

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.23.002

四氢嘧啶类化合物 XD-7006 的抗炎活性及其作用机制*

夏 鸿, 杨 梦, 黄 华, 张玲华, 丁文文[△]

(荆楚理工学院医学院, 湖北 荆门 448000)

摘要:目的 探讨四氢嘧啶类化合物 XD-7006(1,3-二正丁基-1,2,3,6-四氢嘧啶-4,5-二甲酸二乙酯)的抗炎活性及其作用机制。方法 采用二甲苯诱导小鼠耳廓肿胀模型及角叉菜胶激发的大鼠足趾肿胀模型,观察化合物 XD-7006 体内抗炎活性;采用脂多糖(LPS)刺激 RAW264.7 巨噬细胞作为体外炎症模型,探讨化合物 XD-7006 体外对 RAW264.7 巨噬细胞分泌炎症相关因子一氧化氮(NO)和前列腺素 E₂(PGE₂)的影响;采用免疫印迹(Western Blot)法检测 RAW264.7 细胞的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧合酶-2(COX-2)蛋白表达。结果 化合物 XD-7006 在给药剂量为 80 mg/kg 和 40 mg/kg 时均能不同程度地抑制二甲苯诱导的小鼠耳廓肿胀和角叉菜胶激发的大鼠足趾肿胀,差异有统计学意义($P < 0.05$);化合物 XD-7006 在给药浓度为 40, 20, 10 $\mu\text{mol/L}$ 时均能抑制 RAW264.7 巨噬细胞 NO 和 PGE₂ 的分泌,并抑制 iNOS 和 COX-2 蛋白的表达。结论 经体内外实验证实,化合物 XD-7006 具有抗炎活性,其抗炎机制是通过抑制 iNOS 和 COX-2 的酶活性,使炎症相关因子 NO 和 PGE₂ 分泌减少。

关键词:四氢嘧啶类化合物;抗炎活性;一氧化氮;前列腺素 E₂

中图分类号:R965;R978

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)23-0005-04

Anti-Inflammatory Activity of Tetrahydropyrimidine Derivative XD-7006 and Its Mechanism

Xia Hong, Yang Meng, Huang Hua, Zhang Linghua, Ding Wenwen

(Medical College of Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei, China 448000)

Abstract: Objective To investigate the anti-inflammatory activity of tetrahydropyrimidine derivative XD-7006(1,3-dibutyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylic acid diethyl ester) and its mechanism of action. **Methods** Xylene-induced murine ear swelling and carrageenan-induced rat paw edema were used to evaluate the anti-inflammatory activity of XD-7006 *in vivo*. RAW264.7 macrophages activated by lipopolysaccharides(LPS) were used as an *in vitro* inflammatory models. The effect of tetrahydropyrimidine derivative XD-7006 on the inflammation related factors secreted by RAW264.7 macrophages such as NO and PGE₂ were investigated. The expression of iNOS and COX-2 in RAW264.7 macrophages were detected by Western Blot. **Results** Tetrahydropyrimidine derivative XD-7006 could inhibit xylene-induced ear edema in mice and carrageenan-induced toe edema in rats at doses of 80 mg/kg and 40 mg/kg, and the difference was statistically significant($P < 0.05$). Tetrahydropyrimidine derivative XD-7006 could inhibit the secretion of NO and PGE₂ and the expression of iNOS and COX-2 protein in RAW264.7 macrophages at doses of 40, 20 and 10 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Tetrahydropyrimidine derivative XD-7006 has anti-inflammatory activity through *in vivo* test and *in vitro* test, its anti-inflammatory mechanism is to reduce the secretion of inflammatory related factors(NO and PGE₂) by inhibiting the activity of iNOS and COX-2.

