芥子碱硫氰酸盐可溶性微针穴位给药抗支气管哮喘的药效学研究Δ

石佳楠*，宋信莉#，刘兴德，陈欢欢，杨小双，杨胜磊，沈　丽，万开龙（贵州中医药大学药学院/国家苗药工程技术研究中心/贵州中药炮制与制剂工程技术研究中心，贵阳　550025）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2022）22-2728-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2022.22.08

摘　要　目的　研究芥子碱硫氰酸盐可溶性微针（ST-DMN）穴位给药抗支气管哮喘（BA）的疗效。**方法**　采用网络药理学方法和分子对接技术筛选芥子碱硫氰酸盐（ST）抗BA的核心靶点，并针对排名前3位的核心靶点进行药效学研究。首先制备ST-DMN（ST载药量为1 mg/片），再将30只大鼠分为空白对照组、模型对照组、空白微针组、白芥子散敷贴组（阳性对照组）和ST-DMN组，除空白对照组外，其余各组大鼠采用10%卵清蛋白（含氢氧化铝佐剂）致敏和1%卵清蛋白雾化激发以复制BA模型。造模成功后，空白对照组大鼠不处理，模型对照组大鼠于肺俞穴、大椎穴涂抹生理盐水，空白微针组、白芥子散敷贴组、ST-DMN组大鼠分别于相同穴位给予空白微针、白芥子散（敷贴，1.5 g）、ST-DMN（2个穴位共给予3片）处理，每天1次，连续28 d。给药结束后，观察大鼠一般症状并测定体质量，观察大鼠肺组织的病理学形态变化，检测大鼠血清、支气管肺泡灌洗液（BALF）、肺组织中前列腺素内过氧化物合酶2（PTGS2）、基质金属蛋白酶9（MMP-9）、白细胞介素2（IL-2）的水平。**结果**　网络药理学和分子对接结果显示，ST抗BA的关键靶点有PTGS2、MMP-9、IL-2、表皮生长因子受体、热休克蛋白90AA1等。药效实验结果显示，与模型对照组比较，ST-DMN组大鼠咳嗽减轻，毛色恢复，行为灵敏，呼吸平稳，体质量增加；肺组织结构、肺泡上皮细胞、肺间质炎症细胞浸润等病理变化均得到不同程度的改善；血清、BALF、肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平均明显降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**　ST-DMN穴位给药抗BA的效果良好，其作用机制可能与下调血清、BALF、肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平有关。

关键词　芥子碱硫氰酸盐；可溶性微针；穴位给药；支气管哮喘；作用靶点；药效学

Pharmacodynamic study of sinapine thiocyanate dissoluble microneedle for acupoint administration against bronchial asthma

SHI Jianan, SONG Xinli, LIU Xingde, CHEN Huanhuan, YANG Xiaoshuang, YANG Shenglei, SHEN Li, WAN Kailong (School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine/National Engineering Technology Research Center for Miao Medicine/Guizhou Engineering Technology Research Center for Traditional Chinese Medicine Processing and Preparation, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the efficacy of sinapine thiocyanate dissoluble microneedle (ST-DMN) for acupoint administration against bronchial asthma (BA). **METHODS** The network pharmacology and molecular docking techniques were used to screen the core targets of sinapine thiocyanate (ST) against BA, and the pharmacodynamics of the top 3 core targets was studied. Firstly, ST-DMN was prepared (drug loading of ST was 1 mg/tablet); secondly, 30 rats were divided into blank control group, model control group, blank microneedle group, Sinapine powder plaster group (positive control group) and ST-DMN group. Except for the blank control group, rats of other groups were sensitized with 10% ovalbumin (containing aluminum hydroxide adjuvant) and nebulized with 1% ovalbumin to induce the BA model. After modeling, blank control group did not receive any intervention; normal saline was applied to the Feishu acupoint and Dazhui acupoint of the rats in the model control group, while the blank microneedle group, Sinapine powder plaster group and ST-DMN group were given blank microneedle, Sinapis alba powder (plaster, 1.5 g) and ST-DMN (3 tablets at 2 acupoints) at same acupoint, once a day, for 28 consecutive days. After administration, the general symptoms were observed and the body mass of the rats was measured. The pathological changes of lung tissues in rats was observed; the levels of prostaglandin endoperoxide synthase 2 (PTGS2), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and interleukin-2 (IL-2) in serum, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissues were determined. **RESULTS** Results of network pharmacology and molecular docking showed that the key targets of ST against BA were identified as PTGS2, MMP-9, IL-2, epidermal growth factor receptor, heat shock

