藤黄健骨胶囊质控成分定量分析方法建立及潜在作用机制预测Δ

周　霖[1,2*]，王肖辉[3]，孙　志[1]，薛连平[1]，金建文[4]，武　婧[4]，李晓静[1]，郑天元[1]，张晓坚[1#]（1.郑州大学第一附属医院药学部，郑州　450052；2.中南大学资源加工与生物工程学院，长沙　410000；3.郑州大学第一附属医院超声科，郑州　450052；4.陕西丽彩药业有限公司，陕西 咸阳　712000）

中图分类号　R917；R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2022）22-2743-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2022.22.11

摘　要　目的　建立藤黄健骨胶囊质控成分的定量分析方法，并预测质控成分的潜在作用机制。**方法**　采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱（UHPLC-Q-Orbitrap HRMS）法对藤黄健骨胶囊中的7种质控成分进行定量分析；基于网络药理学方法构建“成分-靶点”网络，并进行京都基因和基因组数据库（KEGG）通路富集以及基因本体（GO）功能富集分析，挖掘潜在关键信号通路。**结果**　20批藤黄健骨胶囊中琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸的平均含量分别为520.92、67.67、129.48、4.74、397.45、5.66、376.62 μg/g。网络药理学结果显示，7种质控成分的62个关键作用靶点基因包括*AKT*1、*TNF*、*VEGFA*、*MMP*9、*PTGS*2等；主要富集于细胞因子受体相互作用、细胞核因子、肿瘤坏死因子、白细胞介素17、类风湿性关节炎、Toll样受体等信号通路，涉及炎症反应、信号转导、蛋白磷酸化等生物过程，胞质、包膜等细胞组分，以及酶活性、能量活性等分子功能。**结论**　所建UHPLC-Q-Orbitrap HRMS法可用于藤黄健骨胶囊质控成分的定量分析；其质控成分可能是通过*AKT*1、*TNF*、*VEGFA*等关键靶点，从而映射到类风湿性关节炎、Toll样受体等骨性疾病相关炎症通路，从而发挥治疗作用。

关键词　藤黄健骨胶囊；质控成分；含量测定；网络药理学；机制

Establishment of quantitative analysis method and prediction of potential mechanism for quality control components of Tenghuang jiangu capsules

ZHOU Lin[1,2], WANG Xiaohui[3], SUN Zhi[1], XUE Lianping[1], JIN Jianwen[4], WU Jing[4], LI Xiaojing[1], ZHENG Tianyuan[1], ZHANG Xiaojian[1] (1. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. School of Minerals Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha 410000, China; 3. Dept. of Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 4. Shaanxi Licai Pharmaceutical Co., Ltd., Shaanxi Xianyang 712000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish a quantitative analysis method for the quality control components in Tenghuang jiangu capsules, and predict the possible action mechanism of the quality control components. **METHODS** Seven key quality control components in Tenghuang jiangu capsules were quantitatively analyzed by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. The “component-target” network was constructed based on network pharmacology, and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis and gene ontology (GO) function enrichment analysis were further conducted to find the key signaling pathways. **RESULTS** The average contents of succinic acid, hyperoside, gallic acid, kaempferol, naringin, naringenin and protocatechuic acid in 20 batches of Tenghuang jiangu capsules were 520.92, 67.67, 129.48, 4.74, 397.45, 5.66 and 376.62 μg/g, respectively. The results of network pharmacology showed that the 62 key target genes of the quality control components of the drug included *AKT*1, *TNF*, *VEGFA*, *MMP*9, *PTGS*2, etc. They were mainly enriched in cytokine receptor interaction, nuclear factor, tumor necrosis factor, interleukin 17, rheumatoid arthritis, Toll-like receptor and other signal pathways, involving inflammatory reaction, signal transduction, protein phosphorylation and other biological processes, kytoplasm, cell membrane and other cell components, as well as enzyme activity, energy activity and other molecular functions. **CONCLUSIONS** The established UHPLC-Q-Orbitrap HRMS method can be used for the quantitative analysis of the quality control components of Tenghuang jiangu capsule. Its quality control components may be mapped to inflammatory pathways related to bone diseases such as rheumatoid arthritis and Toll-like receptors through *AKT*1, *TNF*, *VEGFA* and other key targets, so as to play a therapeutic role.