Key words: tetrahydropyrimidine derivative; anti-inflammatory activity; NO; PGE₂

非甾体抗炎药物临床使用频率仅次于抗感染药物^[1],但现有的抗炎药物还不能完全满足临床需求,故新型抗炎药物的开发有重大意义。多取代四氢嘧啶类化合物药理学作用广泛,如抗人类免疫缺陷病毒(HIV)作用^[2]、抗肿瘤作用^[3]、钙离子(Ca²⁺)拮抗作用^[4]、抗微生物作用^[5]、缓解疼痛作用^[6]。在抗炎活性方面,多取代四氢嘧啶类化合物随着取代位置及取代的官能团不同,药理活性亦有差异。Cesarini 等^[7]发现,在体内实验中,多取代四氢嘧啶化合物能抑制酵母多糖所诱导的小鼠腹膜炎。在体外实验中,二环戊基双取代四氢嘧啶类化合物具有免疫抑制和抗炎双重活性,可提高内毒素刺激巨噬细胞中白细胞介素 10(IL-10)的水平,从而发挥抗炎作用^[8]。

本研究中通过筛选多个四氢嘧啶类化合物,发现化合物 XD-7006(1,3-二正丁基-1,2,3,6-四氢嘧啶-4,5-二甲酸二乙酯)有一定的抗炎活性,通过体内外相关炎症模型和相关炎症细胞因子的研究,探讨了 XD-7006 对动物炎症模型和炎症细胞因子的影响及调节机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

动物:昆明种(KM)小鼠 50 只[体质量为(20±2)g],SD 大鼠 40 只[体质量为(200±20)g],由湖北省实验动物中心研究所提供,实验动物许可证号分别为 SCXK(鄂)2015-0018 和 SYXK(鄂)2015-0034,等级

*基金项目:湖北省教育厅中青年人才项目[Q20174304];湖北省荆门市科技局科研项目[YFYB2017013];荆楚理工学院校级科研项目[YB201705]。

第一作者:夏鸿,男,硕士研究生,讲师,研究方向为抗炎药理学,(电话)0724-2495100(电子信箱)xiahongvip@163.com。

[△]通信作者:丁文文,女,博士研究生,讲师,研究方向为心血管与抗炎药理学,(电话)0724-2495105(电子信箱)519766207@qq.com。

为 SPF 清洁级,饲养于温度为 $(24 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 $(55 \pm 10)\%$ 的环境中。

试药:化合物 XD-7006 参照文献[9]方法合成,相对分子质量为 340,淡黄色油状物,实验时用 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液配制;二甲苯(武汉化学试剂厂,批号为 20101207);角叉菜胶(武汉信之德生物科技有限公司,批号为 20150402)。RAW264.7 细胞购于中国科学院。阿司匹林、噻唑蓝(MTT)、细菌脂多糖(LPS, Aladdin 公司,批号分别为 H1722011, H1305018, L16594);一氧化氮(NO)检测试剂盒、前列腺素 E_2 酶免疫检测试剂盒(上海碧云天公司,批号分别为 20161105, 20160806);DMEM 培养基、胎牛血清(Hyclone 公司,批号为 NXD0606),诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、环氧合酶-2(COX-2)抗体(CST 公司,批号分别为 0013, 0002)。

仪器:GENios Pro 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司);PV-200 型大鼠足跖容积测量仪(四川成都泰盟科技有限公司);1658001 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);Tanon 4200 型全自动化学发光成像分析系统(上海天能科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠耳廓二甲苯致炎实验^[10]

取 KM 小鼠 50 只,雌雄各半,体质量为 $(20 \pm 2)\text{g}$,随机分为溶剂对照组(0.5% CMC-Na)、阿司匹林组(80 mg/kg)、化合物 XD-7006 组(80, 40, 20 mg/kg),共 5 组,各 10 只。各组小鼠按 0.01 mL/g 灌胃给药,连续给药 3 d,1 次/天。末次给药 1 h 后,在每只小鼠右耳内外两侧均匀涂布二甲苯 30 μL 致炎,0.5 h 后将小鼠颈椎脱臼处死,沿耳根部剪下左右耳,用内径为 8 mm 的小鼠打孔器分别在左右耳同一部位打下耳片,称定质量,以两耳片质量差(mg)作为耳廓肿胀度。

1.2.2 大鼠足跖角叉菜胶致炎实验^[11]

取 SD 大鼠 40 只,雌雄各半,体质量为 $(200 \pm 20)\text{g}$,随机均分为 5 组,各 8 只,其余同 1.2.1 项下方法。于大鼠右后足踝关节上缘处标记,末次给药 1 h 后,在每只大鼠右后足掌中心皮下注射 2% 角叉菜胶生理盐水 0.05 mL,用大鼠足跖容积测量仪分别于注射后 0, 1, 2, 3, 4, 5 h 时测定大鼠右后足容积,每次测量 3 次,取平均值为足跖容积。分别以每只大鼠 1~5 h 右后足容积减去其 0 h 时右后足容积作为对应时刻该大鼠足跖肿胀度(mL)。