Δ**基金项目** 贵州省科技计划项目（No.黔科合基础-ZK〔2021〕一般530）；贵州省特色功能食品与中药制剂开发集成攻关项目（No.黔教合KY字〔2020〕006）；贵州中医药大学药用高分子材料研究中心项目（No.贵中医党办发〔2019〕70号）；贵州中医药大学博士启动基金（No.贵中医博士启动〔2021〕14号）；贵州省一流学科建设项目（No.GNYL〔2017〕008号）；贵州省药物新剂型新工艺科技创新人才团队项目（No.黔科合平台人才〔2017〕5655）

*第一作者 硕士研究生。研究方向：中药及民族药新剂型与新制剂。E-mail：623667036@qq.com

#通信作者 教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药及民族药新剂型与新制剂。E-mail：392347047@qq.com

protein90AA1, etc. Pharmacodynamic experiments showed that compared with model control group, relieved cough, restored hair color, sensitive behavior, stable respiration and increased body weight were all found in ST-DMN group; the histopathological changes as the structure of lung tissue, infiltration of alveolar epithelial cells and pulmonary interstitial inflammatory cells were improved to different extent; the levels of PTGS2, MMP-9 and IL-2 in serum, BALF and lung tissue were significantly reduced ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** The anti-BA effect of ST-DMN acupoint administration is good, the mechanism of which may be associated with decreasing the levels of PTGS2, MMP-9 and IL-2 in serum, BALF and lung tissue.

KEYWORDS sinapine thiocyanate; dissoluble microneedle; acupoint administration; bronchial asthma; target; pharmacodynamics

支气管哮喘（bronchial asthma，BA）是一种受多种细胞和细胞成分影响的下呼吸道异质性慢性炎症性疾病[1]。BA发病因素较多，主要包括感染、粉尘、自身免疫等，可反复出现喘息、咳嗽、胸闷和呼吸急促等症状，具有病程长、症状易反复、难以根治的特点[2]。若该疾病反复发作，极易引发心血管疾病及肺疾病等严重并发症，对患者健康造成较大的威胁，对社会造成巨大的疾病负担，因此，该疾病也被世界卫生组织（WHO）列为四大顽症之一[3]。目前，现代医学治疗BA主要以药物为主，如支气管β_2肾上腺素受体激动剂、抗胆碱药、茶碱类和激素类药物等。这些药物虽然能在一定程度上缓解病情，但难以从整体上实现根本性治疗，且相关研究发现化学药对哮喘的控制效果尚不理想，仍易反复发作[4-5]。

白芥子始载于《名医别录》，被列为上品，其味辛，性温，无毒，入肺经，具有温肺豁痰利气、散结通络止痛之功[6]。有研究发现，将白芥子于穴位外用可有效治疗BA[7-9]。现代研究表明，白芥子中的芥子碱是抗BA的主要活性成分，其主要存在形式为芥子碱硫氰酸盐（sinapine thiocyanate，ST）[10]。可溶性微针（dissoluble microneedle，DMN）是一种新型透皮给药制剂，可突破角质层障碍，使药物在真皮层中释放，从而解决传统穴位外用时大分子化合物或亲水性化合物难以透过角质层的问题[11]。基于此，本课题组将ST与DMN技术相结合，制备芥子碱硫氰酸盐可溶性微针（ST-DMN），并结合网络药理学方法和分子对接技术，筛选ST治疗哮喘的作用靶点，然后将ST-DMN穴位给药BA模型大鼠进行动物实验验证，以期为后续ST-DMN的开发及临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有微针模具（台州薇凯生物科技有限公司）、AUY220型万分之一电子天平（日本Shimadzu公司）、AE/240型十万分之一电子天平（瑞士Mettler Toledo公司）、TD5A-120型台式低速离心机（常州金坛良友仪器有限公司）、KQ-500DE型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、SPX-70BⅢ型生化培养箱[菲斯福仪器（河北）有限公司]、Multiskan FC型酶标仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）、402A1型超声雾化器（上海鱼跃医疗设备有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

