡文, 朱玉平, 等. 雷公藤内酯醇的遗传毒性评价[J]. *药实践杂志*, 2016, 34(3): 215-218.
- [5] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编(药理学, 药理学, 毒理学)[S]. 1993.
- [6] 周海钧主译. ICH 药品注册的国际技术要求(安全性部分)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 37-61.
- [7] OECD. Test Guidance 471. Bacterial Reverse Mutation Test. In: OECD Guidance For Testing of Chemicals[S]. Paris: Organization for Economic Cooperation & Development. 1997.
- [8] OECD. Test Guidance 474. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. In: OECD Guidance for Testing of Chemicals [S]. Paris: Organization for Economic Cooperation & Development. 1997.
- [9] OECD. Test Guidance 473. In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test In: OECD Guidance for Testing of Chemicals [S]. Paris: Organization for Economic Cooperation & Development. 1997.
- [10] 国家食品药品监督管理局. 药物遗传毒性研究技术指导原则 ([ZH] GPT2-1)[S]. 2007.
- [11] MORTELMANS K, ZEIGER E. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay[J]. *Mutat Res*, 2000, 455(1-2): 29-60.
- [12] 田逸君. 雷公藤内酯醇的遗传毒性研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2016.
- [13] 田逸君, 张天宝, 朱玉平, 等. 聚乙二醇修饰降纤酶的遗传毒性评价[J]. *中国新药与临床杂志*, 2012, 31(5): 281-284.
- [14] 田逸君. HDZ-137的遗传毒性评价(摘要) [C]. 2016年第六届全国药物毒理学年会. 2016-06-28.
- [收稿日期] 2020-04-16 [修回日期] 2020-06-02
[本文编辑] 李春德

(上接第 491 页)

- [8] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [9] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(w1): W357-W364.
- [10] UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: D506-D515.
- [11] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.
- [12] STERLING T, IRWIN J J. ZINC 15: ligand discovery for everyone[J]. *J Chem Inf Model*, 2015, 55(11): 2324-2337.
- [13] GOODSELL D S, ZARDECKI C, DI COSTANZO L, et al. RCSB Protein Data Bank: Enabling biomedical research and drug discovery[J]. *Protein Sci*, 2020, 29(1): 52-65.
- [14] CHEN C N, LIN C P, HUANG K K, et al. Inhibition of SARS-CoV 3C-like protease activity by theaflavin-3, 3'-digallate (TF3)[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2005, 2(2): 209-215.
- [15] MENACHERY V D, YOUNT B L Jr, DEBBINK K, et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence[J]. *Nat Med*, 2015, 21(12): 1508-1513.
- [16] NGUYEN N T, NGUYEN T H, PHAM T N H, et al. Autodock vina adopts more accurate binding poses but Autodock4 forms better binding affinity[J]. *J Chem Inf Model*, 2020, 60(1): 204-211.
- [17] HSIN K Y, MATSUOKA Y, ASAI Y, et al. systemsDock: a web server for network pharmacology-based prediction and analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(w1): W507-W513.
- [18] WANG C, HORBY P W, HAYDEN F G, et al. A novel coronavirus outbreak of global health concern[J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 470-473.
- [19] 林伯良. 小柴胡汤证的研究[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1959: 23.
- [20] 邓翠娟. 探究荆防败毒散加减配合拔罐治疗风寒感冒的临床效果[J]. *内蒙古中医药*, 2017, 36(14): 42-43.
- [21] 李丽, 陈玉婷, 曾希. RelA/p65的磷酸化调节及其与肿瘤的关系[J]. *中南医学科学杂志*, 2018, 46(2): 216-220.
- [22] 冯馨锐, 崔雨舒, 何志涛, 等. 肿瘤坏死因子- α 的生物学功能研究进展[J]. *吉林医药学院学报*, 2019, 40(1): 66-68.
- [23] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273.
- [24] 齐阳, 黄爱文, 宋洪涛. 血管紧张素转换酶2抗新冠病毒药理作用机制的研究进展[J/OL]. *中国医院药学杂志*: 1-5[2020-07-14]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1204.R.20200420.1846.047.html>.
- [25] 张启燕, 张文会, 肖军海, 等. 3C和3CL蛋白酶及广谱抑制剂的研究进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2016, 43(3): 425-430.
- [26] ZHANG L L, LIN D Z, SUN X, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors[J]. *Science*, 2020, 368(6489): 409-412.
- [27] 张泽鑫, 吴汶丰, 谢丹, 等. 基于网络药理学和分子对接分析达原饮治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的分子靶点和机制[J/OL]. *中药材*: 1-8[2020-05-14]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1286.R.20200511.1748.002.html>.
- [28] 詹群璋, 黄英杰, 林树红, 等. 基于网络药理学和分子对接的玉屏风散预防新型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物的研究[J]. *中草药*, 2020, 51(7): 1731-1740.
- [收稿日期] 2020-05-26 [修回日期] 2020-10-16
[本文编辑] 陈盛新