

· 实验研究 ·

利用液相和质谱联用技术以及网络药理学分析藏药五味甘露药浴汤散治疗痛风关节炎的有效成分及作用机制

丁 银¹, 张 琨¹, 苟晓玲², 彭家艳², 罗玉婷², 曾宇骄², 王天虹¹, 范 刚^{1,2}
(1 成都中医药大学民族医药学院, 成都 611137; 2 成都中医药大学药学院, 成都 611137)

[摘要] **目的:**探究五味甘露药浴汤散治疗痛风关节炎(GA)的有效成分和潜在机制。**方法:**利用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS)鉴定五味甘露药浴汤散的主要化学成分,通过 Swiss Target 数据库筛选成分靶点,运用 GeneCards, OMIM 等数据库筛选疾病靶点,采用 STRING 平台构建 PPI 网络选取关键靶点,利用 DAVID 数据库对药物和疾病共有靶点进行 GO 和 KEGG 通路富集,讨论五味甘露药浴汤散治疗 GA 的作用机制。此外,通过 Cytoscape 3.9.1 软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络,并利用 Maestro 软件对成分与核心靶点进行分子对接,筛选出有效成分。**结果:**共鉴定出 52 个化合物,包括 24 个黄酮类成分、5 个生物碱类成分、10 个有机酸类成分、5 个酚类成分、5 个苯丙素类成分、2 个萜类成分以及 1 个烷烃类成分。网络药理学分析发现五味甘露药浴汤散成分靶点 520 个,交集靶点 141 个,筛选出 5 个核心靶点(SRC, STAT3, PIK3CA, MAPK1, HSP90AA1)。分子对接结果显示木犀草苷等 6 个成分与 5 个核心靶点具有较好的结合能力。**结论:**五味甘露药浴汤散治疗 GA 的活性成分为木犀草苷、海波拉亭-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、海波拉亭-7-O-β-D-吡喃木糖苷、槲皮素、柚皮素和木犀草素,其机制可能与这些成分作用于 SRC, STAT3, PIK3CA 等靶点调控 PI3K-Akt, Ras, MAPK 等信号通路有关。

[关键词] 五味甘露药浴汤散;痛风关节炎;超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱;网络药理学;分子对接

[中图分类号] R965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)17-1783-12

Analysis of the effective components and possible mechanism of tibetan medicine Wuwei Ganlu yaoyu decoction powder in treating gouty arthritis by liquid chromatography mass spectrometry and network pharmacology

DING Yin¹, ZHANG Kun¹, GOU Xiao-ling², PENG Jia-yan², LUO Yu-ting², ZENG Yu-jiao²,
WANG Tian-hong¹, FAN Gang^{1,2}

(1 College of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China;
2 School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** The present study explored the active ingredients and potential mechanism of Wuwei Ganlu yaoyu decoction powder in the treatment of gouty arthritis(GA). **Methods:** The main chemical components of Wuwei Ganlu yaoyu decoction powder were identified by UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS. The target compounds were screened from the identified compounds by Swiss Target database. The databases genecards, OMIM and others were used to screen disease targets, STRING to build PPI network and select key targets, DAVID to enrich GO and KEGG pathways of common targets of drug diseases. Based on these, we discussed the mechanism of Wuwei Ganlu yaoyu decoction powder in the treatment of GA. In addition, the “drug-component-target-disease” network was constructed by using Cytoscape 3.9.1 software, and Maestro software was used to conduct molecular docking

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81803846);国家重点研发计划资助项目(2019YFC1712302)

[作者简介] 丁银,女,硕士研究生,主要从事中药及民族药成分分析和质量控制研究。联系电话:(028)61656141,E-mail:406316638@qq.com。

[通讯作者] 范刚,男,博士,教授,主要从事民族药质量控制及药效物质基础研究。联系电话:(028)61656141,E-mail:fangang1111@163.com。

王天虹,女,讲师,主要从事民族药药效物质基础研究。联系电话:(028)61656141,E-mail:wangtianhong@cdutcm.edu.cn。

between components and core targets to screen effective components. **Results:** A total of 52 compounds were identified, including 24 flavonoids, 5 alkaloids, 10 organic acids, 5 phenols, 5 phenylpropanoids, 2 terpenoids and 1 alkane. According to the analysis of network pharmacology, there were 520 component targets and 141 intersection targets of Wuwei Ganlu yaoyu decoction powder, and 5 core targets were screened (SRC, STST3, PIK3CA, MAPK1, HSP90AA1). Molecular docking showed that six components such as Luteolin had good binding ability with five core targets. **Conclusion:** The active components of Wuwei Ganlu yaoyu decoction powder in the treatment of GA are luteolin, hyperoxin-7-*O*- β -*D*-glucopyranoside, Hyprolathine-7-*O*- β -*D*-xylopyranoside, quercetin, naringin and luteolin, which may be related to the action on targets like SRC, STAT3, PIK3CA and others to regulate the signal pathways of PI3K Akt, Ras, MAPK, etc.

[Key words] Wuwei Ganlu yaoyu decoction powder; gouty arthritis; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS; network pharmacology; molecular docking

五味甘露药浴汤散为临床常用藏药,是藏医典籍《四部医典》中的经典方剂,由水柏枝、圆柏、藏麻黄、烈香杜鹃、大籽蒿组成^[1],具有发汗、消炎、止痛、平黄水、活血通络等功效,常用于治疗风湿性关节炎、痛风性关节炎(gout arthritis, GA)、偏瘫、皮肤病、妇女产后疾病等。

GA 是长期高尿酸状态下导致尿酸盐沉积于关节囊、滑囊、软骨等组织中引发关节炎及病损的一类代谢障碍性疾病^[2]。近年来,GA 发病率逐步升高,该病还可能引起肾功能损害,严重影响人类健康。临床研究发现,五味甘露药浴方可有效改善 GA 的临床症状且无不良反应^[3]。然而,其有效成分和作用机制尚不明确。因此,本研究采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS)定性分析技术,全面解析了五味甘露药浴汤散的化学成分,并采用网络药理学和分子对接技术对其治疗 GA 的药效成分与作用机制进行探讨,以期为后续的质量控制、临床应用和药物开发提供参考。

材料与方法

1 仪器

Vanquish™超高效液相色谱仪(美国 Thermo-Fisher 公司);Q-Exactive™ Orbitrap 高分辨质谱仪(美国 Thermo-Fisher 公司);Compound Discoverer 3.0 工作站(美国 Thermo-Fisher 公司);Sartorius BSA124S 型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);CQ-250 超声清洗器(上海必能信有限公司);TDZ5-WS 台式低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

2 试药与试剂

五味甘露药浴汤散(云南省迪庆州藏医院,批

号:202033);对照品:没食子酸(批号:110831-201204)和槲皮素(批号:100081-200406)购于中国食品药品检定研究院;金丝桃苷(批号:J-012-130819)和山柰酚(批号:S-014-180908)购于成都瑞芬思生物科技有限公司;绿原酸(批号:DSTDL-002102)和穗花杉双黄酮(批号:DST201025-046)购于成都德思特生物技术有限公司;芦丁(成都曼思特生物科技有限公司,批号:MUST-17111601);鞣花酸(成都普思生物科技股份有限公司,批号:PS0845-0100);柏木双黄酮由实验室自制。所有对照品纯度均大于 98%。

