

基于指纹图谱-网络药理学-多指标定量分析预测树参中的差异活性成分

范欣荣^{1,2}, 张乐怡^{1#}, 罗 莎³, 袁宙新¹, 李 帆⁴, 薛 畅², 王慧玉^{1*}, 姜程曦^{2*}

1. 浙江中医药大学附属丽水中医院 药剂科, 浙江 丽水 323000

2. 温州医科大学药学院, 浙江 温州 325035

3. 重庆理工职业学院卫生健康学院, 重庆 400000

4. 浙江佐力药业股份有限公司, 浙江 湖州 313000

摘要: **目的** 基于指纹图谱和网络药理学方法, 分析预测树参 *Dendropanax dentiger* 的差异活性成分, 并建立其定量分析方法, 为树参的质量控制提供参考。 **方法** 采用 HPLC 法建立树参的指纹图谱并结合化学计量学筛选不同产地树参的主要差异成分。通过网络药理学方法, 确定树参特征成分治疗类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的核心靶点和关键通路, 绘制“成分-核心靶点-通路”网络图, 以预测树参抗 RA 的差异活性成分。以 28 批树参药材为研究对象, 对其差异活性成分进行含量测定, 确定出树参的差异活性成分。 **结果** 建立了 28 批树参药材的指纹图谱, 标定了 13 个共有峰, 并指出 5 个共有峰, 分别为原儿茶酸、紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C。通过化学计量学分析, 初步筛选出紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 为主要差异性成分。网络药理学分析显示, 紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 可能通过前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、半胱天冬酶-3 (Caspase-3, CASP3)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP2)、基质金属蛋白酶-3 (matrix metalloproteinase-3, MMP3)、E-选择素 (E-selectin, SELE)、P-选择素 (P-selectin, SELP)、前列腺素内过氧化物合酶 1 (prostaglandin-endoperoxide synthase 1, PTGS1) 8 个核心靶点, 影响脂质与动脉粥样硬化、肾素-血管紧张素系统、白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等信号通路, 从而发挥治疗 RA 的作用。最终确定紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 可作为树参治疗 RA 的差异活性成分。 **结论** 建立的质量评价方法准确可靠, 结合网络药理学筛选出的差异活性成分可为树参质量控制提供依据, 并为其治疗 RA 的作用机制提供参考。

关键词: 树参; 差异活性成分; 质量标志物; 指纹图谱; 网络药理学; 多成分定量; 原儿茶酸; 紫丁香苷; 绿原酸; 异绿原酸 A; 异绿原酸 C

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)06-2122-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.06.024

Research on quality marker of *Dendropanax dentiger* for treatment of rheumatoid arthritis based on fingerprint -network pharmacology-multi-index quantification

FAN Xinrong^{1, 2}, ZHANG Leyi¹, LUO Sha³, YUAN Zhouxin¹, LI Fan⁴, XUE Chang², WANG Huiyu¹, JIANG Chengxi²

1. Department of Pharmacy, Lishui Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Lishui 323000, China

2. School of Pharmacy, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

3. School of Health Sciences, Chongqing Vocational Institute of Engineering, Chongqing 400000, China

4. Zhejiang Jolly Pharmaceutical Co., Ltd., Huzhou 313000, China

收稿日期: 2024-10-05

基金项目: 丽水市自筹类公益性技术应用研究项目 (2022SJZC037); 浙江省中医药管理局共建科技计划项目 (GZY-ZJ-KJ-23098); 浙江省中医药科技计划项目 (2024ZR205); 灵泽片主成分温莪术药材质量提升及其真实世界临床研究 (KJHX2206)

作者简介: 范欣荣 (1996—), 男, 浙江云和人, 中药师, 研究方向为中药资源学。Tel: 15728069585

共同第一作者: 张乐怡 (1995—), 女, 浙江丽水人, 中药师, 研究方向为中药学。Tel: 13575368577

***通信作者:** 姜程曦 (1971—), 男, 安徽青阳人, 研究员, 研究方向为中药资源学。Tel: 18969715696 E-mail: jiangchengxi@126.com

王慧玉 (1978—), 女, 浙江丽水人, 主任药师, 主要从事药物制剂学研究。E-mail: 517669321@qq.com

Abstract: Objective To analyze and predict the differential active components of *Dendropanax dentiger* using fingerprint and network pharmacology methods, establish quantitative analysis methods, and provide a reference for the quality control of *D. dentiger*. **Methods** High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to establish the fingerprint of *D. dentiger*, and chemometric analysis was employed to screen the main differential components from different origins. Furthermore, network pharmacology was applied to identify the core targets and key pathways of the characteristic components of *D. dentiger* in the treatment of rheumatoid arthritis (RA). A “component-core target-pathway” network was constructed to predict the differential active components of *D. dentiger* for anti-RA effects. The content of the differential active components was determined in 28 batches of *D. dentiger* samples, and the final differential active components were identified. **Results** The HPLC fingerprint of 28 batches of *D. dentiger* samples was established, with 13 common peaks identified, including 5 peaks assigned as protocatechuic acid, syringin, chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C. Chemometric analysis preliminarily identified syringin, chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C as the main differential components. Network pharmacology analysis revealed that syringin, chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C might exert therapeutic effects on RA through 8 core targets, including prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), caspase 3 (CASP3), epidermal growth factor receptor (EGFR), matrix metalloproteinase-2 (MMP2), matrix metalloproteinase-3 (MMP3), E-selectin (SELE), P-selectin (SELP), and prostaglandin-endoperoxide synthase 1 (PTGS1), influencing signaling pathways such as lipid and atherosclerosis, renin-angiotensin system, interleukin-17 (IL-17), and tumor necrosis factor (TNF). Finally, syringin, chlorogenic acid, isochlorogenic acid A, and isochlorogenic acid C were determined as the differential active components of *D. dentiger* for the treatment of RA. **Conclusion** The established quality evaluation method is accurate and reliable. The differential active components screened by network pharmacology provide a basis for the quality control of *D. dentiger* and insights into its mechanism of action in treating RA.

Keywords: *Dendropanax dentiger* (Harms) Merr.; differential active components; quality marker; fingerprint; network pharmacology; multi-component quantification; gallic acid; syringin; chlorogenic acid; isochlorogenic acid A; isochlorogenic acid C

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种常见的慢性自身免疫性疾病, 其主要特征是滑膜组织的炎症、关节软骨的破坏以及骨侵蚀, 最终导致关节畸形和功能障碍^[1]。树参是江浙一带最常用的 30 种 畜 药 之 一, 为 五 加 科 树 参 属 树 参 *Dendropanax dentiger* (Harms) Merr. 的灌木或乔木, 其药用历史悠久, 具有祛风除湿、活血消肿的功效, 收录于《中华本草》《中药大辞典》《全国中草药汇编》和《中国畚族医药学》等书籍中, 可用于治疗风湿病、关节炎、半身不遂等疾病^[2-4]。树参中含有多种活性成分, 如黄酮类、生物碱类、苯丙素类, 表现出显著的抗炎和抗氧化作用。现代药理研究表明, 树参根提取物能缓解模型大鼠膝关节的组织病变并调节炎症反应; 其茎提取物通过抑制滑膜成纤维细胞的异常增殖发挥抗炎作用^[5]。此外, 树参中的苯酚衍生物具有显著的环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 抑制和抗氧化活性^[6], 苯丙素类化合物可能通过抑制核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号通路发挥抗 RA 作用^[7]。然而, 目前对于树参的质量标准和药效物质基础的研究较少, 加之树参药材多为野生, 质量差异较大, 限制了其药用资源的开发及临床推广应用。