KEYWORDS　Tenghuang jiangu capsule; quality control components; content determination; network pharmacology; mechanism

Δ**基金项目**　河南省科技发展计划项目（No.212102311107）

＊**第一作者**　主管药师，博士研究生。研究方向：药物分析。E-mail：fcczhoul@zzu.edu.cn

＃**通信作者**　主任药师。研究方向：医院药学。E-mail：zhangxiaojian_yxb@163.com

藤黄健骨胶囊的组方药材包括骨碎补、淫羊藿、鹿衔草、肉苁蓉、熟地黄、鸡血藤和莱菔子，是在中医药理论的指导下经现代工艺提取加工而成的中药复方制剂[1]，具有补肾、活血、止痛等功效，常用于临床治疗骨质疏松、关节炎等骨质性疾病以及风湿类疾病，疗效确切且应用广泛[2－4]。

质量稳定性是中药应用安全、有效的前提，然而大多数标准仅对中药及其复方中个别含量较大的成分进行了规定，忽略了其他成分对质量的影响，致使无法从整体上有效控制中药及复方的质量[5－7]。本课题组前期采用指纹图谱结合化学计量学方法对20批藤黄健骨胶囊的质量稳定性进行了考察，经主成分分析发现，其整体质量较为稳定，但存在明显的批间差异；进一步的偏最小二乘法-判别分析结果表明，对药物质量差异影响较大的差异性成分有琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素和原儿茶酸。前期研究虽为藤黄健骨胶囊的质控提升奠定了基础，但并未对上述差异性成分的含量进行准确测定，无法实现质控标准的整体量化。此外，在藤黄健骨胶囊治疗疾病时，上述差异性成分是如何相互配合以及通过哪些重要通路治疗相关疾病的，也是当前尚未解决的问题。

因此，为解决以上关键科学问题，本研究拟采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱（UHPLC-Q-Orbitrap HRMS）法建立快速、科学、准确的一级全扫描定量分析方法，对藤黄健骨胶囊中的7种主要差异性成分（以下称“质控成分”）进行含量测定；同时，结合网络药理学对各质控成分的关键作用靶点和信号通路进行分析，挖掘各成分在骨质疏松、关节炎等骨质性疾病以及风湿类疾病治疗中的潜在作用，为全面阐明藤黄健骨胶囊质控成分的科学内涵提供新思路，同时为进一步提升其质控标准奠定基础。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用主要仪器有Q-Exactive型超高效液相色谱-质谱联用系统（美国Thermo Fisher Scientific公司）、New Classic MS型十万分之一分析天平（瑞士Mettler Toledo公司）、BX7200HP型台式超声波清洗器（上海新苗医疗器械制造有限公司）等。

1.2　主要药品与试剂

对照品琥珀酸（批号MUST-17030502）、金丝桃苷（批号MUST-16032113）、没食子酸（批号MUST-18032801）、山柰酚（批号MUST-16032801）、柚皮苷（批号MUST-18050808）、柚皮素（批号MUST-16032406）和原儿茶酸（批号MUST-16032112）均购自成都曼思特生物科技有限公司，纯度均大于99%。甲酸、乙腈、甲醇为色谱纯，水为纯净水，其余试剂均为分析纯。

藤黄健骨胶囊（批号分别为170401、170901、170802、180108、180504、180106、170703、170407、170408、170103、170505、170702、170902、180408、170701、170201、180107、170202、170903、180104，编号为S1～S20，规格为每粒装0.25 g）均购自丽彩甘肃西峰制药有限公司。

2　方法与结果

2.1　质控成分的定量分析

2.1.1　混合对照品储备液的制备　分别精密称取琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸对照品适量，分别置于10 mL容量瓶中，加甲醇溶解并定容，制得琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、原儿茶酸质量浓度均为100 μg/mL，山柰酚、柚皮素质量浓度均为20 μg/mL，柚皮苷质量浓度为1 000 μg/mL的单一对照品母液。量取各单一对照品母液适量，加甲醇定容至1 mL，制得琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸质量浓度分别为20.45、6.07、10.93、0.55、52.66、0.50、19.47 μg/mL的混合对照品储备液。