ST-DMN由本课题组自制；白芥子散敷贴剂（批号20210720）购自贵州中医药大学第一附属医院；氢氧化铝佐剂（批号77161）购自美国Thermo Fisher Scientific公司；卵清蛋白（批号MB1815）购自大连美仑生物技术有限公司；戊巴比妥钠（批号P3761）购自美国Sigma公司；磷酸盐缓冲液（批号20210911）购自北京索莱宝科技有限公司；前列腺素内过氧化物合酶2（prostaglandin endoperoxide synthase 2，PTGS2）、基质金属蛋白酶9（matrix metalloproteinase-9，MMP-9）、白细胞介素2（interleukin-2，IL-2）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为E-EL-R3021、E-EL-R0792c、E-EL-R0013c）购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；聚乙烯吡咯烷酮K30（批号BSF190822）购自合肥巴斯夫生物科技有限公司；硫酸软骨素（批号20191028）购自江苏鑫瑞生物科技有限公司；聚乙烯醇（批号P21501215）购自山东优索化工科技有限公司。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级雄性SD大鼠，体质量为（220±20）g，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，动物生产许可证号为SCXK（京）2019-0008。本研究所有动物实验均遵循贵州中医药大学有关实验动物管理和使用的规定，且均符合3R原则。

2 方法

2.1 基于网络药理学及分子对接技术筛选ST抗BA的作用靶点

2.1.1 获取ST靶点 将ST的“sdf”结构输入PharmMapper（http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/）、Swiss Target Prediction（http://www.swisstargetprediction.ch/）数据库中进行初步的靶点预测，再将这2个数据库得到的靶点取并集，然后将取并集后的靶点（即ST的预测靶点）输入UniProt数据库（https://www.uniprot.org/）中获取标准化基因名。

2.1.2 获取BA靶点 将“asthma”“bronchial asthma”分别输入TTD（http://db.idrblab.net/web/search/combination）、Genecard（https://www.genecards.org/）、OMIM（https://omim.org/）、Drug Bank（https://www.drugbank.com/）、

Disgenet（https://www.disgenet.org/search）数据库并以相关性分数的中位值进行筛选，将筛选的靶点（即BA疾病靶点）输入UniProt数据库中获取标准化基因名。

2.1.3 筛选ST与BA的共同靶点 将ST的靶点与BA的靶点分别导入Venny在线网站（https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html）绘制韦恩图，取交集后，即为ST与BA的共同靶点。

2.1.4 构建ST与BA的蛋白相互作用网络 将ST和BA的共同靶点导入STRING数据库（https://cn.string-db.org/），设置物种为“homo sapiens”，置信度为“medium confidence≥0.4”，绘制蛋白相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络，然后利用Cytoscape 3.9.0软件根据degree值大小筛选关键靶点，从而确定ST抗BA的核心靶点。

2.1.5 ST与核心靶点的分子对接 将PPI网络中degree值排名前3位的核心靶点导入PDB数据库（https://www.pdbus.org/），下载核心靶点“pdb”格式文件。在TCMSP数据库（https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php）中下载ST的“mol2”文件，然后采用Pymol、AutoDock软件将核心靶点和ST进行去水、加氢等预处理，再通过AutoDock软件进行分子对接和结合能的计算。

2.2 ST-DMN抗BA的药效学实验

根据网络药理学方法及分子对接技术筛选的ST抗BA核心靶点进行药效学验证。

2.2.1 ST-DMN的制备 根据本课题组前期实验方法制备ST-DMN[12]。将硫酸软骨素-聚乙烯吡咯烷酮K30（1∶1，*m*/*m*）作为针尖材料充分溶胀于ST水溶液（10 mg/mL）中，然后浇筑在微针模具凹槽表面，再以4 000 r/min离心10 min使其完全填充；刮去多余基质，于干燥器中干燥30 min，作为针尖层；将以ST水溶液充分溶胀的15%聚乙烯醇作为背衬材料，浇筑于上述已填充好针尖层的模具中，以4 000 r/min离心10 min后，于干燥器中干燥24 h，脱模，即得ST载药量为1 mg/片的ST-DMN。同法制备不载药的空白微针。