中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 是由刘昌孝院士^[8]提出的新概念和新理论, 基于成分有效性、特有性、可测性、质量传递与溯源性和处方配伍 5 大原则对成分进行分析, 已在中药质量评价中得到广泛应用^[9]。中药指纹图谱是一种基于中药化学成分系统研究的综合性、量化的色谱鉴定方法, 具有专属性强、稳定性好和重复性高的优点, 能够全面反映中药中化学成分差异特点^[10-12]。化学模式识别方法能全面系统地对药材进行评价, 结合中药指纹图谱可以筛选出能反映不同样品间差异的标志性成分^[13-14]。网络药理学能够从整体观角度构建药物-疾病-靶点-通路间的生物网络, 阐明中药对疾病的作用机制, 对于有效挖掘差异活性成分具有重要意义^[15]。基于此, 本研究以 Q-Marker“五原则”为指导, 建立能体现树参整体化学特征的指纹图谱, 运用化学计量学方法筛选差异性成分, 结合网络药理学和分子对接技术确定树参用于治疗 RA 的差异活性成分, 并进一步对其进行含量测定, 为树参质量控制及临床使用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪, 配 Waters 2998 PDA 检测器、Empower 色谱工作站, 美国

Waters 公司; AG105 型十万分之一电子天平, 上海恒平天平科学仪器有限公司; AE124J 型电子天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; HTY-200g 型切药机, 永康市红太阳机电有限公司; HWS-26 型电热恒温水浴锅, 沙鹰科学仪器(上海)有限公司; Smart2Pure Pro UV/UF 型超纯水仪, 美国 Thermo Fisher 公司。

1.2 试剂与试药

原儿茶酸(批号 110809-202207, 质量分数

97.5%), 绿原酸(批号 110753-202119, 质量分数 96.3%)均购自中国食品药品检定研究院; 紫丁香苷(批号 AFBG1364)、异绿原酸 A(批号 AZ22042903)、异绿原酸 C(批号 AFCB0705)均购自成都埃法生物科技有限公司, 质量分数均≥98%。乙腈、磷酸为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为超纯水。收集的不同产地 28 批树参药材来源见表 1, 经温州医科大学姜程曦教授鉴定为五加科树参属植物树参 *D. dentiger* (Harms) Merr. 的干燥茎。

表 1 样品信息
Table 1 Sample information

编号	产地	编号	产地
S1	浙江省丽水市大港头	S15	浙江省云和县石子岭
S2	浙江省丽水市大港头	S16	浙江省云和县石子岭
S3	浙江省丽水市大港头	S17	浙江省遂昌县
S4	浙江省丽水市大山峰	S18	浙江省遂昌县
S5	浙江省丽水市大山峰	S19	浙江省遂昌县
S6	浙江省丽水市大山峰	S20	浙江省遂昌县
S7	浙江省青田县章村乡	S21	浙江省泰顺县童东线
S8	浙江省青田县石柱村	S22	浙江省泰顺县童东线
S9	浙江省青田县石柱村	S23	浙江省泰顺县童东线
S10	浙江省松阳县上源村	S24	浙江省文成县
S11	浙江省松阳县上源村	S25	浙江省文成县
S12	浙江省松阳县钓下段	S26	浙江省文成县
S13	浙江省松阳县大岭口村	S27	浙江省武义县西联乡
S14	浙江省松阳县大岭口村	S28	浙江省武义县西联乡

1.3 数据库与软件

中药系统药理数据库(TCMSP, <http://tcmspw.com/tcmsp.php>), Swiss Target Prediction 数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>), PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>), GeneCards (<https://www.genecards.org>), OMIM (<https://omim.org/search/advanced/geneMap>), DisGeNET (<https://www.disgenet.org/search>), DrugBankK (<https://go.drugbank.com>), VENNY 2.1 平台(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>), DAVID 数据库(<https://david.ncicrf.gov/>), RCSB-PDB 数据库(<http://www.RCSB.org/>), HERB 数据库(<http://herb.ac.cn/>), Cytoscape 3.8.0 软件, SPSS 25.0 软件和 SIMCA 14.1 软件。

2 方法与结果

2.1 树参指纹图谱研究

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Waters Xselect Hss T3

(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 波长 220 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL; 流动相为乙腈-0.2%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~4 min, 6%~9%乙腈; 4~20 min, 9%~10%乙腈; 20~24 min, 10%~13%乙腈; 24~49 min, 13%~20%乙腈; 49~51 min, 20%~21%乙腈; 51~62 min, 21%乙腈; 62~88 min, 21%~45%乙腈; 88~90 min, 45%~6%乙腈。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称定原儿茶酸、紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 对照品适量, 加 70%甲醇制成质量浓度分别为 6.03、17.27、191.37、384.79、80.52 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取树参样品粉末(过 4 号筛) 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%甲醇溶液 20 mL, 称定质量, 加热回流提取 60 min, 放冷。用 70%甲醇溶液补足减失质量, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.4 参照峰的选择 峰 5 绿原酸在供试品色谱图中表现出良好的分离效果, 峰形稳定, 基线平稳且峰面积较大, 因此, 确定绿原酸为参照峰 (S), 用于计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

2.1.5 精密度试验 取树参样品 (S20) 粉末, 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录色谱图。结果表明, 各共有峰的相对保留时间 $RSD \leq 0.14\%$, 相对峰面积 $RSD \leq 2.73\%$ 。

2.1.6 重复性试验 取同一批树参样品 (S20) 6 份, 按“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图。结果表明, 各共有峰的相对保留时间 $RSD \leq 0.22\%$, 相对峰面积 $RSD \leq 1.89\%$ 。

2.1.7 稳定性试验 取树参样品 (S20), 按“2.1.3”

项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件, 分别在 0、4、8、12、18、24 h 进样, 记录色谱图。结果表明, 各共有峰的相对保留时间 $RSD \leq 0.30\%$, 相对峰面积 $RSD \leq 2.10\%$ 。

2.1.8 指纹图谱的建立及相似度评价 将 28 批树参样品的 HPLC 色谱文件导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”软件中, 以 S5 色谱图为参照图谱, 设定时间窗宽度为 0.5 min, 采用中位数法, 进行多点校正后以 Mark 峰进行峰匹配, 生成 28 批树参样品的 HPLC 指纹图谱叠加图及对照指纹图谱 (R), 共确认 13 个共有峰, 结果见图 1。通过与混合对照品溶液图谱比对, 指认出 5 个色谱峰, 3 号峰为原儿茶酸、4 号峰为紫丁香苷、5 号峰为绿原酸、11 号峰为异绿原酸 A、13 号峰为异绿原酸 C, 见图 2。