1.2.3 RAW264.7 细胞培养与处理^[8]

将 RAW264.7 细胞培养于含胎牛血清(含 100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素)培养液中,置适宜条件下培养,每隔 2 d 换液 1 次。待细胞生长至对数生长期时用消化液消化,置显微镜下观察,发现贴壁细胞形态变圆时,终止消化。经多次反复吹打瓶壁,使其形成均匀单细胞

悬液,调整细胞悬液浓度为 $4 \times 10^5/\text{mL}$,取 0.5 mL 加于 24 孔细胞培养板内,置培养箱培养 12 h,之后每孔分别加入 40, 20, 10 $\mu\text{mol/L}$ 的化合物 XD-7006 及终质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS,继续培养 16 h。取上清液,检测 NO 和 PGE_2 的水平;提取细胞总蛋白,用免疫印迹(Western Blot)法检测细胞的 iNOS 及 COX-2 蛋白表达。

1.2.4 XD-7006 对 RAW264.7 细胞活力的影响(MTT 法)^[8]

调整 RAW264.7 细胞悬液浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$,加入 96 孔板内,每孔 100 μL ,置细胞培养箱培养 12 h,之后加入不同浓度化合物 XD-7006,使其终浓度为 40, 20, 10 $\mu\text{mol/L}$,每组均设 5 复孔,继续培养 24 h,加入 MTT(5 g/L)20 μL ,再培养 4 h,终止培养,吸去孔内培养液。每孔加入二甲基亚砷(DMSO)100 μL ,来回轻轻振荡使结晶物充分溶解。最后用酶标仪测量光密度值($OD_{570\text{nm}}$),计算样品对细胞的抑制率。

1.2.5 Western Blot 法检测 iNOS 和 COX-2 蛋白的表达^[12]

用磷酸缓冲液清洗细胞,加入裂解液,冰上匀浆,充分裂解后,以 12 000 g(g 为重力加速度)离心 10 min,取上清液,用 Bradford 法检测样品浓度后进行 SDS-PAGE 电泳分离蛋白(上样 50 μg),电泳结束后转移至 PVDF 膜,室温牛血清白蛋白封闭 1 h 后加入一抗(iNOS, 1:2 000; COX-2, 1:2 000; β -actin, 1:5 000),过夜,漂洗,加入二抗,室温孵育 1 h, TBST 清洗 30 min,化学发光试剂增强反应,采用上海天能全自动化学发光凝胶成像系统,结果用 Image J 图像分析软件进行分析。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件处理,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响

由表 1 可知,化合物 XD-7006 在质量浓度为 80 mg/kg 和 40 mg/kg 时能明显抑制二甲苯诱导的小鼠耳廓肿胀,平均耳廓肿胀抑制率分别为 57.34% 和 41.26%,与阳性对照组阿司匹林抑制率接近,在一定剂量范围内有依耐性,与溶剂对照组比较,表现出一定的抗炎作用。

表 1 化合物 XD-7006 对二甲苯诱导小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{X} \pm s, n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	耳廓肿胀度(mg)	抑制率(%)
溶剂对照组	-	14.3 $\pm$ 3.8	-
XD-7006 高剂量组	80	6.1 $\pm$ 1.9 [△]	57.34
XD-7006 中剂量组	40	8.4 $\pm$ 2.3 [*]	41.26
XD-7006 低剂量组	20	12.1 $\pm$ 3.6	15.38
阿司匹林组	80	6.8 $\pm$ 2.1 [△]	52.44

注:与溶剂对照组比较,* $P < 0.05$,[△] $P < 0.01$ 。

表2 化合物XD-7006对角叉莱胶诱导大鼠足跖肿胀的抑制作用($\bar{X} \pm s$, mL, $n=8$)