2.1.2　供试品溶液的制备　取藤黄健骨胶囊内容物1.0 g，置于锥形瓶中，加入甲醇50 mL，密塞，称定质量，超声（功率200 W，频率50 kHz）辅助溶解20 min，放冷后，再次称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，经0.22 μm微孔滤膜过滤，即得供试品溶液。

2.1.3　色谱条件与质谱条件　（1）色谱条件：以ACQUITY UPLC® BEH C_{18}（50 mm×2.1 mm，1.7 μm）为色谱柱，乙腈（A）-0.1%甲酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～1.5 min，5%A；1.5～3.0 min，5%A～20%A；3.0～7.0 min，20%A～100%A；7.0～10.0 min，100%A）；流速为0.3 mL/min；柱温为40 ℃；进样量为5 μL。

（2）质谱条件：离子源为加热电喷雾离子源，离子传输管温度为320 ℃；辅助气温度为300 ℃，辅助气流速为10 μL/min；正离子模式下的鞘气流速为40 μL/min，喷雾电压为3.50 kV；负离子模式下的鞘气流速为38 μL/min，喷雾电压为2.80 kV；扫描范围为*m/z* 80～1 200，一级扫描分辨率为70 000。琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸用于定量的一级质谱信息为*m/z* 117.019、463.088、169.014、287.055、579.171、273.075、153.019。

2.1.4　方法学考察　（1）专属性考察：取“2.1.1”项下混合对照品储备液、“2.1.2”项下供试品溶液（编号S20）和空白溶液（甲醇），按“2.1.3”项下条件进样测定。结果显示，空白溶液对待测成分无干扰，且供试品溶液中7种质控成分的出峰时间与各对照品的出峰时间基本一致，说明方法专属性较好（见图1，空白溶液图略）。