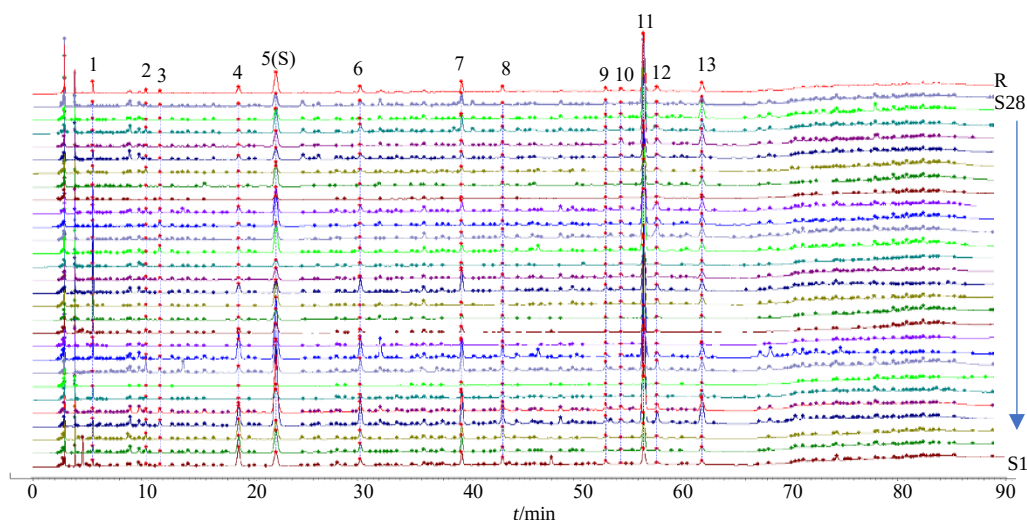
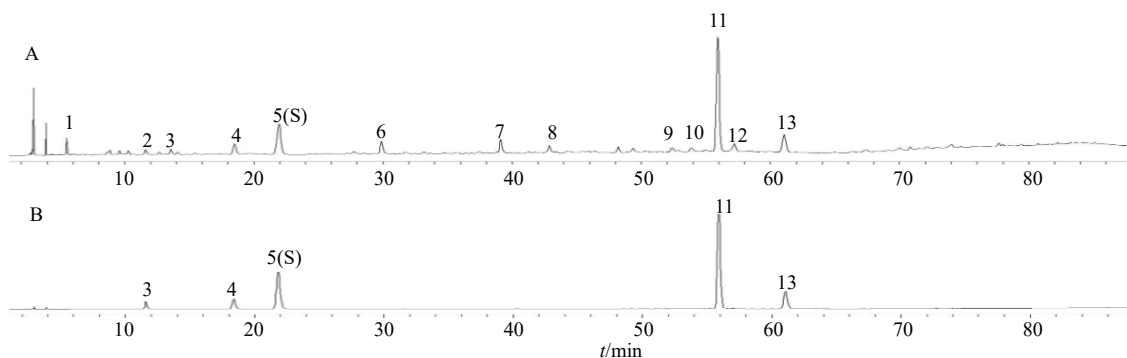


图 1 28 批树参样品 HPLC 指纹图谱叠加图及对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of 28 batches of *D. dentiger* and control fingerprints (R)



3-原儿茶酸; 4-紫丁香苷; 5-绿原酸; 11-异绿原酸 A; 13-异绿原酸 C。

3-gallic acid; 4-syringin; 5-chlorogenic acid; 11-isochlorogenic acid A; 13-isochlorogenic acid C.

图 2 树参样品 (A) 和混合对照品 (B) HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of *D. dentiger* sample (A) and mixed reference substance (B)

以生成的对照图谱（R）作为参照图谱，对 28 批树参样品进行相似度评价，见表 2。结果显示 28 批树参药材的相似度结果为 0.711~0.996，其中 S1、S3、S11 的相似度分别为 0.763、0.711 和 0.765，其余 25 批相似度评价结果均在 0.87 以上，说明不同批次间样品的质量存在一定的差异。

2.2 化学计量学分析

2.2.1 聚类分析 以 28 批样品的共有峰面积为变量，导入 SPSS 25.0 软件，采用组间连接法和平方欧式距离进行系统聚类分析，并绘制树状图（图 3）。

表 2 28 批树参样品指纹图谱相似度评价结果
Table 2 Results of fingerprint similarity evaluation for 28 batches of *D. dentiger* samples

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.763	S15	0.993
S2	0.942	S16	0.994
S3	0.711	S17	0.985
S4	0.996	S18	0.954
S5	0.969	S19	0.990
S6	0.989	S20	0.994
S7	0.955	S21	0.973
S8	0.984	S22	0.895
S9	0.988	S23	0.987
S10	0.908	S24	0.995
S11	0.765	S25	0.972
S12	0.873	S26	0.994
S13	0.966	S27	0.951
S14	0.894	S28	0.974

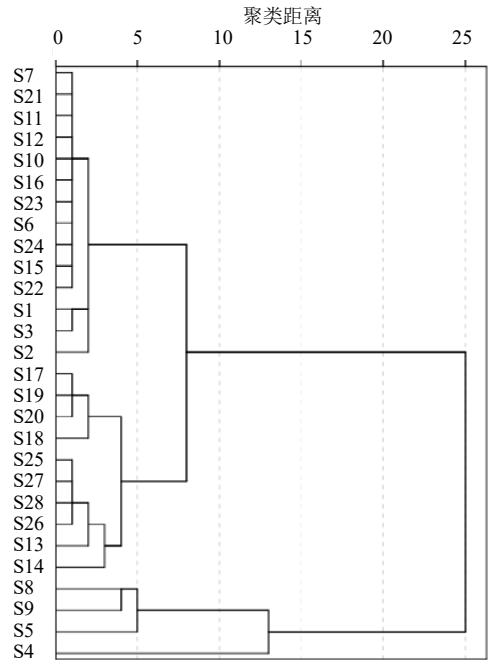


图 3 28 批树参样品聚类分析图
Fig. 3 Cluster analysis diagram of 28 batches of *D. dentiger* samples

当分类距离设定为 15 时，样品可分为 2 类，S4、S5、S8、S14 聚为一类，其余样品聚为一类。当分类距离设定为 5 时，28 批样品聚为 4 类，第 1 类包括 S1~S3、S6、S7、S9~S11、S15、S16、S21~24，样品分别覆盖 5 个产地；S12、S13、S17~S20、S25~S28 聚为一类，样品来自 4 个不同产地；第 3 类包括 S5、S8、S14，样品来自青田和莲都；S4 单独聚一类，其共有峰面积为所有批次中最大。聚类结果显示，不同产地的树参质量上存在显著差异，同一产地的样品更倾向于聚为一类。但同一产地样品的质量仍存在一定差异，这可能与树参的野生状态有关。

2.2.2 主成分分析 将 28 批树参样品的共有峰峰面积导入 SPSS 25.0 软件进行主成分分析，共提取得到 3 个特征值大于 1 的主成分，其累积方差贡献率为 81.436%，表明这 3 个主成分能够反映 28 批树参样品中 13 个共有峰的大部分信息，具有较高的代表性，可用这 3 个主成分代替指纹图谱 13 个共有峰来对树参进行评价。特征值及贡献率见表 3。

因子载荷矩阵反映了各主成分与 13 个共有峰即原始变量之间的相关系数，结果见表 4。第 1 主成分主要反映了色谱峰 2、3、5~13 的信息；第 2 主成分主要反映了色谱峰 2、4 的信息；第 3 主成分主要反映了色谱峰 1 的信息。

表 3 特征值及方差贡献率
Table 3 Eigenvalue and variance contribution rate

主成分因子	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	7.382	56.785	56.785
2	2.129	16.377	73.161
3	1.076	8.275	81.436