色谱级甲酸(成都市科隆化学品有限公司);色谱级甲醇(美国 Sigma 公司);水为屈臣氏蒸馏水。

3 五味甘露药浴汤散化学成分分析

3.1 供试品溶液制备

取五味甘露药浴汤散粉末约 1 g,精密称定,置 50 mL 锥形瓶中,精密加入纯甲醇 20 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 200 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再次称定重量甲醇补足减失的重量,摇匀,离心(4 000 r·min⁻¹)10 min,取上清液过 0.22 μ m 微孔滤膜,即得。

3.2 对照品溶液

取适量没食子酸、槲皮素、穗花杉双黄酮、柏木双黄酮、芦丁、金丝桃苷、绿原酸、山柰酚、鞣花酸对照品,精密称定,分别加甲醇定容至 5 mL 容量瓶中,得质量浓度为 0.1 mg·mL⁻¹的对照品储备液。取适量对照品贮备液混合后,过 0.22 μ m 微孔滤膜,得对照品混合液。

3.3 色谱条件及质谱条件

3.3.1 色谱条件 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 柱(100 mm × 4.6 mm, 1.8 μ m);流动相:甲醇-0.1% 甲酸溶液;梯度洗脱(0 ~ 10 min, 8% ~ 15%; 10 ~ 25 min,

15% ~ 30% ; 25 ~ 35 min, 30% ~ 45% ; 35 ~ 45 min, 45% ~ 65% ; 45 ~ 55 min, 65% ~ 80% ; 55 ~ 60 min, 80% ~ 95%) ; 流速 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量 $2 \mu\text{L}$ 。

3.3.2 质谱条件 采用 HESI 离子源,正、负离子模式检测,正离子检测模式,喷雾电压 $+3\ 500 \text{ V}$; 负离子检测模式,喷雾电压 $-3\ 000 \text{ V}$,鞘气流速 35.0 Arb ,辅助气流速 10.0 Arb ,毛细管温度 $320 \text{ }^{\circ}\text{C}$; 采用 Full MS/dd-HRMS² 扫描模式,Full MS 分辨率 $70\ 000$, dd-HRMS² 分辨率 $17\ 500$,扫描范围 $m/z\ 100 \sim 2\ 655$ 。

3.4 数据处理

数据库:Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) ; UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) ; 人类孟德尔遗传数据库 (OMIM, <https://www.omim.org/>) ; STRING 数据库 (<https://string-db.org/>) ; DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) ; 蛋白数据库 RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>)。Cytoscape 3.9.1 软件和 Maestro 软件。

将原始数据导入 Compound Discoverer 3.0 软件中,进行峰提取,保留时间校正等预处理,处理后的质谱数据与 mzCloud, mzVault 数据库中相对分子量和二级碎片离子进行匹配。此外,查阅五味甘露药浴汤散复方中药材化学成分相关文献及收集其化学成分二级离子碎片等信息,对鉴定的成分进一步的验证比对。

4 分子对接及网络药理学研究

4.1 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络图的构建和核心靶点的筛选

将已鉴定的化合物导入 Swiss Target Prediction 数据库和 TCMSP 数据库,获取潜在的靶点。以“gout arthritis”为关键词,在 GeneCards, OMIM 数据库中收集汇总 GA 相关靶点,筛得二者交集靶点作

为五味甘露药浴汤散治疗 GA 潜在靶点。将交集靶点上传至 STRING 平台以 TSV 格式获得 PPI 网络图 (物种选择“Homo sapiens”,置信度 >0.9),最后导入 Cytoscape 3.9.1 软件进行可视化分析,根据度中心性 (DC)、紧密中心性 (CC)、介数中心性 (BC) 筛选关键靶点。

4.2 交集靶点 GO 分析和 KEGG 信号通路富集

使用 DAVID 6.8 数据库对交集靶点进行 GO 和 KEGG 分析,物种与背景设置均为“Homo sapiens”,设定阈值 $P < 0.01$,其中 GO 功能分析包括生物过程 (biology process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组成 (cellular componet, CC) ; 运用 OmicShare 云平台对五味甘露药浴汤散治疗 GA 靶点的富集通路进行可视化分析。

4.3 构建“药物-成分-靶点-疾病”可视化图

使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建五味甘露药浴汤散成分-交集靶点-GA 疾病模型,以节点表示药物、化学成分、靶点和疾病,以边来表示节点之间相互作用的关系。

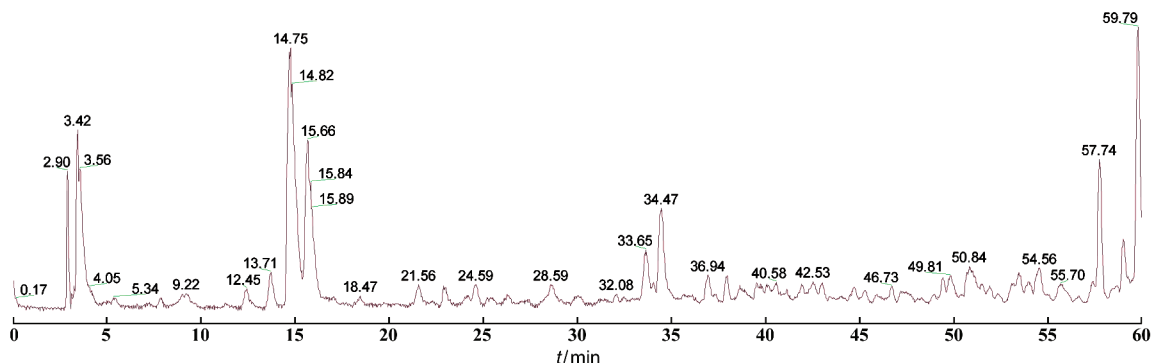
4.4 分子对接

通过 PubChem 网站下载五味甘露药浴汤散中已鉴定成分的 SDF 结构,在蛋白质数据库 (PDB) 下载关键靶点蛋白的 X 射线晶体结构保存为 PDB 格式。利用 Maestro 软件对靶蛋白与化合物进行处理,将已鉴定的成分与核心靶点进行对接并分析其结果。

结 果

1 化学成分分析

五味甘露药浴汤散正负模式下总离子流图如图 1 所示,通过质谱信息进行对比分析,利用化学成分库及参考文献进行结构鉴定,共得到 52 种化合物,包括黄酮类、生物碱类以及有机酸类等化学成分,见表 1。