2.2.2 分组、造模与给药 将30只大鼠随机分为空白对照组、模型对照组、空白微针组、白芥子散敷贴组（阳性对照组）、ST-DMN组，每组6只。各组大鼠适应性喂养1周后，除空白对照组腹腔注射生理盐水外，其余各组大鼠分别于第1、8天腹腔注射10%卵清蛋白（含氢氧化铝佐剂）1 mL致敏，于第15天开始每天雾化吸入1%卵清蛋白，每次30 min，持续4周进行激发哮喘，以复制BA模型[13]。当大鼠出现咳嗽、呼吸急促、点头运动、抓耳挠腮等行为时，表明造模成功。各组大鼠于每次雾化后进行给药：空白对照组不处理；模型对照组于大鼠肺俞穴和大椎穴脱毛处理后涂抹生理盐水；空白微针组、白芥子散敷贴组、ST-DMN组大鼠于相同穴位分别给予空白微针、白芥子散（涂抹面积为1 cm^2，给药量为1.5 g）、ST-DMN（2个穴位共给了3片）处理，每天1次，连续28 d。

2.2.3 各组大鼠一般症状观察及体质量测定 分别在造模前1 d和造模后第7、14、21、28、35、42天记录各组大鼠咳嗽、打喷嚏、点头运动、抓耳挠腮、呼吸加快、毛发色泽的情况，并测量体质量。

2.2.4 样本采集 末次给药后第2天，将大鼠麻醉后进行腹主动脉采血；血样静置1 h后，以3 000 r/min离心10 min，取上层血清，置于－80 ℃冰箱中保存备用。采血完成后，将各组大鼠气管暴露，用一次性注射器将2 mL磷酸盐缓冲液缓慢注入气管，用手轻轻按揉大鼠肺部，待充分灌洗后回抽缓冲液，反复进行3次，即得支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）。将BALF以3 000 r/min离心10 min，取上清液，置于－80 ℃冰箱中保存备用。以上操作完成后，处死大鼠，取肺组织，剪取右肺前叶，装入EP管中，置于－80 ℃冰箱中保存备用；取左肺，以4%多聚甲醛溶液固定备用。

2.2.5 大鼠肺组织病理形态学观察 取“2.2.4”项下各组大鼠固定于4%多聚甲醛溶液中的左肺组织，经乙醇脱水、石蜡包埋、切片后，进行苏木精-伊红（HE）染色，然后置于光学显微镜下观察肺组织病理形态学变化。

2.2.6 大鼠血清、BALF和肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平的测定 采用ELISA法进行测定。取“2.2.4”项下各组大鼠血清、BALF和肺组织，严格按照试剂盒说明书方法检测其中PTGS2、MMP-9、IL-2的水平。

2.3 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计分析，计量资料采用$\bar{x} \pm s$表示。各组间比较采用单因素方差分析；组间两两比较，方差齐时采用LSD-*t*检验，方差不齐时采用Dunnett's T3检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 ST抗BA的作用靶点筛选结果

3.1.1 ST靶点的筛选结果 本研究在PharmMapper数据库中得到ST靶点231个，在Swiss Target Prediction数据库中得到ST靶点100个，取并集后获得258个ST靶点。

3.1.2 BA靶点的筛选结果 通过TTD、Genecard、OMIM、Drug Bank、Disgenet数据库对BA靶点进行筛选，删除重复项后共获取靶点677个。

3.1.3 ST与BA共同靶点的筛选结果 将ST靶点与BA靶点共同导入Venny在线网站绘制韦恩图，得到交集靶点70个。

3.1.4 ST与BA的PPI网络构建结果 PPI网络图（图1）显示，核心靶点排名前10位的蛋白分别为PTGS2、MMP-9、IL-2、EGFR（表皮生长因子受体）、HSP90AA1（热休克蛋白90AA1）、ALB（白蛋白）、CCL5（趋化因子配体5）、MAPK14（丝裂原活化蛋白激酶14）、MTOR（雷帕霉素靶蛋白）、PGR（孕激素受体）。