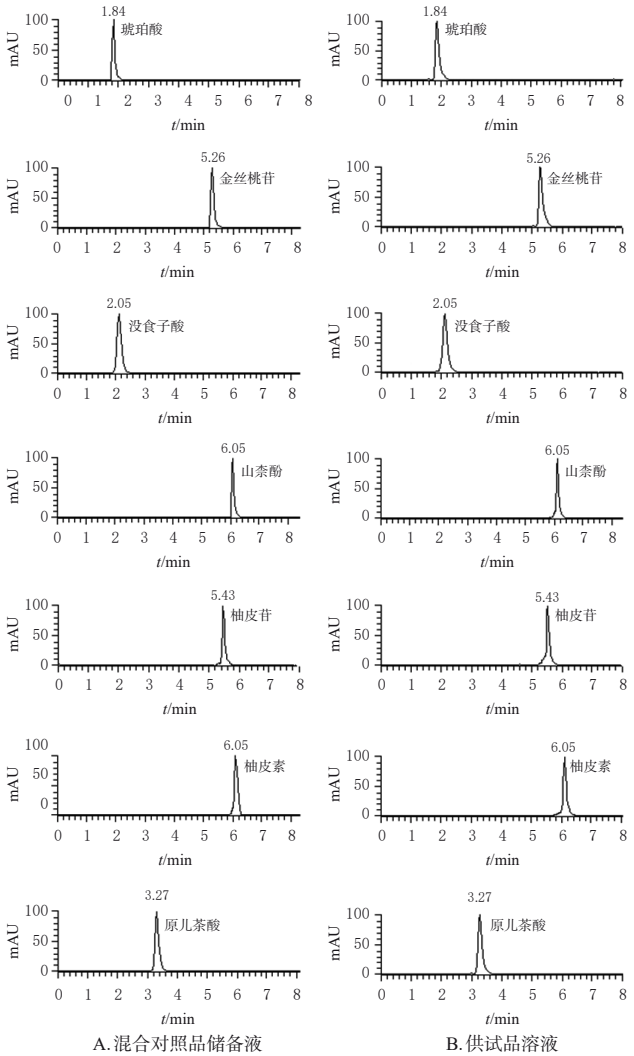


图1　7种质控成分定量分析的提取离子图

（2）线性关系、定量限和检测限考察：分别精密量取“2.1.1”项下混合对照品储备液适量，用甲醇稀释并定容，依次配制成5个质量浓度的系列工作溶液，其中琥珀酸分别为0.64、1.28、2.56、5.11、10.23 μg/mL，金丝桃苷分别为0.19、0.38、0.76、1.52、3.04 μg/mL，没食子酸分别为0.34、0.68、1.37、2.73、5.46 μg/mL，山柰酚分别为0.02、0.03、0.07、0.14、0.27 μg/mL，柚皮苷分别为1.65、3.29、6.58、13.17、26.33 μg/mL，柚皮素分别为0.02、0.03、0.06、0.12、0.25 μg/mL，原儿茶酸分别为0.61、1.22、2.43、4.87、9.74 μg/mL。取上述系列工作溶液和混合对照品储备液，按“2.1.3”项下条件进样分析，记录峰面积。以各待测成分的质量浓度为横坐标（X）、峰面积为纵坐标（Y）进行线性回归，并以信噪比10∶1确定定量限，以信噪比3∶1确定检测限。结果（表1）显示，7种质控成分在各自检测质量浓度范围内与其峰面积有良好的线性关系（$r\geq 0.999\ 0$），定量限为0.004～0.901 ng/mL，检测限为0.001～0.270 ng/mL。

表1　7种质控成分的回归方程、线性范围和定量限

质控成分	回归方程	r	线性范围/(μg/mL)	定量限/(ng/mL)	检测限/(ng/mL)
琥珀酸	$Y=1.27\times10^{8}X+4.07\times10^{6}$	0.999 4	0.64～20.45	0.901	0.270
金丝桃苷	$Y=1.03\times10^{8}X+3.94\times10^{6}$	0.999 6	0.19～6.07	0.053	0.016
没食子酸	$Y=2.32\times10^{8}X-3.32\times10^{7}$	0.999 3	0.34～10.93	0.393	0.118
山柰酚	$Y=6.40\times10^{8}X-5.43\times10^{6}$	0.999 7	0.02～0.55	0.087	0.026
柚皮苷	$Y=5.90\times10^{7}X+4.87\times10^{7}$	0.999 0	1.65～52.66	0.235	0.070
柚皮素	$Y=4.93\times10^{8}X-1.59\times10^{6}$	0.999 6	0.02～0.50	0.004	0.001
原儿茶酸	$Y=2.83\times10^{8}X+6.38\times10^{7}$	0.999 4	0.61～19.47	0.435	0.131

（3）精密度考察：取供试品溶液（编号S20），按“2.1.3”项下条件连续进样6次，记录峰面积。结果显示，琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸峰面积的RSD分别为1.89%、1.55%、2.32%、1.56%、2.94%、2.08%、0.40%（$n=6$），表明方法精密度良好。

（4）重复性考察：取藤黄健骨胶囊样品（编号S20），按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液6份，按“2.1.3”项下条件进样测定，记录峰面积并按标准曲线法计算含量。结果显示，琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸含量的RSD分别为1.74%、1.00%、1.14%、1.67%、1.24%、1.94%、1.75%（$n=6$），表明方法重复性良好。

（5）稳定性考察：取供试品溶液（编号S20），分别于室温下放置0、2、6、10、12、24 h时按“2.1.3”项下条件进样测定，记录峰面积。结果显示，琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸峰面积的RSD分别为0.89%、1.50%、1.98%、2.90%、2.53%、1.72%、0.42%（$n=6$），表明供试品溶液放置24 h内稳定。

（6）加样回收率考察：称取已知含量的藤黄健骨胶囊内容物（编号S20）共9份（每3份为1组），每份约0.5 g。分别按照已知量的50%、100%、150%加入“2.1.1”项下各单一对照品母液适量，加甲醇至50 mL，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1.3”项下条件进样测定，记录峰面积并计算加样回收率。结果显示，琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸的平均加样回收率分别为96.77%、98.58%、100.66%、97.99%、98.54%、102.08%、97.61%，RSD分别为2.83%、0.82%、3.42%、3.92%、2.46%、2.28%、3.84%（$n=9$），表明方法准确度良好。

（7）样品含量测定：取20批藤黄健骨胶囊内容物，按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液，每批3份，按“2.1.3”项下条件进样测定，记录峰面积并按标准曲线法计算含量。结果（表2）显示，20批藤黄健骨胶囊中琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸、山柰酚、柚皮苷、柚皮素、原儿茶酸的平均含量分别为520.92、67.67、129.48、4.74、397.45、5.66、376.62 μg/g。