表 4 因子载荷矩阵
Table 4 Factor load matrix

共有峰编号	主成分载荷		
	1	2	3
峰11（异绿原酸A）	0.926	-0.300	0.000
峰5（绿原酸）	0.880	0.056	-0.243
峰9	0.861	0.036	0.283
峰8	0.859	0.176	-0.293
峰7	0.848	0.405	0.169
峰6	0.842	0.443	-0.018
峰13（异绿原酸C）	0.825	-0.415	0.144
峰3（原儿茶酸）	0.760	-0.275	-0.224
峰10	0.678	-0.623	0.190
峰12	0.645	-0.534	0.113
峰2	0.592	0.440	0.132
峰4（紫丁香苷）	0.595	0.622	-0.289
峰1	0.049	0.377	0.775

2.2.3 正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) OPLS-DA 是一种有监督的判别分析统计方法,能够更有效地体现组间差异^[13]。将 28 批样品指纹图谱的 13 个共有峰的峰面积导入 SIMCA 14.1 软件,建立 OPLS-DA 模型进行分析。结果显示模型 R^2_X 和 R^2_Y 分别为 0.926 和 0.775,模型预测能力参数 Q^2 为 0.547 大于 0.5,表明该模型具有良好的稳定性和可靠性。由模型得分图 (图 4) 可知,28 批样品分为 3 类,其中 S4 为离群值,位于置信区间外,可作为单独一类,与聚类距离为 5 时的 HCA 结果基本一致。变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值是筛选差异性化合物的重要指标, VIP 值越高,表明该变量对组间差异的贡献越大^[16]。以变量 VIP 值 >1.0 为阈值,筛选出 3 个差异化合物,结果见图 5,分别为峰 11 (异绿原酸 A)、峰 5 (绿原酸)、峰 4 (紫丁香苷)。结合指纹图谱分

析,考虑到异绿原酸 C 在各批次中峰面积较高且稳定,从相对含量和绝对含量来看,是树参的主要成分之一,因此将该成分也选定为候选差异性成分。

2.3 树参治疗 RA 的潜在 Q-Marker 网络药理学预测

2.3.1 候选化合物靶点预测分析 检索中药系统药理数据库和 Swiss Target Prediction 数据库中 4 个候选化合物绿原酸、紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的作用靶点,从 PubChem 数据库获取相关化合物的典范 SMILES (Canonical SMILES) 后,将 4 个候选成分的 SMILES 格式文件导入 Swiss Target Prediction 数据库,并基于筛选标准 probability >0.1 筛选获得相关靶点。随后,通过 Uniprot 数据库将预测出的靶点蛋白名转换为对应的基因名。整理合并 2 个数据库获得的靶点信息后去除重复项,最终得到 111 个活性靶点。

为确保数据的全面性,以“rheumatoid arthritis”为关键词,从 GeneCards (Score ≥ 5)、OMIM、DisGeNET、DrugBank 4 个数据库中收集 RA 相关的靶点。经过去重和数据整合后,通过 UniProt 数据库将靶点蛋白信息转化为 UniProt ID,共获得 1 059 个靶点。通过 VENNY 2.1 网站获取树参治疗 RA 的交集靶基因 (即共存靶基因)。共获得 41 个交集靶基因 (图 6-A)。

2.3.2 蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 将得到的 41 个交集靶点导入 STRING 数据库进行 PPI 蛋白互作分析并剔除独立靶点,共获得 39 个交集靶点的 PPI 网络 (图 6-B)。将 PPI 网络分析结果以 TSV 格式导出,并导入 Cytoscape 3.8.0 进行拓扑参数筛选 (analyze network)。利用 Centiscape2.2 插件对数据结果进行分析,筛选出同时满足中介中心性 >39.8 、节点紧密度 >0.013 和连接度 >8.9 的 8 个核心靶点。按照连接度值排序,分别为前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、半胱天冬酶-3 (Caspase-3, CASP3)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP2)、基质金属蛋白酶-3 (matrix metalloproteinase-3, MMP3)、E-选择素 (E-selectin, SELE)、P-选择素 (P-selectin, SELP)、前列腺素内过氧化物合酶 1 (prostaglandin-endoperoxide synthase 1, PTGS1)。表

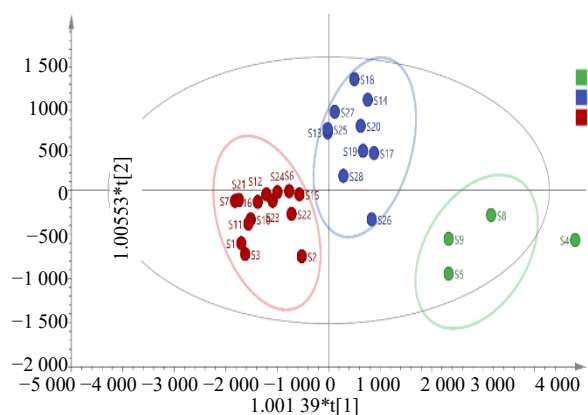


图 4 28 批树参样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score chart of 28 batches of *D. dentiger* samples

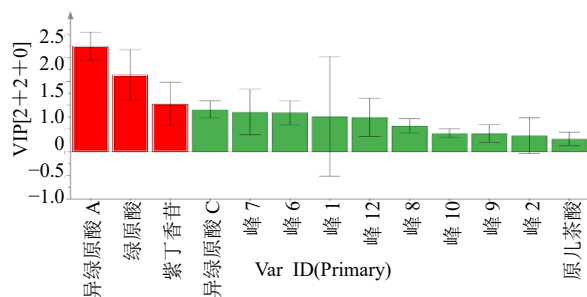


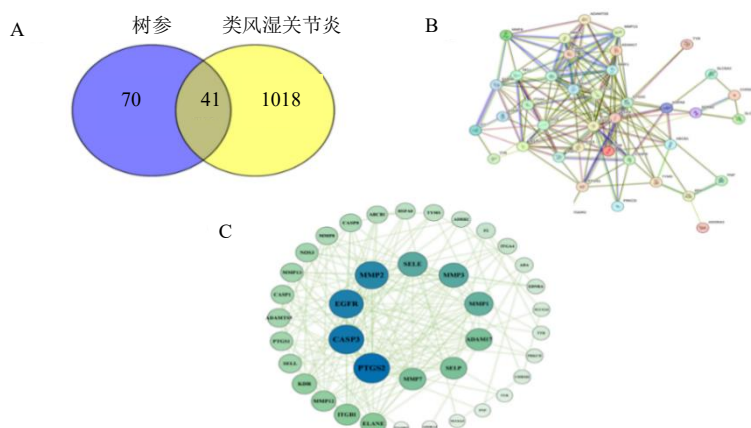
图 5 28 批树参样品 13 个共有峰的 VIP 值图

Fig. 5 VIP values of 13 common peaks of 28 batches of *D. dentiger* samples

明树参治疗 RA 的药效机制可能与上述蛋白密切相关。

2.3.3 基因本体论 (gene ontology, GO) 功能富集分析 与京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集 将获得的 8 个核心靶点输入到 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>), 设置属性为 “Homo sapiens”, 进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析。GO 功能分析和 KEGG 通路分析均选取 “ $P < 0.05$ ” 具有统计学意义。筛选后 GO 富集分

析共得到 51 个条目, 其中包括 39 条生物过程 (biological process, BP), 主要涉及对脂多糖应答、肿瘤坏死因子应答、细胞凋亡过程的正调控等; 细胞组成 (cellular component, CC) 占 3 条, 包括细胞外区、大分子复合物和膜小凹; 分子功能 (molecular function, MF) 占 9 条, 主要涉及前列腺素内过氧化物合成酶活性、过氧化物酶活性和肽酶活性等。本研究选取前 10 个 BP 结果及 CC 和 MF 的所有结果, 并用 R 语言进行可视化展示, 结果见图 7。



A-树参主要成分与 RA 的交集靶点韦恩图; B-潜在靶点 PPI 网络图; C-潜在靶点可视化 PPI 网络图。

A-Venn diagram of the intersection target between the main components of *D. dentiger* and RA; B- PPI network structure of potential target; C-The visual PPI network structure of potential targets.