组别	剂量(mg/kg)	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
溶剂对照组	-	0.22 ± 0.09	0.36 ± 0.08	0.38 ± 0.10	0.36 ± 0.09	0.34 ± 0.08
XD-7006 高剂量组	80	0.14 ± 0.08	0.19 ± 0.09 [△]	0.19 ± 0.10 [△]	0.17 ± 0.08 [△]	0.15 ± 0.06 [△]
XD-7006 中剂量组	40	0.16 ± 0.09	0.21 ± 0.09 [△]	0.24 ± 0.08 [△]	0.22 ± 0.08 [△]	0.21 ± 0.10 [*]
XD-7006 低剂量组	20	0.18 ± 0.08	0.28 ± 0.10	0.30 ± 0.11 [*]	0.27 ± 0.09 [*]	0.24 ± 0.09 [*]
阿司匹林组	80	0.12 ± 0.08 [*]	0.24 ± 0.10 [△]	0.24 ± 0.09 [△]	0.23 ± 0.09 [△]	0.20 ± 0.09 [*]

注:与溶剂对照组同时刻比较, * $P < 0.05$, [△] $P < 0.01$ 。

2.2 对角叉莱胶诱发的大鼠足跖肿胀的影响

由表2可知,大鼠足跖肿胀实验中,化合物XD-7006高、中、低剂量组(80,40,20 mg/kg)中,给药3~5 h后与溶剂对照组相比,差异均有统计学意义,显示出一定的剂量依耐性。

2.3 对RAW264.7细胞代谢活力的影响

MTT法检测结果见表3。可见,在给药浓度10~80 $\mu\text{mol/L}$ 内,对RAW264.7细胞活力都有不同程度的抑制作用,但在本实验的给药浓度范围内(10~40 $\mu\text{mol/L}$)对其代谢活力无明显影响($P > 0.05$)。因此,本实验选取的最大给药剂量40 $\mu\text{mol/L}$ 对RAW264.7细胞安全。

表3 化合物XD-7006对RAW264.7细胞代谢活力的影响($n=5$)

组别	浓度($\mu\text{mol/L}$)	代谢活力 $OD_{570\text{nm}}$ ($\bar{X} \pm s$)	抑制率(%)
全培对照组	-	1.651 ± 0.061	-
XD-7006 高剂量组	80	1.218 ± 0.035 [*]	26.23
XD-7006 中剂量组	40	1.511 ± 0.048	8.48
XD-7006 低剂量组	20	1.587 ± 0.052	3.88
阿司匹林组	10	1.616 ± 0.057	2.12

注:与全培对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.4 对LPS诱导RAW264.7细胞分泌一氧化氮的影响

由表4可见,与全培对照组相比较,各给药组和阿司匹林组加入LPS(10 $\mu\text{g/mL}$)后,RAW264.7细胞分泌的一氧化氮含量明显增加($P < 0.05$),说明造模成功。化合物XD-7006在10~40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,可不同程度地抑制LPS诱导的一氧化氮的产生,与LPS组比较,给药组差异有统计学意义($P < 0.05$),给药组抑制率均高于阳性对照阿司匹林组500 $\mu\text{mol/L}$ 。

表4 化合物XD-7006对LPS刺激RAW264.7细胞产生NO的抑制作用($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

组别	浓度($\mu\text{mol/L}$)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	抑制率(%)
全培对照组	-	10.25 ± 4.58 [△]	-
LPS组	10	41.57 ± 7.56	-
XD-7006 高剂量组	40	14.64 ± 6.35 [△]	64.78
XD-7006 中剂量组	20	18.49 ± 5.36 [△]	55.52
XD-7006 低剂量组	10	27.06 ± 7.32 [*]	34.90
阿司匹林组	500	28.54 ± 7.15 [*]	31.34

注:与LPS组比较, * $P < 0.05$, [△] $P < 0.01$ 。

2.5 对RAW264.7细胞产生PGE₂的影响

由表5可知,在LPS质量浓度为10 $\mu\text{g/mL}$ 时能显著诱导RAW264.7细胞分泌PGE₂,与全培对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。化合物XD-7006浓度为40,20,10 $\mu\text{mol/L}$ 和阿司匹林(500 $\mu\text{mol/L}$)对RAW264.7细胞产生PGE₂都有不同程度的抑制,与LPS比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