表2　7种质控成分的测定结果（$n=3$，μg/g）

编号	琥珀酸	金丝桃苷	没食子酸	山柰酚	柚皮苷	柚皮素	原儿茶酸
S1	444.87	60.36	129.24	8.45	349.01	5.06	313.41
S2	506.78	84.33	175.71	6.22	464.25	6.33	453.73
S3	438.62	84.37	154.38	5.89	473.89	5.73	352.25
S4	301.65	68.27	90.17	2.75	347.15	3.22	190.10
S5	537.27	77.64	135.43	6.28	418.05	6.72	455.18
S6	481.73	63.77	121.16	5.32	487.07	6.89	374.95
S7	634.20	97.51	157.19	7.29	474.61	6.27	468.00
S8	706.01	42.57	133.96	3.44	397.90	5.47	455.34
S9	463.53	44.07	95.49	2.53	401.75	4.57	258.20
aS10	515.96	51.40	136.21	4.45	373.38	5.45	399.86
S11	667.56	50.52	135.13	3.48	444.93	7.04	366.49
S12	552.34	88.37	107.59	6.24	440.95	5.46	344.63
S13	250.44	88.24	103.92	3.10	358.16	4.00	184.90
S14	449.57	72.70	126.36	3.77	200.13	4.73	363.46
S15	235.49	99.66	68.18	2.46	323.15	2.74	143.07
S16	733.96	43.95	139.01	3.51	333.63	6.44	487.50
S17	459.88	48.10	104.48	4.42	475.24	5.75	349.44
S18	946.26	41.82	184.21	2.98	328.09	7.25	619.30
S19	496.84	69.76	149.24	6.35	420.94	7.31	443.64
S20	595.48	76.03	142.55	5.93	436.74	6.75	508.86
平均值	520.92	67.67	129.48	4.74	397.45	5.66	376.62

2.2　质控成分的网络药理学分析

2.2.1　作用靶点的获取　结合PharmMapper数据库（http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/）、SwissTargetPrediction数据库（http://www.swisstargetprediction.ch/）和STITCH数据库（http://stitch.embl.de/）3个权威网站预测琥珀酸（succinic acid）、金丝桃苷（hyperoside）、没食子酸（gallic acid）、山柰酚（kaempferol）、柚皮苷（naringin）、柚皮素（naringenin）、原儿茶酸（protocatechuic acid）的作用靶点，共获得662个作用靶点（包括重复靶点）。

2.2.2　“成分-靶点”网络的构建　基于Cytoscape 3.9.1软件构建上述7种质控成分的“成分-靶点”相互作用网络（图2），删除重复靶点后，该网络包含364个节点和662条边。以中位度值的2倍为筛选条件[8]，获得62个关键作用靶点；频数较高的靶点基因包括*AKT1*、*TNF*、*VEGFA*、*MMP9*、*PTGS2*、*CD4*、*IL2*、*MMP2*等，这些基因与免疫炎症、疼痛、血管增生以及骨性疾病等密切相关[9-12]。

2.2.3　京都基因和基因组数据库通路富集分析　将筛选到的62个关键作用靶点导入DAVID数据库（https://david.ncifcrf.gov/）进行京都基因和基因组数据库（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）通路富集分析，以$P<0.05$为筛选条件，共得到44条通路，经重要性（P值）排序，其中排名前20位的重要通路分别为细胞因子受体相互作用、细胞核因子、肿瘤坏死因子、白细胞介素17、类风湿性关节炎、Toll样受体等。由此可见，质控成分对应的靶点基因主要富集于炎症方面的信号通路上，这些通路与骨关节炎、风湿性关节炎等疾病密切相关，与藤黄健骨胶囊的主治疾病契合度较高，表明了本研究对琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸等成分进行定量分析的科学性和合理性。

2.2.4　基因本体生物过程富集分析　将筛选到的62个关键作用靶点导入DAVID数据库进行基因本体（gene ontology，GO）生物过程富集分析，从生物过程、细胞组分和分子功能3个层面进行注释。GO生物过程富集分析结果显示，62个关键作用靶点主要富集在264个生物过程、69种细胞组分和60种分子功能上。琥珀酸、金丝桃苷、没食子酸等成分的生物过程主要涉及炎症反应、信号转导、蛋白磷酸化等；这些靶点在细胞组分中与胞质、胞膜以及胞核等相关性较大；在分子功能中与酶活性、能量活性、生长因子活性、炎症因子活性等高度相关。