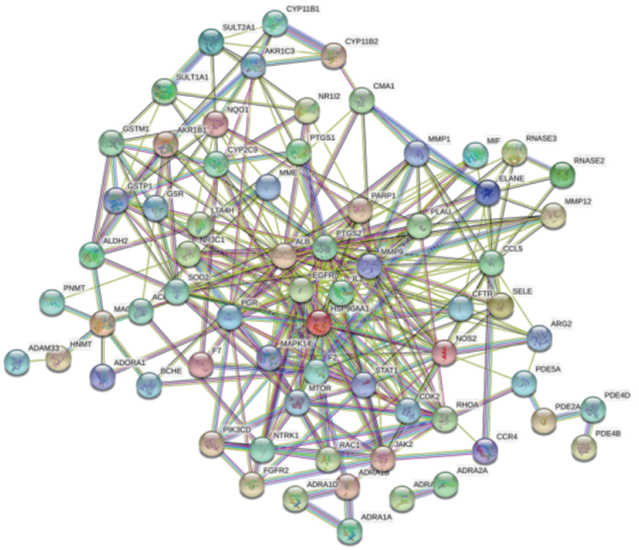


图1　ST与BA的PPI网络图

3.1.5　ST与核心靶点的分子对接结果　将PPI网络图中degree值排名前3位的蛋白作为核心靶点，进行ST与核心靶点的分子对接。结果显示，ST与PTGS2、MMP-9、IL-2对接的结合能分别为－19.30、－22.44、－16.24 kJ/mol，提示ST与上述3种蛋白具有较好的结合活性[14]。

3.2　ST-DMN抗BA的药效学实验结果

3.2.1　大鼠一般症状观察及体质量测定结果　空白对照组大鼠状态良好，毛色光泽，行为敏捷，呼吸平稳，体质量明显增加。模型对照组和空白微针组大鼠出现咳嗽、呼吸急促、点头运动、抓耳挠腮现象，严重者出现呼吸减慢或节律不齐、四肢瘫软、行动迟缓、体质量明显减轻、毛色失去光泽、反应迟钝现象。白芥子散敷贴组和ST-DMN组大鼠咳嗽减轻，毛色恢复，行为灵敏，呼吸平稳，体质量增加。

3.2.2　大鼠肺组织病理形态学观察结果　空白对照组大鼠肺组织各级支气管结构正常，肺泡上皮细胞正常，肺间质未见明显纤维组织增生和炎症细胞浸润。模型对照组和空白微针组大鼠肺泡隔明显增厚，肺泡上皮细胞增生，细胞成分增多，肺间质可见炎症细胞浸润。与模型对照组比较，白芥子散敷贴组和ST-DMN组大鼠肺组织结构、肺泡上皮细胞、肺间质炎症细胞浸润等情况均得到不同程度的改善。结果见图2。

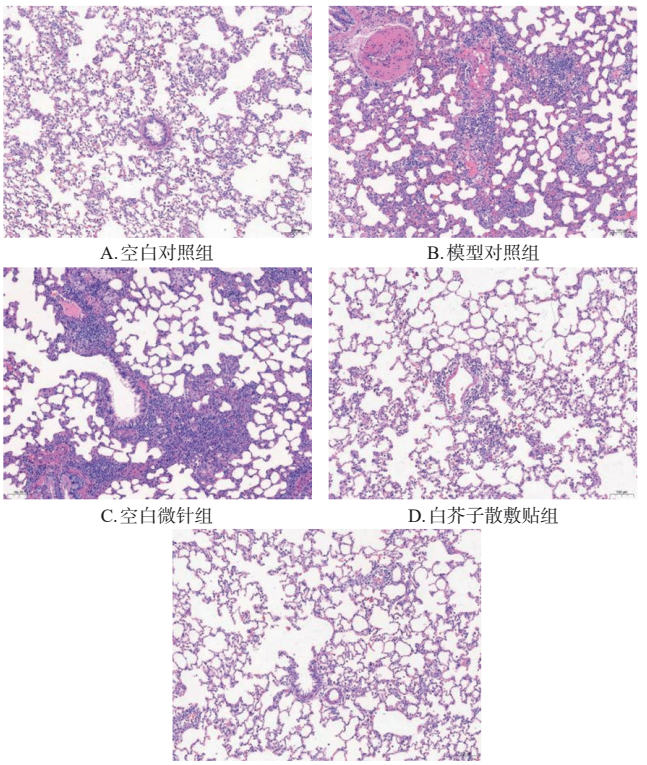


图2　各组大鼠肺组织病理形态学观察结果（HE染色，×100）

3.2.3　大鼠血清、BALF和肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平的测定结果　与空白对照组比较，模型对照组和空白微针组大鼠血清、BALF和肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）；与模型对照组比较，白芥子散敷贴组和ST-DMN组大鼠血清、BALF和肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。白芥子散敷贴组和ST-DMN组比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；空白微针组与模型对照组比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表1。