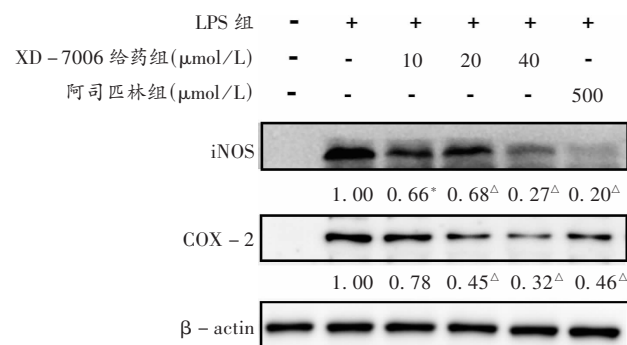
表5 XD-7006对LPS刺激RAW264.7细胞产生PGE₂的抑制作用($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

组别	浓度($\mu\text{mol/L}$)	PGE ₂ (pg/mL)	抑制率(%)
全培对照组	-	2257 ± 186 [△]	-
LPS组	10	7824 ± 920	-
XD-7006 高剂量组	40	2971 ± 352 [△]	62.03
XD-7006 中剂量组	20	3581 ± 426 [△]	54.23
XD-7006 低剂量组	10	5147 ± 695 [*]	34.22
阿司匹林组	500	2834 ± 335 [△]	63.67

注:与LPS组比较, * $P < 0.05$, [△] $P < 0.01$ 。

2.6 对RAW264.7细胞中iNOS和COX-2蛋白表达的影响

由图1可见,与LPS组相比,化合物XD-7006浓度为10,20,40 $\mu\text{mol/L}$ 能降低iNOS蛋白表达水平,抑制率差异有统计学意义($P < 0.05$)。另外,本实验还检测了XD-7006对COX-2蛋白表达的作用,在20 $\mu\text{mol/L}$ 和40 $\mu\text{mol/L}$ 给药浓度下显著降低COX-2蛋白表达水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注:与LPS组比较, * $P < 0.05$, [△] $P < 0.01$ 。

图1 XD-7006对LPS诱导RAW264.7细胞中iNOS和COX-2蛋白表达的作用

3 讨论

非甾体抗炎药广泛应用于关节炎、风湿性疾病及其他原因造成的疼痛发热症状,但长期使用或使用不当,会造成消化道损伤、肝肾毒性、心血管损伤等不良反应^[13]。糖皮质激素是甾体类抗炎药,抗炎作用虽强大,但因其有诸多严重的不良反应,限制了其临床应用。

四氢嘧啶类衍生物作为抗炎药物,处于基础研究阶段尚未应用于临床。本研究中将前期开发的 ZL-5015 (1,3-二环戊基-1,2,3,6-四氢嘧啶-4,5-二甲酸二乙酯)二环戊基用正丁基取代合成化合物 XD-7006,在整体和细胞水平上进行抗炎活性研究,在四氢嘧啶的 1,3 位用脂肪烃代替烷烃或芳香烃,抗炎活性进一步增强。

动物实验表明,化合物 XD-7006 能抑制急性炎症的产生。在二甲苯所致耳廓肿胀模型中,其给药质量浓度为 80 mg/kg 时耳廓肿胀抑制率达 57.34%,优于同等剂量下阿司匹林的抗炎作用(52.44%)。在角叉菜胶诱导的足趾肿胀模型中,测量给药 3 h 时大鼠足趾达最大肿胀度,化合物 XD-7006 在高(80 mg/kg)、中(40 mg/kg)、低(20 mg/kg)剂量组对不同时刻大鼠足趾肿胀均有不同程度的抑制作用,进一步提示化合物 XD-7006 在整体水平上具有一定的抗炎活性。

在炎症刺激下,iNOS 能产生大量的 NO,说明 NO 是炎症反应的重要因子^[14]。PGE₂ 是炎症和炎症相关疾病的重要介质,环氧酶是将脂肪酸转化为前列腺素(PGs)的关键酶,当炎症或缺氧不断刺激机体后,COX-2 将会表达增多^[15]。化合物 XD-7006 抗炎活性的体外实验表明,其可抑制脂多糖 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 和 PGE₂ 的产生。本研究结果显示,化合物 XD-7006 对 2 种蛋白表达有不同程度的抑制作用,但相比而言对 COX-2 蛋白表达的抑制更明显。提示化合物 XD-7006 抗炎活性的机制与 PGE₂ 产生关系更密切。本研究中通过体内外实验初步探讨化合物 XD-7006 抗炎活性,同传统的经典非甾体抗炎药阿司匹林在抑制急性炎症模型上还存在差距,说明其抗炎作用还不够理想。