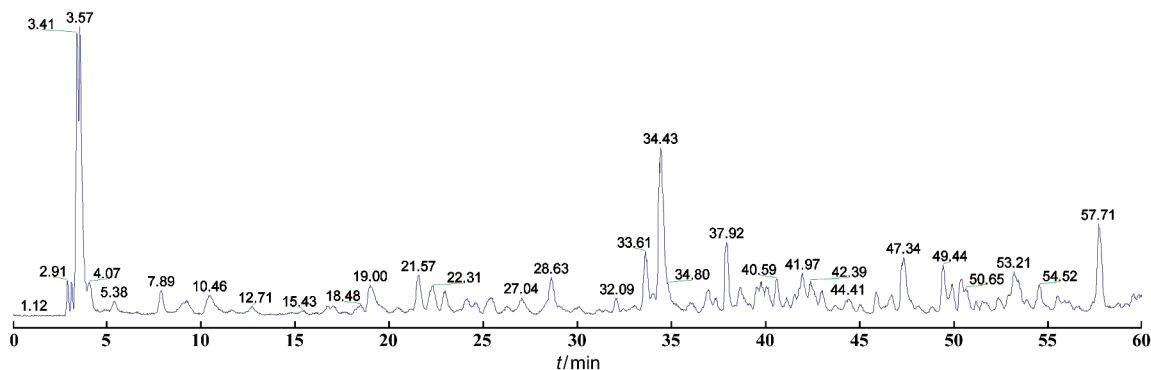


图1 五味甘露药浴汤散的正负总离子流图

表1 五味甘露药浴汤散化学成分的 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 鉴定

序号	t_R /min	分子式	离子模式	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 /ppm	主要离子碎片 (ms/ms)	化合物	类别
* 1	8.82	$C_7H_6O_5$	$[M-H]^-$	169.013 6	169.014 2	-3.550	337.114 1 $[2M-H]^-$ 125.023 5 $[M-H-COO]^-$	没食子酸	b
2	12.61	$C_{15}H_{14}O_7$	$[M-H]^-$	305.066 7	305.066 6	0.328	287.056 3 $[M-H-H_2O]^-$ 219.065 8 $[M-H-CO_2C_2H_2O]^-$ 179.034 3 $[C_9H_7O_4]^-$ 167.034 2 $[C_8H_7O_4]^-$ 137.070 2 $[C_7H_5O_3]^-$ 125.023 5 $[C_6H_5O_3]^-$	表没食子儿茶素 ^[4]	c
3	12.37	$C_9H_{13}NO$	$[M+H]^+$	152.107 3	152.106 9	2.629	134.096 5 $[M+H-H_2O]^+$ 117.070 2 $[M+H-H_2O-NH_3]^+$	去甲基麻黄碱 ^[5]	a
4	13.66	$C_9H_{14}NO$	$[M+H]^+$	152.107 7	152.106 9	5.259	134.096 5 $[M+H-H_2O]^+$ 117.070 2 $[M+H-H_2O-NH_3]^+$	去甲基伪麻黄碱 ^[5]	a
5	14.65	$C_{10}H_{15}NO$	$[M+H]^+$	166.122 3	166.122 6	-1.806	148.112 0 $[M+H-H_2O]^+$ 133.088 6 $[M+H-H_2O-CH_3]^+$ 117.070 1 $[M+H-H_2O-CH_3-NH_2]^+$	麻黄碱 ^[5]	a
6	15.36	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$	153.018 6	153.019 3	-4.575	109.028 6 $[M-H-CO_2]^-$	原儿茶酸	e
7	15.48	$C_8H_8O_4$	$[M-H]^-$	167.034 1	167.034 9	-4.789	152.010 8 $[M-H-CH_3]^-$ 123.044 2 $[M-H-COOH]^-$	香草酸 ^[13]	b
8	15.62	$C_{10}H_{16}NO$	$[M+H]^+$	166.122 5	166.122 6	-0.602	148.112 0 $[M+H-H_2O]^+$ 133.088 6 $[M+H-H_2O-CH_3]^+$ 117.070 1 $[M+H-H_2O-CH_3-NH_2]^+$	伪麻黄碱 ^[5]	a
9	15.76	$C_{11}H_{17}NO$	$[M+H]^+$	180.138 2	180.138 2	-1.110	162.127 7 $[M+H-H_2O]^+$ 147.104 2 $[M+H-H_2O-CH_3]^+$ 117.070 2 $[M+H-H_2O-CH_2-CH_3-NH_2]^+$	甲基麻黄碱 ^[5]	a
10	19.13	$C_8H_8O_5$	$[M-H]^-$	183.029 3	183.029 8	-2.732	168.005 6 $[M-H-CH_3]^-$ 124.015 5 $[M-H-C_2H_3O_2]^-$	没食子酸甲酯 ^[7]	e
11	19.41	$C_7H_6O_3$	$[M-H]^-$	137.023 6	137.024 4	-5.838	119.013 0 $[M-H-H_2O]^-$ 109.028 8 $[M-H-CO]^-$	对羟基苯甲酸 ^[6]	b
12	21.10	$C_{15}H_{14}O_7$	$[M-H]^-$	305.066 7	305.066 6	0.327	137.023 5 $[M-H-C_8H_8O_4]^-$ 121.028 6 $[C_7H_5O_2]^-$ 109.028 5 $[C_7H_5O_3-CO]^-$	白矢车菊素 ^[8]	e

序号	t_R/min	分子式	离子模式	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 /ppm	主要离子碎片 (ms/ms)	化合物	类别
13	23.79	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	151.039 3	151.04	-4.635	123.007 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$ 105.039 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^-$	对羟基苯乙酸 ^[10]	b
* 14	24.21	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	353.087 2	353.087 8	-1.699	191.055 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$ 161.023 7 $[\text{caffeic acid}-\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 173.044 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3-\text{H}_2\text{O}]^-$	绿原酸 ^[9]	b
15	25.43	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	353.087 7	353.087 8	-0.283	191.055 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{咖啡酰基}]^-$ 179.034 3 $[\text{caffeic}-\text{H}]^-$ 173.044 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{咖啡酰基}-\text{H}_2\text{O}]^-$ 155.034 0 $[\text{caffeic acid}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 135.044 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{咖啡酰基}-\text{CO}_2]^-$	新绿原酸 ^[9]	b
16	25.45	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	179.033 8	179.033 8	0.000	161.059 9 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 151.039 0 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}]^+$ 135.044 1 $[\text{M}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$	马栗树皮素	d
17	26.11	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	369.082 6	369.082 7	-0.271	354.060 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$ 207.029 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 192.005 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{CH}_3]^-$	白蜡树苷 ^[11]	d
18	26.91	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	179.034 3	179.034 9	-3.351	135.034 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 107.049 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2-\text{CO}]^-$	咖啡酸 ^[12]	b
19	26.94	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	197.045 2	197.045 5	-1.522	182.021 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$ 168.924 2 $[\text{M}-\text{H}-2\text{CH}_2]^-$	没食子酸乙酯	e
20	30.50	$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_9$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	385.153 4	385.150 4	7.789	223.060 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$	甲基丁香苷	d
21	33.63	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	437.105 9	437.106 8	-2.058	305.072 5 $[\text{M}+\text{H}-\text{xy}]^+$ 287.060 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{xy}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 153.018 2 $[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_4]^+$ 135.043 9 $[\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_2]^+$	二氢榭皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -吡喃木糖苷	c
22	35.29	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	$[\text{M}+\text{H}]^+$	195.067 0	195.065 1	9.740	177.054 7 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 145.028 4 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$ 117.033 8 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CO}]^+$	阿魏酸	b
23	35.99	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	193.050 4	193.050 3	0.518	178.026 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3]^-$ 134.036 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{CH}_3-\text{CO}_2]^-$ 149.060 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$	异阿魏酸	b
24	38.78	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	433.113 6	433.114 0	-0.923	271.061 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{glc}]^-$ 165.018 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{glc}-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}]^-$ 151.002 9 $[\text{C}_7\text{H}_3\text{O}_4]^-$ 119.049 3 $[\text{C}_8\text{H}_7\text{O}]^-$	柚皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[14]	c
25	39.13	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	463.088 2	463.088 1	0.215	301.035 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{glc}]^-$ 134.036 5 $[\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2]^-$ 151.002 9 $[\text{C}_7\text{H}_3\text{O}_4]^-$	海波拉亭-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷	c
* 26	39.80	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	$[\text{M}-\text{H}]^-$	463.088 4	463.088 1	-1.290	301.034 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^-$ 255.029 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4-\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^-$ 151.002 9 $[\text{C}_7\text{HO}_4]^-$	金丝桃苷 ^[15]	c