图 6 树参治疗 RA 相关靶点预测

Fig. 6 Prediction of RA-related targets for *D. dentiger*

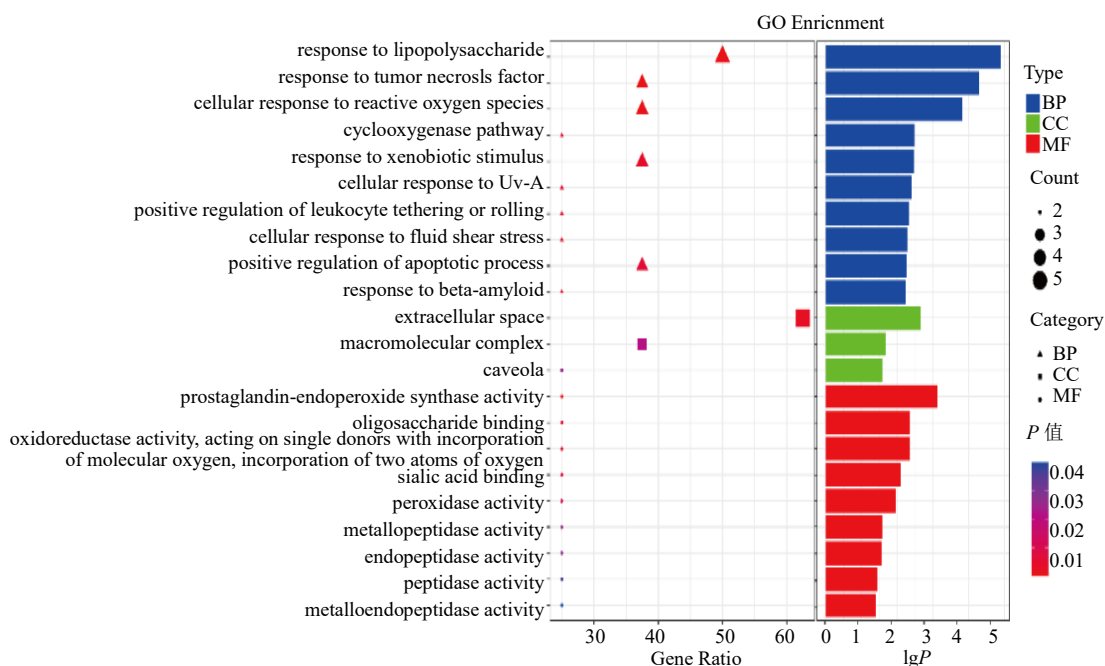


图 7 核心靶点 GO 功能富集分析

Fig. 7 Analysis of GO function enrichment of core targets

同样, KEGG 富集分析结果显示, 8 个核心靶基因在 15 个信号通路中显著富集, 树参治疗 RA 主要涉及肾素-血管紧张素系统、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) 信号通路、脂质与动脉粥样硬化、白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17) 信号通路及癌症信号通路等。结果用 R 语言进行可视化展示, 见图 8。

2.3.4 “特征成分-靶点-通路”网络的构建 将筛选得到的 4 个特征成分、8 个核心靶点及 15 条通路,

导入 Cytoscape 3.8.0 软件, 构建“特征成分-核心靶点-通路”可视化网络图(图 9)。用浅蓝色“V”字型代表富集通路, 橙色圆形表示潜在靶点, 黄色菱形表示特征成分。利用边将各节点相连接以表示各节点间的关联性。结果表明, 特征成分绿原酸、紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 可通过作用于 CASP3、PTGS2、MMP2 等靶点, 影响脂质与动脉粥样硬化、肾素-血管紧张素系统、IL-17 和 TNF 等信号通路来发挥树参治疗 RA 的作用。

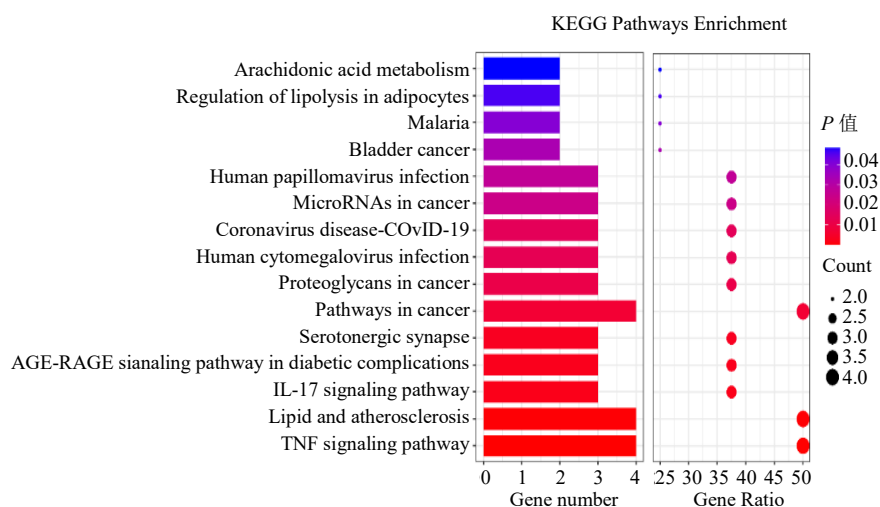


图 8 KEGG 富集分析

Fig. 8 Enrichment analysis result of KEGG

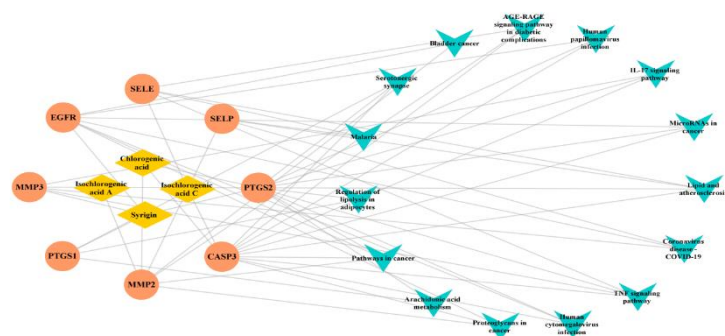


图 9 “成分-核心靶点-通路”网络图

Fig. 9 “Component-core target-pathway” network diagram

2.3.5 分子对接 通过分子对接验证核心靶点与潜在差异活性成分之间的结合能力。从 RCSB-PDB 数据库获取目标蛋白的三维结构(PDB 格式), 将物种设置为“Homo sapiens”, 并从 PubChem 数据库下载相应的化合物结构式(SDF 格式)。将筛选得到的 8 个核心靶点, 分别与树参的 4 个潜在 Q-Marker 绿原酸、

紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 进行分子对接, 得到 32 组配体+受体对接结果, 基于分子结合能结果(图 10), 其中得分最低的是异绿原酸 C+MMP3 对接组合, 得分为-5.10 kcal/mol (1 kcal/mol=4.184 kJ/mol), 最高的是异绿原酸 C+PTGS1 对接组合, 得分为-8.52 kcal/mol。配体-受体结合构象结合能越

低,表明构象越稳定,则互作的可能性也越大。分子对接结果表明(图 10),树参 4 个潜在 Q-Marker 和 8 个核心靶点的结合能均小于 -5 kcal/mol,表明潜在 Q-

Marker 与核心靶点具有良好的结合能力,筛选出的树参潜在 Q-Marker 可能通过核心靶点在 RA 治疗中发挥关键作用。部分分子对接结果的可视化见图 11。

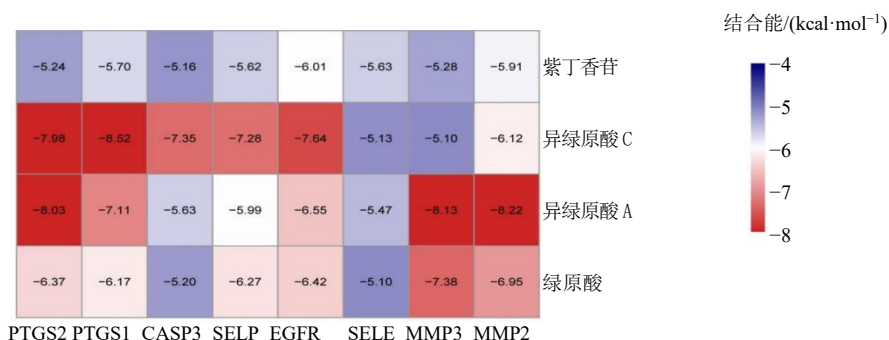


图 10 分子对接得分热图

Fig. 10 Heat map of molecular docking score

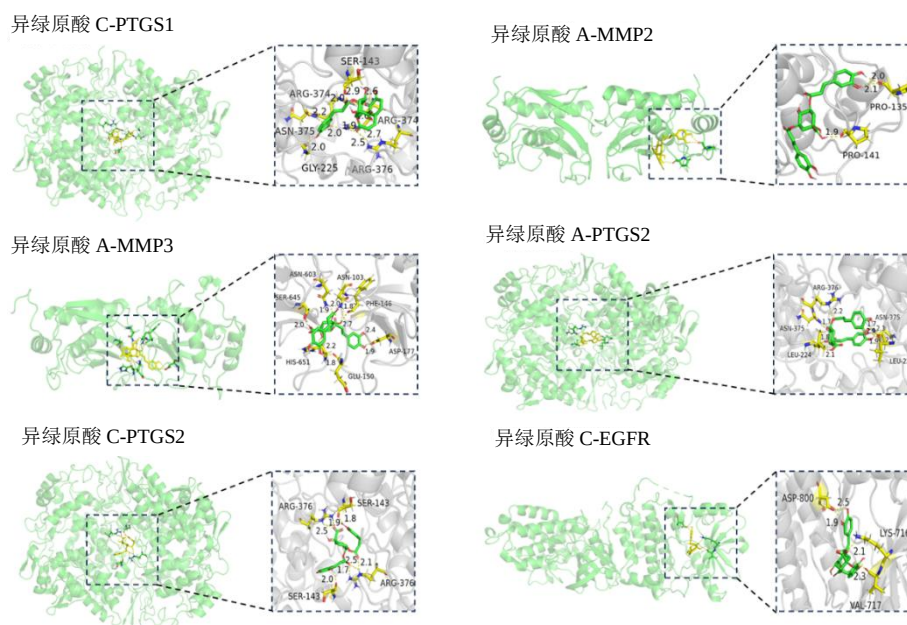


图 11 分子对接结果的可视化

Fig. 11 Visualization of molecular docking results

2.3.6 以抗 RA 作用为导向的潜在 Q-Marker 筛选-网络药理学研究 RA 是一种以滑膜炎症、关节增生为主要特征的慢性自身免疫性疾病,目前,临床主要通过抑制炎症反应来延缓 RA 进程。本研究筛选出的 4 个潜在差异活性成分均有一定的抗炎活性。有研究表明,绿原酸可通过调节 JAK/STAT 和 NF- κ B 信号通路的激活来诱导细胞凋亡,从而抑制滑膜的炎症性增生^[17],亦可抑制成纤维样滑膜细胞

MH7A 细胞中的 B 细胞活化因子表达和胶原诱导的关节炎进展^[18]。紫丁香苷是一种具有显著抗炎活性的物质,可通过调节 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3, NLRP3) /Caspase-1 信号通路介导的细胞焦亡进而抑制炎症发生^[19]。研究表明,异绿原酸类化合物具有良好的抗 RA 药理作用^[20]。异绿原酸 A、异绿原酸 C 能够抑制 NLRP3 炎性复合体/NF-

κB 活化减轻胶原诱导型关节炎大鼠炎症反应^[21], 同时异绿原酸 A 能够抑制 TNF-α 诱导的 MH7A 成纤维样滑膜细胞的异常增殖、侵袭、迁移^[22], 发挥治疗 RA 的作用。

在此基础上, 利用网络药理学得到活性成分和疾病的 41 个交集靶点, 进行 PPI 蛋白互作分析和拓扑参数筛选后得到 8 个核心靶点(MMP2、EGFR、CASP3、PTGS2、MMP3、SELP、SELE、PTGS1)。其中基质金属蛋白酶 MMPs 家族蛋白可以降解包括蛋白多糖, 层粘连蛋白等在内的多种细胞外基质, 在滑膜成纤维细胞的迁移和侵袭中起关键作用, 同时可以加重软骨破坏, 最终导致 RA 患者关节腔结构破坏, 滑膜增生和软骨降解。MMP3 是 RA 关节破坏的重要因素, 能降解多种细胞外基质, 可作为预测 RA 患者的指标^[23]。前列腺素内过氧化物合酶(prostaglandin endoperoxidase syn thase, PTGS)是目前临床治疗 RA 常用的非甾体类抗炎药的作用靶点, 其中 PTGS1 可参与调节机体正常生理活动; PTGS2 可介导炎症反应,也可调节破骨细胞、成骨细胞的分化^[24]。CASP3 是半胱氨酸蛋白酶家族成员, 对于细胞凋亡有着重大意义, 而凋亡是 RA 成纤维样滑膜细胞一种重要的表型。EGFR 信号通路参与调节软骨细胞的生长及代谢过程, 在软骨细胞的增殖、分化、凋亡及代谢等多种生物学过程中发挥着至关重要的作用^[25], 在 RA 增生的滑膜组织中, EGFR 表达水平升高, 通过促进滑膜内皮细胞增殖和成纤维细胞产生 TNF-α 等细胞因子, 加重 RA 滑膜炎炎症反应。E 选择素又称内皮白细胞黏附分子, E 选择素在 RA 滑液和血清中均明显增加, 并且与炎症细胞因子的转移、关节炎的活动性有关。P-选择素能促进中性粒细胞和淋巴细胞等白细胞浸润骨膜关节, 导致骨膜异常增生^[26]。TNF 信号通路是 RA 中重要的致病机制之一, 其通路中的 TNF-α 可诱导多种炎症细胞因子的产生及基质金属蛋白酶的表达, 直接参与 RA 患者的关节滑膜炎炎症和关节软骨的破坏^[27]。IL-17、IL-6 等促炎因子会增加微血管的通透性, 导致 RA 关节红肿热痛的发生^[28]。大量流行病学数据表明, 心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)是 RA 患者死亡的主要原因。作为 CVD 发生最重要的病理学基础, RA 患者较健康人群更易出现脂质代谢异常并发动脉粥样硬化^[29]。研究认为 RA 患者骨关节炎的发生、发展可能与肾素-血管紧张素系统(RAS)激活相关^[30-32]。通路富集分析结果