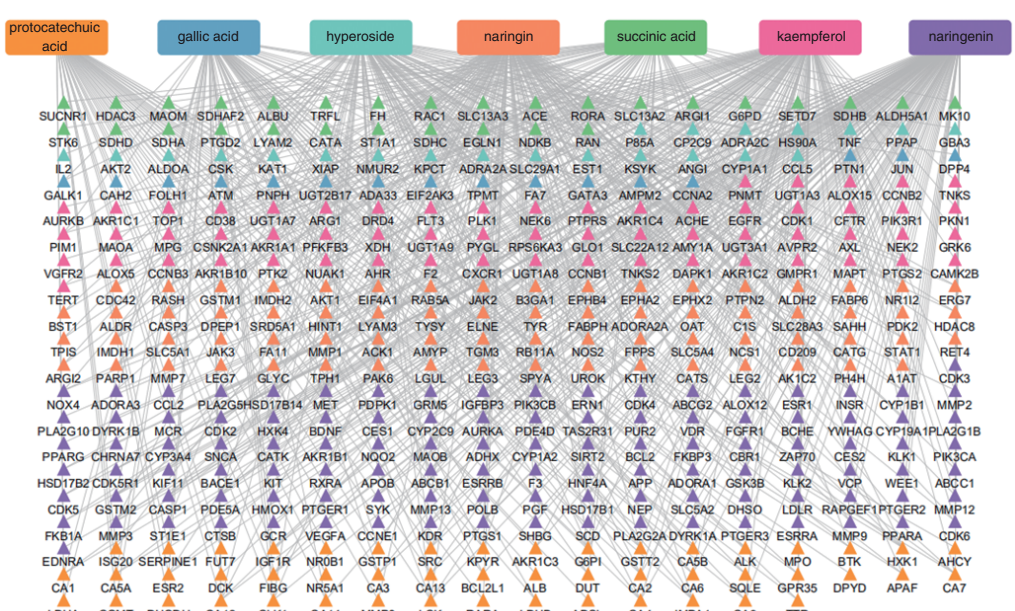


图2　7个质控成分的“成分-靶点”相互作用网络图

3 讨论

3.1 前处理方法优化

本课题组前期考察了不同提取方法（超声提取、微波萃取和回流提取）对供试品提取效率的影响。结果发现，当采用超声提取时，样品中各质控成分的色谱响应值最高且出峰稳定；而在微波萃取、回流提取条件下，各成分响应值较低，有些成分甚至出现缺失现象，峰形较差，分离效果不佳。其原因可能为药物中成分对温度较为敏感，微波萃取和回流提取在温度过高时可能破坏其结构。因此，本研究采用超声提取法制备供试品溶液。

3.2 质控成分含量分析

本研究实验结果表明，不同批次藤黄健骨胶囊中各质控成分的含量具有一定的差异。这可能与药物生产过程中的关键环节有关，如：原药材的产地不同，原药材的采收季节不同或者原药材有效成分的提取方法、工艺差异等。上述因素均有可能导致药物有效成分含量的变化，提示相关生产厂家在重点环节应优化质控方法及标准，保证原药材及制剂质量的均一性。

3.3 网络药理学分析

本研究基于关键质控成分进行了网络药理学分析，以期能够挖掘藤黄健骨胶囊治疗疾病的潜在机制。研究结果表明，该制剂中的7种质控成分主要作用于*AKT*1、*TNF*、*VEGFA*等炎症和血管因子关键靶点，从而映射到类风湿性关节炎、Toll样受体等骨性疾病相关炎症通路，表明上述质控成分可能是制剂质量控制和疗效发挥的关键成分。

实验药理学表明，山柰酚具有明显的抗生育、抗骨质疏松、促进成骨细胞增殖和分化以及抗血小板的作用[13—14]，是该药补肾壮骨、活血功效的重要活性成分之一；柚皮苷及柚皮素具有骨保护和促进骨生长的作用[15]；金丝桃苷具有抗血栓的作用[16]，琥珀酸具有镇痛的作用[17]；没食子酸、原儿茶酸具有抗炎的作用[18—19]。以上质控成分在藤黄健骨胶囊治疗骨性疾病的过程中可从不同角度发挥着抗炎、缓解疼痛、促进骨形成、防止骨质丢失等骨保护作用。