序号	t_R/min	分子式	离子模式	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 /ppm	主要离子碎片 (ms/ms)	化合物	类别
* 27	39.92	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M+H]^+$	611.159 9	611.160 6	-1.145	465.122 1 $[M+H-C_6H_{10}O_4]^+$ 303.056 8 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4]^+$ 285.044 8 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-H_2O]^+$ 257.047 3 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-H_2O-CO]^+$ 229.051 5 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-H_2O-2CO]^+$ 165.018 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-C_7H_6O_3]^+$ 153.018 3 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_6H_{10}O_4-C_8H_6O_3]^+$	芦丁 ^[15]	c
28	40.02	$C_{14}H_{16}$	$[M+H]^+$	185.132 0	185.132 4	-2.161	170.108 7 $[M+H-CH_3]^+$ 155.085 3 $[M+H-2CH_3]^+$ 156.093 1 $[M+H-CH_2CH_3]^+$	兰香油/母菊萸	g
29	40.04	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M+H]^+$	465.104 0	465.102 7	2.795	487.214 4 $[M+Na]^+$ 303.049 4 $[M+H-C_6H_{10}O_5]^+$ 165.018 1 $[M+H-C_6H_{10}O_5-C_7H_6O_3]^+$ 153.018 6 $[M+H-C_{14}H_{16}O_8]^+$ 137.023 1 $[M+H-C_{14}H_{16}O_9]^+$	异瓣皮苷	c
30	40.55	$C_{20}H_{18}O_{11}$	$[M-H]^-$	433.077 5	433.077 6	-0.231	300.027 5 $[M-H-xy1]^-$ 151.002 9 $[C_7H_3O_4]^-$ 135.008 1 $[C_7H_3O_3]^-$ 61.986 9 $[C_7H_3O_3-2CO-H_2O]^-$	海波拉亭-7- O - β - D - 吡喃木糖苷	c
* 31	41.53	$C_{14}H_6O_8$	$[M-H]^-$	300.998 9	300.998 9	0.000	283.996 2 $[M-H_2O]^-$ 257.008 5 $[M-H-CO_2]^-$ 245.008 9 $[M-H-2CO]^-$ 229.013 9 $[M-H-CO_2-CO]^-$ 185.023 7 $[M-H-2CO_2-CO]^-$ 603.005 8 $[2M-H]^-$	鞣花酸 ^[16]	e
32	42.05	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	447.094 9	447.093 2	3.802	285.040 4 $[M-H-glc]^-$ 153.003 0 $[C_7H_5O_4]^-$	木犀草苷 ^[18]	c
33	43.30	$C_{15}H_{18}O_3$	$[M+H]^+$	247.135 3	247.132 8	10.116	173.096 1 $[M+H-CO_2-2CH_3]^+$ 145.101 2 $[M+H-CO-CO_2-2CH_3]^+$	蕃素 ^[19]	f
34	44.21	$C_{20}H_{22}O_6$	$[M-H]^-$	357.134 4	357.134 3	0.280	342.111 1 $[M-H-CH_3]^-$ 313.144 1 $[M-H-CO_2]^-$	罗汉松脂素 ^[17]	d
35	44.36	$C_{16}H_{12}O_7$	$[M-H]^-$	315.051 1	315.051 0	0.317	300.027 3 $[M-H-CH_3]^-$ 165.018 6 $[M-H-C_8H_6O_3]^-$ 121.028 6 $[M-H-C_{10}H_{10}O_4]^-$	鼠李素	c
36	45.03	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M+H]^+$	433.110 6	433.112 9	-5.310	287.054 4 $[M+H-C_6H_{10}O_4]^+$ 165.018 5 $[M+H-C_6H_{10}O_4-C_7H_6O_2]^+$ 147.064 9 $[M+H-C_{15}H_{10}O_6]^+$ 153.018 1 $[M+H-C_6H_{10}O_4-C_8H_6O_2]^+$ 455.094 6 $[M+Na]^+$ 129.054 6 $[M+H-C_{15}H_{10}O_6-H_2O]^+$	阿福豆苷 ^[20]	c
* 37	45.84	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M-H]^-$	301.035 3	301.035 3	0.000	273.040 7 $[M-H-CO]^-$ 257.044 8 $[M-H-CO_2]^-$ 229.051 0 $[C_6H_6O_3-CO_2]^-$ 178.998 0 $[M-H-C_7H_6O_2]^-$ 151.002 9 $[M-H-C_8H_6O_3]^-$	槲皮素	c