4　讨论

本研究采用网络药理学方法和分子对接技术筛选ST抗BA的作用靶点，结果发现，ST抗BA的核心靶点主要包括PTGS2、MMP-9、IL-2、EGFR、HSP90AA1等。其中，PTGS2也称为环氧合酶2，是一种炎症诱导酶，是花生四烯酸转化为前列腺素过程中的关键酶，主要参与炎症反应[15]。研究表明，PTGS2的激活可以导致哮喘的发生，抑制PTGS2可通过核因子κB信号通路发挥抗炎、

表1　各组大鼠血清、BALF和肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平的测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，pg/mL）

组别	PTGS2			MMP-9			IL-2		
	血清	BALF	肺组织	血清	BALF	肺组织	血清	BALF	肺组织
空白对照组	749.83±71.40	1 026.27±147.86	1 956.47±201.54	52.74±8.55	132.75±28.77	151.19±24.78	55.41±9.16	79.91±12.42	79.91±12.42
模型对照组	2 402.08±220.71[a]	3 020.88±259.50[a]	7 430.86±754.64[a]	212.40±25.05[a]	306.75±37.61[a]	399.94±30.20[a]	93.40±10.79[a]	133.72±25.08[b]	133.72±25.08[b]
空白微针组	2 185.86±140.91[a]	2 684.92±210.92[a]	6 430.90±705.63[a]	177.96±17.81[a]	268.73±27.31[a]	374.86±20.09[a]	79.70±6.78[a]	117.97±27.87[b]	117.97±27.87[b]
白芥子散敷贴组	1 194.49±109.60[c]	1 567.70±245.99[c]	3 641.04±521.86[c]	93.11±9.94[c]	185.40±24.96[c]	254.86±34.39[c]	60.34±7.00[c]	81.66±16.40[d]	81.66±16.40[d]
ST-DMN组	1 434.82±127.00[c]	2 041.84±267.62[c]	4 505.17±713.35[c]	112.43±10.54[c]	214.77±28.43[c]	298.66±29.81[c]	65.81±6.17[c]	86.15±20.47[d]	86.15±20.47[d]

a：与空白对照组比较，$P<0.01$；b：与空白对照组比较，$P<0.05$；c：与模型对照组比较，$P<0.01$；d：与模型对照组比较，$P<0.05$

抗哮喘作用[16]。MMP-9是MMP家族的成员，主要由巨噬细胞和中性粒细胞产生，也可由上皮细胞、肥大细胞、成纤维细胞和平滑肌细胞产生，是气道壁重塑和细胞外基质代谢的关键媒介[17－18]。IL-2主要由活化的T细胞产生，主要功能是促进淋巴细胞的生长、增殖和分化，在免疫应答中发挥重要作用[19]。IL-2不仅能促进体内免疫球蛋白E的合成，还能诱导嗜酸性粒细胞产生大量过氧化物，并使嗜酸性粒细胞和淋巴细胞向炎症部位趋化，从而破坏支气管上皮，加重哮喘[20]。由此可知，本研究筛选出的3个核心靶点（PTGS2、MMP-9、IL-2）与BA均有着极大的关联性，ST抗BA的作用可能与上述3个靶点有关。进一步通过分子对接发现，ST与上述3个靶点之间的结合能均远小于－5.0 kJ/mol，表明ST与这3个靶点的结合能力较好。

基于网络药理学和分子对接的结果，本课题组进一步通过动物实验探讨ST-DMN穴位给药抗BA的药效作用。结果发现，经ST-DMN干预后，大鼠咳嗽减轻，毛色恢复，行为灵敏，呼吸平稳，体质量增加，肺组织结构、肺泡上皮细胞、肺间质炎症细胞浸润等病理变化均得到不同程度的改善，血清、BALF和肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平均显著降低，且效果与阳性对照组相当。

综上所述，ST-DMN穴位给药抗BA的效果良好，其作用机制可能与下调血清、BALF、肺组织中PTGS2、MMP-9、IL-2水平有关。

参考文献

[1] ELAIDY S M, ESSAWY S S, HUSSAIN M A, et al. Modulation of the IL-23/IL-17 axis by fenofibrate ameliorates the ovalbumin/lipopolysaccharide-induced airway inflammation and bronchial asthma in rats[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2018, 391(3): 309-321.