表明, 树参抗 RA 作用可能与肾素-血管紧张素系统(调节肾素)、TNF 信号通路、脂质与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路等有关。富集分析结果与研究文献基本一致。分子对接结果显示绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 及紫丁香苷均能与核心靶点 MMP2、EGFR、CASP3、PTGS2、MMP3、SELP、SELE、PTGS1 稳定结合, 理论上证实了差异活性成分较好的生物活性。最后, 通过构建“特征成分-关键靶点-关键通路”网络图, 在有效性方面筛选了 4 个潜在 Q-Marker(紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C)作为候选差异活性成分。

2.4 差异活性成分含量测定

2.4.1 对照品溶液的制备 分别精密称定紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 对照品适量, 加 70%甲醇制成质量浓度分别为 17.27、191.37、384.79、80.52 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备 同“2.1.3”项。

2.4.3 色谱条件 同“2.1.1”项色谱条件。

2.4.4 线性关系考察 用 70%甲醇将混合对照品溶液等比稀释成不同质量浓度溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件分别进样, 以待测化合物峰面积为纵坐标(Y), 以对照品溶液质量浓度为横坐标(X)进行线性回归, 得各对照品标准曲线, 结果见表 5, 表明各化合物在一定质量浓度范围内线性关系良好。

表 5 回归方程及线性范围

Table 5 Regression equation and linear range

化合物	回归方程	r^2	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
紫丁香苷	$Y=56\,430\,X-2\,895.7$	1.000 0	0.173~17.270
绿原酸	$Y=23\,126\,X-10\,859$	1.000 0	1.914~191.370
异绿原酸A	$Y=26\,075\,X-52\,191$	0.999 9	3.848~384.790
异绿原酸C	$Y=26\,163\,X-14\,616$	0.999 9	0.805~80.520

2.4.5 精密度试验 取样品粉末(S20), 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 结果显示紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积的 RSD 分别为 0.99%、0.30%、0.27%、0.49%, 表明仪器精密度良好。

2.4.6 重复性试验 取样品粉末(S20) 6 份, 按“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 计算各成分的质量分数 RSD 值, 结果表明, 紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 质量分数的 RSD 分别为 1.62%、1.24%、1.55%、2.12%, 表明该方法重复性良好。

2.4.7 稳定性试验 取样品粉末 (S20), 按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 在室温放置 0、4、8、12、18、24 h, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积。结果显示紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 峰面积的 RSD 分别为 0.92%、0.45%、0.31%、0.96%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.8 加样回收率试验 精密称取样品粉末 (S20) 约 0.5 g, 共 6 份, 分别加入与样品中各成分含量相等的对照品溶液, 按“2.1.3”项下制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 计算得到紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的平均加样回收率分别为 98.00%、101.81%、103.79%、97.24%, RSD 分别为 2.41%、1.91%、2.18%、1.55%。表明上述 4 种成分的加样回收率结果良好, 该方法准确可靠。

2.4.9 样品含量测定 取树参样品粉末按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 将 4 个成分的峰面积代入线性回归方程, 计算各成分的含量 (扣除水分), 结果见表 6。结果表明, 28 批树参药材中的紫丁香苷、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 C 的平均含量分别为 0.093、0.898、1.712、0.349 mg/g, 不同样品间的活性成分含量有明显差异。

3 讨论

本研究从 Q-Marker 的“五原则”出发, 采用指纹图谱结合化学模式识别、网络药理学方法对树参差异活性成分进行辨识。

首先, 根据 Q-Marker 溯源性、可测性原则, 建立了树参 HPLC 指纹图谱, 标定了 13 个指纹图谱共有峰, 通过与对照品比对指认出绿原酸、原儿茶酸、紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 5 个色谱峰。采用化学模式识别方法对图谱结果进行分析, 其中 OPLS-DA 结果表明绿原酸、异绿原酸 A、紫丁香苷是其差异化合物, 可作为树参药材的候选差异活性成分, 但是从相对含量和绝对含量来看, 异绿原酸 C 在树参中所占的比例较高, 故将该成分也选为候选差异活性成分。且上述 4 个成分均能在血清或血浆中检出原型或代谢产物^[33-35], 符合 Q-Marker 的传递与溯源性。

在此基础上, 通过检索 HERB 数据库判断成分特有性, 结果显示绿原酸、紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 分别在 181、19、4、2 种中药中存在,

表 6 28 批树参样品中 4 种成分含量检测结果 (n=2)
Table 6 Detection results of 4 components in 28 batches of *D. dentiger* samples (n=2)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)			
	紫丁香苷	绿原酸	异绿原酸A	异绿原酸C
S1	0.276	0.639	0.527	0.167
S2	0.242	0.988	1.165	0.171
S3	0.283	0.857	0.511	0.077
S4	0.344	3.408	5.050	1.319
S5	0.089	2.264	2.350	0.390
S6	0.020	0.386	0.817	0.215
S7	0.009	0.078	0.266	0.085
S8	0.093	1.230	3.507	0.411
S9	0.361	2.629	3.798	0.606
S10	0.095	0.298	0.414	0.110
S11	0.060	0.423	0.242	0.053
S12	0.032	0.451	0.443	0.127
S13	0.011	0.910	1.424	0.348
S14	0.137	0.565	1.596	0.443
S15	0.026	0.503	1.097	0.282
S16	0.024	0.244	0.593	0.160
S17	0.070	1.175	3.247	0.411
S18	0.017	0.713	3.367	0.443
S19	0.042	1.387	2.831	0.430
S20	0.148	1.206	3.242	0.595
S21	0.015	0.169	0.298	0.147
S22	0.006	1.010	0.784	0.355
S23	0.026	0.309	0.774	0.148
S24	0.058	0.533	0.935	0.252
S25	0.026	0.659	2.002	0.607
S26	0.046	1.064	2.122	0.481
S27	0.009	0.464	2.235	0.603
S28	0.047	0.583	2.299	0.326

除绿原酸外, 另外 3 种成分在其他中药中存在较少, 符合差异活性成分的特有性, 因此可将上述 3 种成分纳入树参的质量控制指标, 但网络药理学结果表明绿原酸能够通过多途径、多靶点参与树参的药理作用, 考虑到 Q-Marker 筛选有效性原则, 也将其纳入差异活性成分辨识范围。本研究结合文献并结合以抗 RA 作用为导向的网络药理学证明以上 4 个成分符合 Q-Marker 的有效性, 同时推测这 4 个成分作为树参的主要成分且具有显著的药理作用, 可能具有一定的协同作用, 即满足 Q-Marker 的配伍合理性。后续, 也将针对成分的配伍合理性进行进一步探索。因此, 本研究最终确定了将绿原酸、紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 作为树参治