序号	t_R /min	分子式	离子模式	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 /ppm	主要离子碎片 (ms/ms)	化合物	类别
38	46.06	$C_{15}H_{12}O_5$	[M-H] ⁻	271.061 2	271.061 1	0.369	151.002 9 [C ₇ H ₃ O ₄] ⁻ 119.049 3 [C ₈ H ₇ O] ⁻	柚皮素	c
39	46.52	$C_{16}H_{12}O_6$	[M-H] ⁻	299.055 8	299.056 1	-1.003	284.032 3 [M-H-CH ₃] ⁻ 255.029 7 [M-H-CH ₃ -CHO] ⁻ 227.034 6 [M-H-CH ₃ -CHO-CO] ⁻ 211.039 1 [M-H-CH ₃ -CHO-CO ₂] ⁻ 199.039 6 [M-H-CH ₃ -CHO-CO-CO] ⁻ 183.044 4 [M-H-CH ₃ -CHO-CO ₂ -CO] ⁻	鼠李柠檬素 ^[21]	c
40	47.17	$C_{15}H_{10}O_6$	[M-H] ⁻	285.040 3	285.040 4	-0.351	241.049 2 [M-H-CO ₂] ⁻ 199.039 5 [M-H-C ₃ O ₂ -H ₂ O] ⁻ 151.003 0 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ 133.028 6 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂ -H ₂ O] ⁻	木犀草素	c
41	47.84	$C_{16}H_{10}O_8$	[M-H] ⁻	329.030 3	329.030 2	0.303	314.006 8 [M-H-CH ₃] ⁻ 298.983 4 [M-H-2CH ₃] ⁻ 270.988 4 [M-H-2CH ₃ -CO] ⁻	3,3'-二甲氧基-鞣花酸 ^[22]	b
* 42	48.82	$C_{15}H_{10}O_6$	[M-H] ⁻	285.040 5	285.040 4	0.351	151.002 8 [M-H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁻ 109.028 7 [M-H-C ₉ H ₄ O ₄]	山柰酚	c
43	49.33	$C_{15}H_{10}O_5$	[M-H] ⁻	269.045 6	269.045 5	0.371	225.055 1 [M-H-CO ₂] ⁻ 201.055 1 [M-H-C ₃ O ₂] ⁻ 151.002 9 [M-H-C ₈ H ₆ O] ⁻ 117.033 7 [M-H-C ₇ H ₆ O ₄] ⁻ 107.033 7 [M-H-C ₈ H ₆ O-CO ₂] ⁻	芹菜素	c
44	49.50	$C_{16}H_{12}O_7$	[M-H] ⁻	315.051 1	315.051 0	0.317	300.027 5 [M-H-CH ₃] ⁻ 283.024 5 [M-H-CH ₃ -H ₂ O] ⁻ 151.002 9 [M-H-C ₆ H ₂ O ₂ -C ₂ O-H ₂ O] ⁻ 107.012 9 [M-H-C ₆ H ₂ O ₂ -C ₂ O-H ₂ O-CO ₂] ⁻	异鼠李素 ^[23]	c
45	49.89	$C_{17}H_{14}O_7$	[M+H] ⁺	331.080 5	331.081 2	-2.114	316.057 1 [M+H-CH ₃] ⁺ 301.033 7 [M+H-2CH ₃] ⁺ 151.038 8 [C ₇ H ₃ O ₄] ⁺	鼠李秦素	c
* 46	50.40	$C_{30}H_{18}O_{10}$	[M-H] ⁺	537.083 0	537.082 7	0.558	1075.172 4 [2M-H] ⁻ 401.030 5 [M+H-C ₈ H ₆ O-H ₂ O] ⁻ 377.064 7 [M+H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻	柏木双黄酮	c
47	51.17	$C_{22}H_{22}O_7$	[M+H] ⁺	399.143 4	399.143 8	-1.002	231.064 9 [M+H-C ₉ H ₁₂ O ₃] ⁺ 187.075 1 [M+H-C ₉ H ₁₂ O ₃ -CO ₂] ⁺	去氧鬼臼毒素 ^[24]	d
* 48	53.32	$C_{30}H_{18}O_{10}$	[M-H] ⁻	537.082 9	537.082 7	0.372	443.041 2 [M-H-C ₆ H ₆ O] ⁻ 417.061 5 [M-H-C ₇ H ₄ O ₂] ⁻ 375.051 1 [M-H-C ₈ H ₆ O-CO ₂] ⁻ 331.061 2 [M-H-C ₁₀ H ₄ O ₄ -H ₂ O] ⁻	穗花杉双黄酮 ^[25]	c
49	56.25	$C_{31}H_{20}O_{10}$	[M+H] ⁺	553.111 8	553.112 9	-1.989	421.054 9 [M+H-C ₉ H ₈ O] ⁺ 403.043 6 [M+H-C ₉ H ₈ O-H ₂ O] ⁺ 377.064 7 [M+H-C ₁₀ H ₈ O ₃] ⁺ 135.043 9 [C ₈ H ₈ O ₂] ⁺	罗汉松双黄酮 A ^[25]	c
50	56.31	$C_{16}H_{12}O_5$	[M-H] ⁻	285.075 1	285.075 7	-2.105	268.037 7 [M-H-CH ₃] ⁻ 240.042 8 [M-H-CH ₃ -CO] ⁻	刺槐素 ^[26]	c

序号	t_R/min	分子式	离子模式	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 /ppm	主要离子碎片 (ms/ms)	化合物	类别
51	56.89	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$	$[\text{M} + \text{H}]^+$	301.215 5	301.216 2	- 2.324	241.158 1 $[\text{M} + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_6 - \text{C}_2\text{H}_6]^+$ 213.127 1 $[\text{M} + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_6 - \text{C}_2\text{H}_6 - \text{CO}]^+$	柳杉酚	f
52	57.42	$\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	$[\text{M} - \text{H}]^-$	537.082 9	537.082 7	0.372	375.051 0 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3]^-$ 331.061 2 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3 - \text{CO}_2]^-$ 253.050 2 $[\text{M} - \text{H} - \text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_6]^-$ 151.002 9 $[\text{C}_7\text{H}_3\text{O}_4]^-$ 161.023 6 $[\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_3]^-$ 117.033 6 $[\text{C}_7\text{H}_5\text{O}]^-$	扁柏双黄酮 ^[25]	e

* : 对照品比对鉴定一致;a:生物碱;b:有机酸;c:黄酮;d:苯丙素;e:酚类;f:萜类;g:烯烃类

2 网络药理分析

2.1 五味甘露药浴汤散治疗 GA 潜在靶点的获得及 PPI 蛋白互作网构建

按照“4.1”项下方法筛选得到 520 个成分靶点、1 012 个疾病靶点,通过 Venny 图取交集,得到 141 个交集靶点。通过 STRING 数据库,将筛选得到 141 个交集靶点进行分析,利用 Cytoscape 3.9.1 设置节点

的大小、颜色随 degree 大小变化,构建 PPI 网络图,见图 2。该网络图共 109 个点,520 条边,根据度中心性、紧密中心性、介数中心性均值大于其平均值进行筛选,其中排名靠前的 SRC, STAT3, PIK3CA, MAPK1, HAP90AA1 可能为五味甘露药浴汤散治疗 GA 的关键靶点。

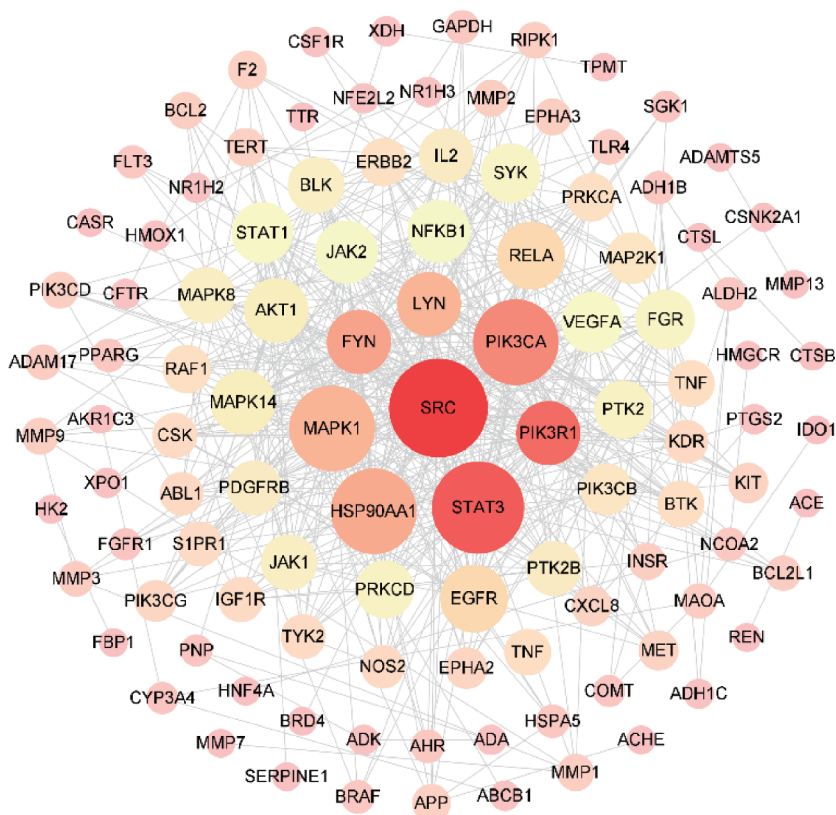


图 2 五味甘露药浴汤散治疗 GA 靶点蛋白的 PPI 网络图

2.2 GO 功能与 KEGG 通路富集分析

GO 分析共得到 $P < 0.05$ 的 851 个富集结果,

其中生物过程 658 项,主要涉及肽基酪氨酸磷酸化、蛋白质磷酸化、细胞增殖的正调控、炎症反应等;细

胞组成 71 项,主要涉及质膜、胞浆、细胞质、核等;分子功能 122 项,主要涉及蛋白质结合、ATP 结合、酶结合等。KEGG 分析得到 $P < 0.05$ 的 158 条通路,