[2] JUNG T Y, LEE A Y, SONG J H, et al. *Scrophularia koraiensis* nakai attenuates allergic airway inflammation via suppression of NF-κB and enhancement of Nrf2/HO-1 signaling[J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(2): E99.

[3] ASAYAMA K, KOBAYASHI T, D'ALESSANDRO-GABAZZA C N, et al. Protein Sprotects against allergic bronchial asthma by modulating Th1/Th2 balance[J]. Allergy, 2020, 75(9): 2267-2278.

[4] MANDLIK D S, MANDLIK S K. New perspectives in bronchial asthma: pathological, immunological alterations, biological targets, and pharmacotherapy[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2020, 42(6): 521-544.

[5] PETERS M C, WENZEL S E. Intersection of biology and therapeutics: type 2 targeted therapeutics for adult asthma [J]. Lancet, 2020, 395(10221): 371-383.

[6] 王辉，苑艳霞，邱琳，等. 芥子碱平喘作用及其机制研究[J]. 中草药，2011，42(1)：134-136.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[S]. 2020版. 北京：中国医药科技出版社，2020：167.

[8] 刘成勇，吴文忠，房翳恭，等. 白芥子涂方穴位贴敷防治支气管哮喘的临床研究[J]. 南京中医药大学学报，2018，34(6)：565-568.

[9] 林健峰. 对穴位敷贴中血药浓度这一瓶颈问题的几点思考[J]. 中医外治杂志，2009，18(2)：62.

[10] CHEN S, JIN Y T, ZHU Z Y, et al. *In vivo* study on site of action of sinapine thiocyanate following acupoint herbal patching[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018: 9502902.

[11] ZHANG W J, ZHANG W, LI C R, et al. Recent advances of microneedles and their application in disease treatment [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(5): 2401.

[12] 汪云霞，宋信莉，陈欢欢，等. 马钱子碱双层聚合物可溶性微针的制备及其在不同载药方式下的体外经皮渗透性研究[J]. 中国药房，2020，31(17)：2112-2118.

[13] 迟映雪，石绍顺. 清肺平喘颗粒对哮喘模型大鼠气道重塑及TGF-β1/Smad信号通路的影响[J]. 时珍国医国药，2021，32(10)：2384-2387.

[14] 姚运秀，贺桢翔，刘晓凤，等. 基于网络药理学和分子对接技术的抗病毒颗粒治疗新型冠状病毒肺炎（COVID-19）的潜在物质基础研究[J]. 中草药，2020，51(6)：1386-1396.

[15] XU Z Z, WU H Y, ZHANG H M, et al. Interleukins 6/8 and cyclooxygenase-2 release and expressions are regulated by oxidative stress-JAK2/STAT3 signaling pathway in human bronchial epithelial cells exposed to particulate matter ≤2.5 μm[J]. J Appl Toxicol, 2020, 40(9): 1210-1218.

[16] YE Q, ZHANG Q Q, YAO H J, et al. Active-ingredient screening and synergistic action mechanism of Shegan mixture for anti-asthma effects based on network pharmacology in a mouse model of asthma[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15: 1765-1777.

[17] ZOU F F, ZHANG J P, XIANG G A, et al. Association of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) polymorphisms with asthma risk: a meta-analysis[J]. Can Respir J, 2019, 2019: 9260495.

[18] GRZELA K, LITWINIUK M, ZAGORSKA W, et al. Airway remodeling in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: the role of matrix metalloproteinase-9[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2016, 64(1): 47-55.

[19] HUANG X F, CHENG W B, JIANG Y, et al. A network pharmacology-based strategy for predicting anti-inflammatory targets of *Ephedra* in treating asthma[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 83: 106423.

[20] EBRAHIMI H, FALLAHI M, KHAMANEH A M, et al. Effect of α-hederin on IL-2 and IL-17 mRNA and miRNA-133a levels in lungs of ovalbumin-sensitized male rats[J]. Drug Dev Res, 2016, 77(2): 87-93.

（收稿日期：2022-04-24　修回日期：2022-09-25）

（编辑：唐晓莲）