综上所述，本研究建立的方法可用于藤黄健骨胶囊质控成分的定量分析，为药物质量标准的制定和提升奠定了前期基础；同时，基于网络药理学研究发现，藤黄健骨胶囊的7种质控成分可能通过作用于*AKT*1、*TNF*、*VEGFA*等炎症和血管因子关键靶点，继而调节类风湿性关节炎、Toll样受体等骨性疾病相关炎症通路，最终发挥抗炎、镇痛及健骨等作用。

参考文献

[1] 辛荣超，郑宇，党建军，等. 藤黄健骨胶囊联合中药湿热敷治疗经皮椎体后凸成形术术后残余腰痛的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志，2021，29(10)：13-16.

[2] 符仲秋，王维学，丰景斌. 藤黄健骨胶囊对大鼠膝骨关节炎的影响[J]. 中国临床药理学杂志，2021，37(15)：1996-1998.

[3] 杨文博，乔莉，刘红喜，等. 藤黄健骨胶囊在骨质疏松性椎体压缩骨折经皮椎体成形术中的应用[J]. 中华中医药学刊，2021，39(10)：215-218.

[4] 李云卿，金鹤. 藤黄健骨胶囊对绝经后骨质疏松症患者的临床疗效[J]. 宁德师范学院学报（自然科学版），2021，33(1)：66-70，95.

[5] 赵冬青. 中药复方制剂的质量控制方法探讨[J]. 中医药管理杂志，2022，30(3)：200-202.

[6] 陈菊莲. 中药质量追溯体系现状分析与展望[J]. 中医药管理杂志，2021，29(24)：297-298.

[7] 胡晓茹，王海南，王亚丹，等. 中成药质量控制的思考与建议[J]. 中国食品药品监管，2021(9)：10-15.

[8] 项荣武，肖珅，翟菲，等. 一种基于网络药理学的关键通路与关键靶点筛选方法与流程：202010908597.5[P]. 2020-12-18.

[9] 李洁滢，胡琳，杨艳娟，等. 雷帕霉素通过AKT/mTOR途径抑制川崎病冠状动脉内皮细胞炎症因子的表达[J]. 中国病理生理杂志，2022，38(8)：1376-1383.

[10] 葛燕燕，陆进，梁启胜. 癌症疼痛基因的生物信息学分析及其临床意义[J]. 中国医药指南，2020，18(28)：1-3，9.

[11] 赵东肖，宋良月. 血管性痴呆患者脑脊液LCN2和VEGFA表达水平及临床意义[J]. 热带医学杂志，2022，22(6)：842-845，858.

[12] 吴星，李炜明，康荣彬，等. Skp2、p27、p53、Caveolin-1、MMP-9及MMP-2在骨肉瘤组织中的表达及其临床意义[J]. 福建医药杂志，2020，42(6)：39-42.

[13] 雷晓青，陈鳌，刘毅，等. 山萘酚药理作用的研究进展[J]. 微量元素与健康研究，2017，34(2)：61-62.

[14] 黄安玉. 养心草水提乙酸乙酯部位止血和抗炎活性的筛选[D]. 福州：福建中医药大学，2014.

[15] 李积东，黄起壬. 柚皮苷的分离提取及药理作用研究进展[J]. 北方药学，2014，11(7)：67-68.

[16] 李锦松，陈剑鸿，孟民杰. 金丝桃苷药理作用及其作用机制的研究进展[J]. 广东药学院学报，2015，31(2)：269-272.

[17] 金园，岳旺. 琥珀酸的药理研究进展[J]. 中国药学杂志，1983，18(2)：36-38.

[18] 胡睿智，贺宇佳，李柏珍，等. 原儿茶酸的生理功能及其在畜禽生产中的应用[J]. 动物营养学报，2019，31(11)：4978-4985.

[19] 郑雪花，杨君，杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展[J]. 中国医院药学杂志，2017，37(1)：94-98，102.

（收稿日期：2022-05-19　修回日期：2022-08-19）

（编辑：曾海蓉）