根据富集的基因个数筛选 8 条通路,其中涉及癌症通路、PI3K-Akt 信号通路、Ras 信号通路及 MAPK 信号通路等,见图 3。

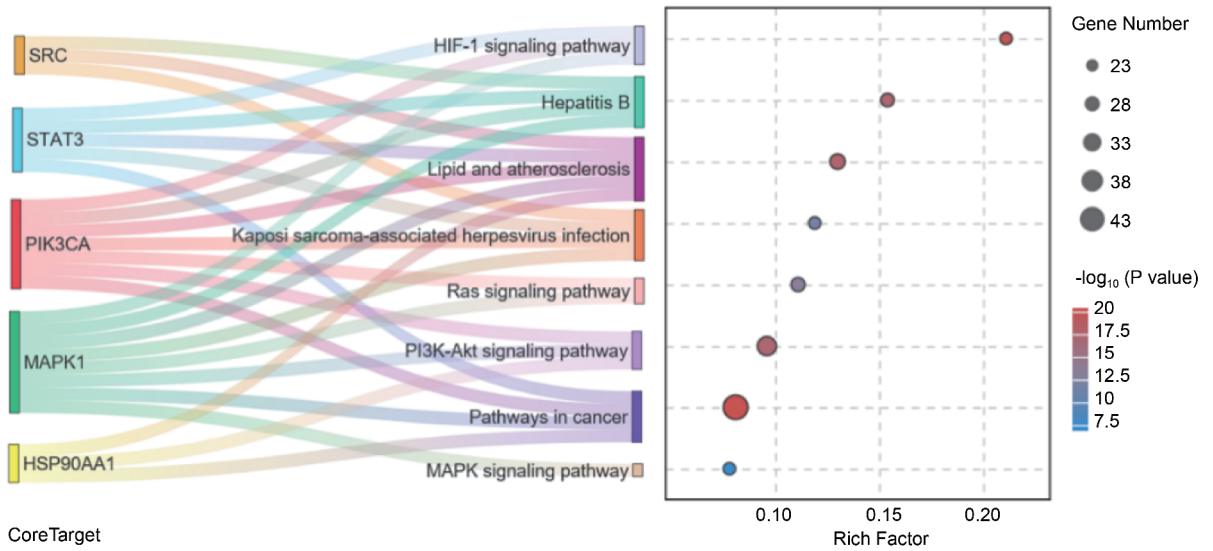


图 3 五味甘露药浴汤散治疗 GA 的 KEGG 富集分析

2.3 “药物-成分-靶点-疾病”可视化图的分析

利用 Cytoscape 3.9.1 构建出“药物-成分-靶点-疾病”网络图,见图 4。其中化合物 degree 排名靠前

的成分为槲皮素、木犀草素、柚皮素等,推测这些成分为五味甘露药浴汤散治疗 GA 的关键活性成分。

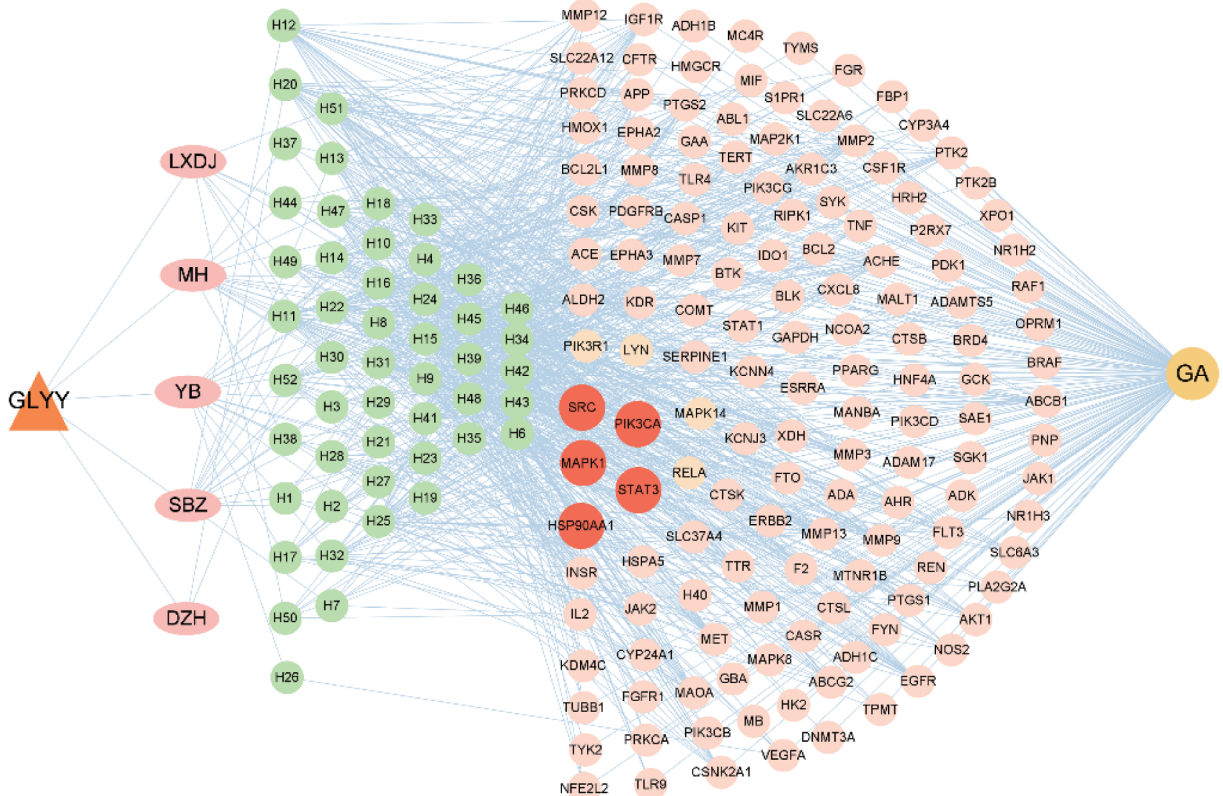


图 4 “药物-成分-靶点-疾病”网络图

2.4 分子对接

根据 PPI 网络结果,选择关键靶点与 52 个化合物进行对接,当配体与受体结合时,通常认为结合能越低,配体与靶蛋白的结合亲和力越高^[27],筛选出对接分数 $< -6 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 的化合物,运用 OmicShare(<https://www.omicshare.com>)在线绘制热图,见图 5。对接结果显示木犀草苷、海波拉亭-7-*O*- β -

D-吡喃葡萄糖苷、海波拉亭-7-*O*- β -*D*-吡喃木糖苷、柚皮素、柚皮素 7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、木犀草素与关键靶点具有较强的结合活性,其中木犀草苷、海波拉亭-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷、海波拉亭-7-*O*- β -*D*-吡喃木糖苷、槲皮素、木犀草素与 PIK3CA 结合能 $< -10 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$,呈强烈的结合活性,具体结果见图 6。