综上所述,化合物 XD-7006 显示出非甾体抗炎药的特点,如开发应用于临床,可考虑用于急性损伤导致的炎症。另一思路是通过该研究可获得与抗炎活性有关的新的构效关系信息,并可在此结构上,通过系列改造有望得到疗效更好、毒副作用更少的新型非甾体药物。

参考文献:

[1] 于田群. 非甾体抗炎药昔康类化合物衍生物的合成研究[D].

兰州:兰州大学,2017.

- [2] Okazaki S, Oishi S, Mizuhara T, et al. Investigations of possible prodrug structures for 2-(2-mercaptophenyl)tetrahydropyrimidines: reductive conversion from anti-HIV agents with pyrimidobenzothiazine and isothiazolopyrimidine scaffolds[J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13(16): 4706-4713.
- [3] Bari A, Parvez MK, Khan AA, et al. A Facile One-Pot Synthesis and Anticancer Evaluation of Novel Substituted 1,2-Dihydropyrimidine and 1,2,3,4-Tetrahydropyrimidine Analogues[J]. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2016, 53(2): 377-382.
- [4] Liu G, Liu YY, Hu YC. Design, synthesis and calcium channel blocking activity of novel tetrahydropyrimidine derivatives for potential benefit in angina pectoris[J]. *Biomedical Research*, 2017, 28(3): 1123-1129.
- [5] Patel P, Chintla C, Ghatge M, et al. 3D QSAR study of 4-H-chromen-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate derivatives as potential anti-mycobacterial agents[J]. *Medicinal Chemistry Research*, 2014, 23(6): 2955-2963.
- [6] 林嘉, 彭小彬, 谢健航, 等. 四氢嘧啶类化合物 PL-1215 的镇痛作用及机制[J]. *中国科技论文*, 2016, 11(6): 688-693.
- [7] Cesarini S, Spallarossa A, Ranise A, et al. 6-amino-4-oxo-1,3-diphenyl-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carbonyl derivatives as a new class of potent inhibitors of Interleukin-8-induced neutrophil chemotaxis[J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(10): 3580-3587.
- [8] Lun Y, Xia H, Zhang Q, et al. Anti-inflammatory and immunosuppressive activities of 1,3-dicyclopentyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-4,5-dicarboxylic acid diethyl ester (ZL-5015) [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 17(2): 168-177.
- [9] Zhu QH, Jiang HF, Li JH, et al. Practical synthesis and mechanistic study of polysubstituted tetrahydropyrimidines with use of domino multicomponent reactions[J]. *Tetrahedron*, 2009, 65(23): 4604-4613.
- [10] 马家宝, 王力宁, 杨正腾. 麻杏二陈特禀咳嗽颗粒镇咳、抗炎和祛痰作用实验研究[J]. *中国药业*, 2016, 25(24): 13-15.
- [11] 魏春华, 程虹毓, 高燕萍, 等. 藏药矮紫堇解热镇痛抗炎作用的研究[J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(3): 337-342.
- [12] 陈美琪, 金宏伟, 陈振胜, 等. 山茶酚对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞中 COX-2 和 iNOS 表达及产物生成的影响[J]. *沈阳药科大学学报*, 2013, 30(12): 982-985.
- [13] 李泓锡, 姚鹏. 非甾体抗炎镇痛药物用于癌瘤治疗的最新进展[J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(18): 2081-2084.
- [14] Abdellatif KR, Abdelall EK, Bakr RB. Nitric Oxide-NASIDS Donor Prodrugs as Hybrid Safe Anti-inflammatory Agents[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2017, 17(8): 941-955.
- [15] Chen WP, Jin GJ, Xiong Y, et al. Rosmarinic acid down-regulates NO and PGE₂ expression via MAPK pathway in rat chondrocytes[J]. *Journal of Cellular & Molecular Medicine*, 2017, 409: 1-8.

(收稿日期:2018-06-04)