疗 RA 的差异活性成分, 继而进行差异活性成分的含量测定。

综上, 依据 Q-Marker 可测性、溯源性、特有性、有效性及配伍合理性的筛选原则, 整合 HPLC 指纹图谱、模式识别及以治疗 RA 活性为导向网络药理学方法对畚药树参进行差异活性成分的辨识及测定, 初步确定绿原酸、紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 可作为树参用于 RA 治疗的候选差异活性成分, 为建立树参的质量评价标准提供数据参考。同时, 本研究探索了树参治疗 RA 的药效物质及潜在的作用机制, 推测树参的主要成分绿原酸、紫丁香苷、异绿原酸 A、异绿原酸 C 等可能通过作用于 MMP3、EGFR、CASP3 等靶点来影响肾素-血管紧张素系统, IL-17、TNF 等信号通路以发挥抗 RA 的作用, 这也为临床使用树参提供了一定的理论依据。鉴于树参发挥抗 RA 活性作用为多成分的协同作用, 本研究的候选差异活性成分尚需要进一步开展其体内吸收、药效等多层面的药效物质研究, 并基于多批次、多因素的药材质量分析, 为基于 RA 的树参候选差异活性成分标准的制订提供科学支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王玉辉, 马佳荣, 李莉, 等. 经皮给药系统治疗类风湿性关节炎的研究进展 [J]. 华西药学杂志, 2024, 39(3): 341-346.
- [2] 刘敏, 张晓芹, 黄绳武, 等. 畚药树参茎化学成分分析及抗炎活性部位高效液相指纹图谱的建立 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(19): 2505-2510.
- [3] 雷后兴, 李水福. 中国畚族医药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 56.
- [4] 贾敏如, 李星炜. 中国民族药志要 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 253.
- [5] 刘敏, 余乐, 范蕾, 等. 基于谱效关系的畚药树参茎抑制人滑膜关节炎成纤维细胞异常增殖的药效物质研究 [J]. 中国中医药科技, 2023, 30(3): 465-470.
- [6] Yang L, Liu R H, Fan A G, *et al.* *Dendropanax dentiger* (Harms) Merr. root and its major constituents exert therapeutic effect on adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 267: 113631.
- [7] Yang L, Liu R H, Fang Y W, *et al.* Anti-inflammatory effect of phenylpropanoids from *Dendropanax dentiger* in TNF- α -induced MH7A cells via inhibition of NF- κ B, Akt and JNK signaling pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94: 107463.
- [8] 刘昌孝. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究发展的 5 年回顾 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.
- [9] 常鑫鑫, 陈香茗, 李倩, 等. 基于指纹图谱结合网络药理学的知母质量标志物预测分析 [J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(5): 603-612.
- [10] 王娜, 程璐, 王浩, 等. 茯神指纹图谱结合化学模式识别和多指标成分定量研究 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 279-286.
- [11] 刘玉婷, 李茜, 赵宇晴, 等. 经典名方清宁散 HPLC 指纹图谱及其质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 1946-1959.
- [12] 聂钰湘, 郭占京, 閻雪晴, 等. 鸡血藤指纹图谱的建立及抗肿瘤谱效关系研究 [J]. 中草药, 2024, 55(7): 2405-2412.
- [13] 李惠敏, 李凤超, 高必兴, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及化学模式识别对比研究曲花紫堇及同属药材 [J]. 中草药, 2024, 55(5): 1709-1716.
- [14] 陈静梅, 李泽宇, 梁秋明, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和网络药理学的加味四逆散(颗粒)质量标志物分析及含量测定方法的建立 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6682-6693.
- [15] 徐蓓蕾, 孙文斌, 王昊, 等. 基于指纹图谱和网络药理学的秦皮质量标志物(差异活性成分)预测分析 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 5019-5032.
- [16] 王姿杨, 邢耀莹, 付文芮, 等. HPLC 指纹图谱结合化学模式识别和多成分定量不同产地甘松的质量评价 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 956-968.
- [17] Lou L X, Zhou J W, Liu Y J, *et al.* Chlorogenic acid induces apoptosis to inhibit inflammatory proliferation of IL-6-induced fibroblast-like synoviocytes through modulating the activation of JAK/STAT and NF- κ B signaling pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(5): 2054-2060.
- [18] Fu X H, Lyu X L, Liu H, *et al.* Chlorogenic acid inhibits BAFF expression in collagen-induced arthritis and human synoviocyte MH7A cells by modulating the activation of the NF- κ B signaling pathway [J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 8042097.
- [19] 谢小芳, 赵展庆, 符妹垂. 丁香苷调节 NLRP3/Caspase-1 信号通路对脓毒症肺损伤大鼠细胞焦亡的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(19): 1744-1751.
- [20] 杨敏. 苦丁茶中异绿原酸的提取纯化工艺及其抗类风湿性关节炎的药效学研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [21] 刘杨, 段学清, 严福林, 等. 异绿原酸 A 抑制 NLRP3 炎性复合体/NF- κ B 活化减轻胶原诱导型关节炎大鼠炎症反应 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(10): 1415-1419.

- [22] 刘杨, 王永萍, 刘明, 等. 异绿原酸 A 抑制 TNF- α 引起的 MH7A 人成纤维细胞样滑膜细胞的增殖和迁移并促进其凋亡 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(8): 693-698.
- [23] 杨欣, 李亚辉, 钱海兵, 等. 基于网络药理学及分子对接分析熊果酸抗类风湿性关节炎的分子机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 207-214.
- [24] Lequerré T, Rottenberg P, Derambure C, *et al.* Predictors of treatment response in rheumatoid arthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2019, 86(2): 151-158.
- [25] 曾文波, 兰生辉, 蔡贤华, 等. EGFR 信号通路在骨性关节炎研究中进展 [J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2019, 5(2): 109-113.
- [26] 王鑫淼, 许杨, 王崧, 等. 植物化合物对血小板功能的影响 [J]. 西部中医药, 2018, 31(1): 126-131.
- [27] 唐荣霜. 虎杖治疗类风湿性关节炎的网络药理学及实验验证研究 [D]. 成都: 电子科技大学, 2021.
- [28] 邱安琪, 彭新国. 细胞因子在类风湿关节炎发病机制中的研究进展 [J]. 检验医学与临床, 2023, 20(6): 830-834.
- [29] 刘佳君, 刘焱, 彭清, 等. 类风湿关节炎合并动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 实用医院临床杂志, 2022, 19(1): 201-204.
- [30] Yamagishi K, Tsukamoto I, Nakamura F, *et al.* Activation of the renin-angiotensin system in mice aggravates mechanical loading-induced knee osteoarthritis [J]. *Eur J Histochem*, 2018, 62(3): 2930.
- [31] Yan K Z, Shen Y X. Aliskiren has chondroprotective efficacy in a rat model of osteoarthritis through suppression of the local renin-angiotensin system [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 3965-3973.
- [32] Tang Y, Hu X P, Lu X W. Captopril, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, possesses chondroprotective efficacy in a rat model of osteoarthritis through suppression local renin-angiotensin system [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(8): 12584-12592.
- [33] 邓志鹏, 张喆, 周红燕, 等. 异绿原酸 C 大鼠体内代谢产物鉴定 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(5): 2071-2078.
- [34] 党晓伟, 李清. 紫丁香苷在大鼠体内的药动学研究 [J]. 中成药, 2012, 34(7): 1246-1249.
- [35] 樊荣. 绿原酸代谢产物的抗菌作用及其机制研究 [D]. 成都: 成都大学, 2023.

[责任编辑 时圣明]