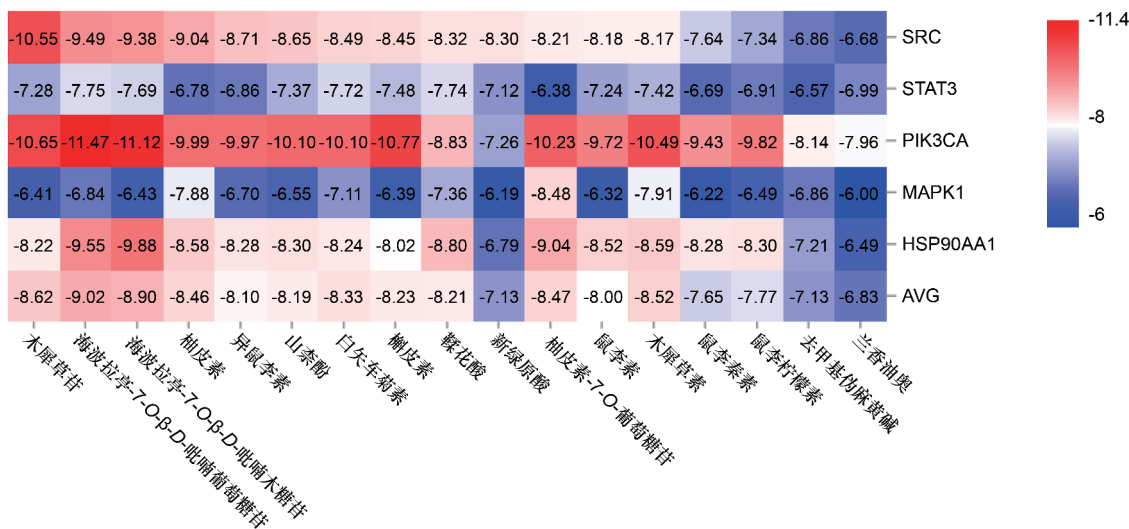


图 5 五味甘露药浴汤散治疗 GA 的分子对接热图

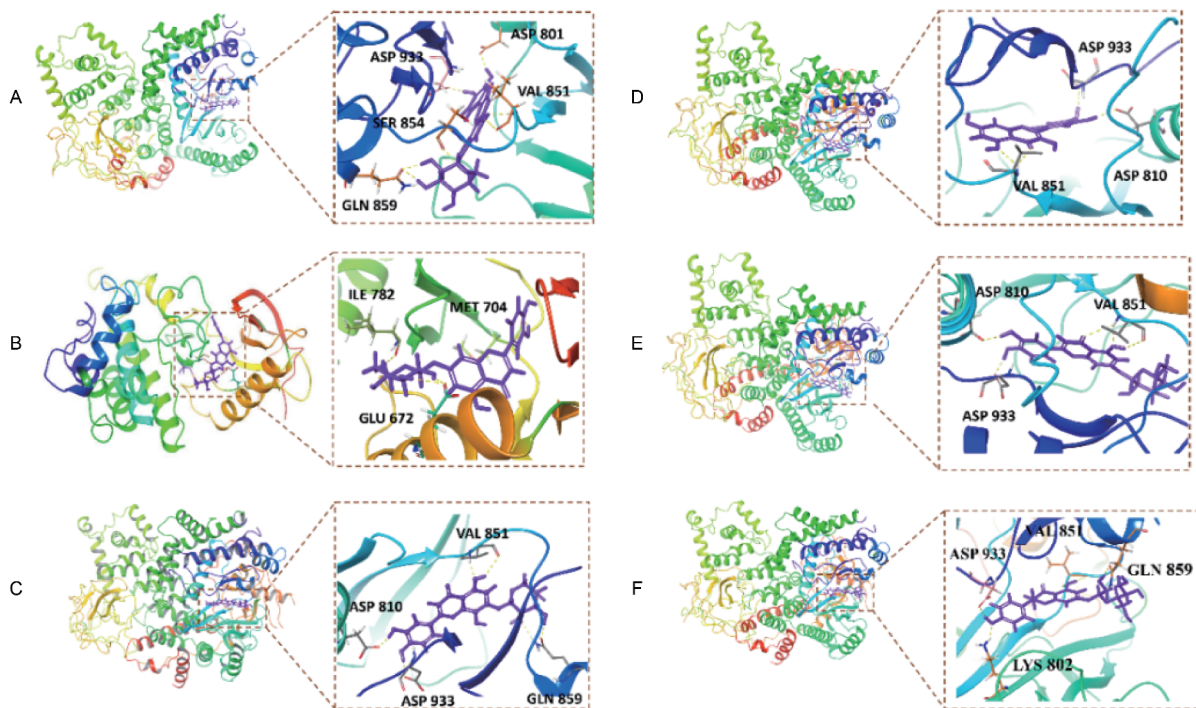


图 6 五味甘露药浴汤散治疗 GA 的分子对接示意图

讨 论

藏医理论认为 GA 是由于体内三大因素失调, 导致人体“隆查”紊乱、凝滞, 从而阻塞脉道、体内尿酸积聚过多, 影响人体正常的生理代谢的一种疾病, 而五味甘露药浴治疗急性 GA 在临床上具有良好的疗效。现代研究表明 GA 发病机制与炎症具有相关性。由于患者体内尿酸升高、排泄异常, 刺激释放 IL-1, TNF- α 等细胞因子, 分泌大量白细胞、巨噬细胞浸润, 引起炎症^[28]。

本文通过 PPI 和 Cytoscape 分析获得的核心靶点中, PI3KCA 基因负责编码 p110 α 蛋白, 该蛋白为 PI3K 酶的一部分(亚基), 而 PI3K 参与 PI3K-Akt-mTOR 信号转导通路, 在炎症疾病发展中具有重要的作用; STAT3 可以抑制中性粒细胞生成, 限制炎症反应^[29]; HAP90AA1 可能是软骨退变和骨关节炎中与自噬缺陷相关的潜在生物标志物^[30]。本研究发现, 富集分析显示的多条信号通路与 GA 的发生呈直接相关, 包括 PI3K-Akt, Ras, MAPK 等信号通路。据文献报道 PI3K-Akt 信号与 IL-1b 诱导的炎症密切相关, PI3K 和 Akt 在 IL-1b 的刺激下迅速磷酸化, 促进炎症介质的产生^[31]; Ras 基因被 IL-1 β , IL-8, TNF- α 等细胞因子活化, 活化激活后介导 RA-FLS 细胞异常活化, 破坏侵蚀关节骨和软骨^[32]。MAPK 信号通路的激活能促进单核巨噬细胞产生 IL-1 α , IL-6 等炎症因子, 在炎症反应中发挥着关键作用^[33]。

根据“药物-成分-靶点-疾病”网络构建图和分子对接结果分析, 推测五味甘露药浴汤散治疗 GA 关键活性成分为木犀草苷、海波拉亭-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、海波拉亭-7-O- β -D-吡喃木糖苷、槲皮素、柚皮素、木犀草素。据现代研究表明槲皮素可抑制其小腿关节肿胀程度, 降低炎症因子 IL-1 和 TNF 的表达^[34]。木犀草素可明显降低小鼠的踝关节肿胀度, 减少血清中 IL-1 β , IL-17, IL-6 和 TNF- α 的含量^[35]。木犀草苷、柚皮素、海波拉亭-7-O- β -D-吡喃木糖苷和海波拉亭-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷都具有抗炎活性^[36-38]。

综上所述, 推测五味甘露药浴汤散治疗 GA 的有效成分为木犀草苷、海波拉亭-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、海波拉亭-7-O- β -D-吡喃木糖苷、槲皮素、柚皮素、木犀草素, 这些成分可能作用于 SRC, STAT3, PI3KCA, MAPK1, HAP90AA1 核心靶点而调控 PI3K-Akt, Ras, MAPK 等信号通路发挥治疗 GA 的作用。

本文结合 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 和网络药理学研究方法, 探索了五味甘露药浴汤散治疗 GA 的潜在有效成分和作用机制, 可为五味甘露药浴汤散的质量控制、药效物质基础及作用机制研究提供参考, 但网络药理学预测为理论研究, 数据库收录局限可能影响其结果, 因此后续还需体内活性评估和药理实验研究来进一步验证。

[参 考 文 献]

- [1] 宇妥元丹贡布. 四部医典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1957:3.
- [2] 拉目加, 真巴磋, 卓戈, 等. 藏医治疗痛风性关节炎疗效及规律探析[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(5): 11-14.
- [3] 梁宏达, 王吉波, 潘琳, 等. 五味甘露药浴颗粒治疗急性痛风性关节炎的临床观察[J]. 中华全科医学, 2011, 9(12): 1863-1865.
- [4] 许文, 傅志勤, 林婧, 等. HPLC-Q-TOF-MS 和 UPLC-QqQ-MS 的三叶青主要成分定性及定量研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4365-4372.
- [5] 张宁, 高霞, 周宇, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析杏贝止咳颗粒化学成分[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4439-4449.
- [6] 崔小敏, 万兆新, 任慧, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的白白银露梅化学成分研究[J]. 中药材, 2020, 43(8): 1901-1906.
- [7] 任慧, 崔小敏, 胡静, 等. 秦岭岩白菜根茎化学成分的 UHPLC-Q Exactive Focus MS/MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(9): 118-128.
- [8] 李哈芸, 苏丹, 邵爱贤, 等. UPLC-Q TOF MSE 与镜像对比分析四种麻黄炮制过程的成分变化[J]. 质谱学报, 2017, 38(6): 630-639.
- [9] 霍江燕. LC-MS 测定复方脑生多元组合样品中有效成分含量研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2016.
- [10] 周明月, 霍金海, 孙国东, 等. 采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术鉴定连翘中 45 种化学成分[J]. 中国药房, 2019, 30(22): 3067-3073.
- [11] CHEN YY, CAI XJ, LI GW, et al. Chemical constituents of radix Actinidia chinensis planch by UPLC-QTOF-MS[J]. Biomed Chromatogr, 2021, 35(7): e5103.
- [12] 刘思焱, 张秀平, 尚展鹏, 等. UHPLC-LTQ-Orbitrap 鉴定苦碟子注射液化学成分及其在大鼠血浆中的移行成分[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(12): 2235-2244.
- [13] 闫旭, 张楠, 冀召帅, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的参坤养血颗粒化学成分研究[J]. 中草药, 2018, 49(18): 4231-4240.
- [14] 万春鹏, 周油涌, 陈金印. UPLC-QTOF-MS 技术分析马家柚果肉成分[J]. 中国果菜, 2016, 35(2): 28-31.
- [15] 于红红, 高晓燕. 基于 UPLC-Q-TOF/MSE 快速分析绵茵陈化学成分[J]. 中草药, 2019, 17(5): 656-661.
- [16] 康莹. 中国沙棘叶黄酮提取精制工艺优化及其活性的初步评价[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [17] 徐米米. 茉莉感冒颗粒活性成分的液质联用分析及其抗炎活性评价[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [18] ZHANG X, LIANG CJ, LI CL, et al. Simultaneous qualitative and quantitative study of main compounds in Commelina communis Linn. by UHPLC-Q-TOF-MS-MS and HPLC-ESI-MS-MS[J]. J Chromatogr Sci, 2018, 56(7): 582-594.
- [19] MARCO JA, BARBERÁ O, MARTINEZ V, et al. Sesquiterpene lactones from Artemisia assoana[J]. Planta Med, 1988, 54(5): 460-461.
- [20] 孙国东, 霍金海, 王改丽, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的核桃鞣皮成分分析[J]. 中草药, 2017, 48(4): 657-667.

- [21] 刘丽伟,周霖,孙志,等. 基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术的芪参益气滴丸中主要化学成分研究[J]. 中草药, 2018, 49(24): 5761-5771.
- [22] 杨璐萌,杨凌鉴,贾璞,等. 基于HPLC-Q-TOF-MS/MS的广枣果肉化学成分分析[J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(2): 159-166.
- [23] 李想. 黄酮醇类化合物ESI-ITMSn质谱裂解规律的量子化学研究[D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2015.
- [24] HENDRAWATI O, WOERDENBAG HJ, MICHELS PJ, et al. Identification of lignans and related compounds in *Anthriscus sylvestris* by LC-ESI-MS/MS and LC-SPE-NMR[J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(17): 2172-2179.
- [25] WANG G, YAO S, ZHANG XX, et al. Rapid screening and structural characterization of antioxidants from the extract of *Selaginella doederleinii* Hieron with DPPH-UPLC-Q-TOF/MS method[J]. *Int J Anal Chem*, 2015, 2015: 849769.
- [26] 任晓蕾,霍金海,孙国东,等. 短瓣金莲花化学成分的UPLC-Q-TOF-MS分析[J]. 中草药, 2015, 46(23): 3475-3481.
- [27] 汪莹,赵焰焰,闫凯莉,等. GC-MS结合网络药理学与分子对接探讨乳香挥发油镇痛的活性成分及作用机制[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(11): 4180-4191.
- [28] 王欢欢,金秀娟. 痛风方联合秋水仙碱治疗急性痛性关节炎临床疗效及其机制探讨[J]. 四川中医, 2022, 40(2): 112-115.
- [29] 徐向东,刘申,杨华安. STAT3在固有免疫中的研究进展[J]. 当代医学, 2019, 25(12): 192-194.
- [30] LORENZO-GÓMEZ I, NOGUEIRA-RECALDE U, OREIRO N, et al. HSP90AA1 is a biomarker associated with defective autophagy in osteoarthritis[J]. *Osteoarthr Cartil*, 2020, 28: S319.
- [31] SUN K, LUO J, GUO J, et al. The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in osteoarthritis: a narrative review[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2020, 28(4): 400-409.
- [32] 袁蓓. 基于Ras/Raf-1/MEK/ERK信号通路探索瘀血痹片抑制类风湿关节炎滑膜血管新生的作用机制[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2021.
- [33] 韩晓晴,吴景东,侯殿东,等. 枇杷清肺饮基于MAPK/NF- κ B信号通路调控HaCaT细胞炎性损伤机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(10): 1189-1195.
- [34] 杨颖,王芸芸,蒋琦辰. 槲皮素药理作用的研究进展[J]. 特种经济动植物, 2020, 23(5): 24-28.
- [35] 王琪,李坤伟,周长征. 木犀草素的药理作用及制剂研究进展[J]. 北京联合大学学报, 2022, 36(1): 59-63.
- [36] 管仁伟,曲永胜,顾正位,等. 木犀草苷的药理作用研究[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(1): 1-3.
- [37] 王锐,王明月,王向涛,等. 柚皮素纳米制剂的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(9): 1923-1929.
- [38] KIM HP. The long search for pharmacologically useful anti-inflammatory flavonoids and their action mechanisms; past, present, and future[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2022, 30(2): 117-125.

编辑:刘卓越/接受日期:2022-10-11