

基于指纹图谱和网络药理学对舒筋活血片的质量标志物预测分析

李正, 杨欢, 陈碧莲* (浙江省食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 杭州 310052)

摘要: 目的 基于指纹图谱和网络药理学分析预测舒筋活血片(Shujin Huoxue tablets, SHT)中的质量标志物(Q-maker)。方法 建立 SHT 的指纹图谱, 利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012 年版)进行分析; 采用网络药理学筛查和分析指纹图谱共有峰的作用靶点和通路, 构建“成分-靶点-通路”网络, 预测 SHT 中潜在的 Q-maker。结果 通过代表性样品建立了 SHT 的指纹图谱, 并测定了相似度, 部分批次 <0.8 , 推测可能为生产工艺差异所致。指认共有峰 9 个, 分别为 5-羟甲基糠醛、原儿茶酸、原儿茶醛、紫丁香苷、绿原酸、羟基红花黄色素 A、络石苷、4-甲氧基水杨醛和杠柳毒苷; 通过网络药理学筛选出 9 个活性成分、30 个核心靶点和 10 条关键通路; 基于 Q-maker “五原则”分析预测羟基红花黄色素 A、原儿茶酸、原儿茶醛、4-甲氧基水杨醛、络石苷、紫丁香苷为其潜在的 Q-marker。结论 通过指纹图谱和网络药理学分析预测 SHT 中的 Q-maker, 为全面控制 SHT 的质量提供依据, 为进一步研究 SHT 的作用机制提供参考。

关键词: 舒筋活血片; 指纹图谱; 网络药理学; 质量标志物

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)13-1703-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.13.007

引用本文: 李正, 杨欢, 陈碧莲. 基于指纹图谱和网络药理学对舒筋活血片的质量标志物预测分析[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(13): 1703-1708.

Q-marker Prediction Analysis of Shujin Huoxue Tablets Based on Fingerprint and Network Pharmacology

LI Zheng, YANG Huan, CHEN Bilian* [Zhejiang Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine(Traditional Chinese Patent Medicine), Hangzhou 310052, China]

ABSTRACT: OBJECTIVE To analyze and predict the Q-marker of Shujin Huoxue tablets(SHT) based on fingerprint and network pharmacology. **METHODS** The fingerprints of SHT were established and analyzed by using the Similarity Evaluation System Software for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine(2012 edition). The network pharmacology was used to screen and analyze the function targets and pathways of related components of SHT. The “ingredients-targets-pathways” network was constructed to predict the potential Q-marker of SHT. **RESULTS** The fingerprints of SHT were established through representative samples, and the similarity was determined. The similarity of some batches were <0.8 , which may be caused by the difference of production process. Nine common ingredients were identified including 5-hydroxymethylfurfural, protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde, syringin, chlorogenic acid, hydroxysafflor yellow A, tracheloside, 4-methoxysalicylaldehyde and periplocin. A total of 9 active ingredients, 30 core target sites and 10 key pathways of SHT were screened out through network pharmacology system. Hydroxysafflor yellow A, protocatechuic acid, protocatechuic aldehyde, syringin, tracheloside and 4-methoxysalicylaldehyde were predicted as potential Q-marker based “Five Principles” of Q-marker. **CONCLUSION** In this study, the Q-marker of SHT are analyzed by fingerprint and network pharmacology, which provides reference for quality control of SHT, and for further study on the mechanism of SHT.

KEYWORDS: Shujin Huoxue tablets; fingerprint; network pharmacology; Q-maker

舒筋活血片(Shujin Huoxue tablets, SHT)为红花、醋香附、烫狗脊和香加皮 4 味药材细粉, 加入伸筋草、泽兰、槲寄生、络石藤、鸡血藤和煅自然铜 6 味药材, 加水提取的浸膏后制成。SHT 具有舒筋活络、活血散瘀的作用, 用于治疗筋骨疼痛、肢体拘挛、腰背酸痛、跌打损伤。全国共有 4 个标准, 标准编号分别为国家药品标准

WS₃-B-2624-97-2011、YBZ00242016、WS₃-B-3484-98-2011 及 YBZ201322015。上述标准较类似, 仅对 4 味生粉有质控项目, 红花仅有显微鉴别, 醋香附、烫狗脊与香加皮为显微和薄层鉴别, 含量测定仅控制了香加皮中的 4-甲氧基水杨醛, 质控项目简单, 且未对生粉之外的药味进行控制, 缺乏整体性质控项目。

作者简介: 李正, 男, 硕士, 主管中药师
1582314912@qq.com

E-mail: 179413325@qq.com

*通信作者: 陈碧莲, 女, 主任中药师

E-mail:

中药指纹图谱作为综合的、量化的色谱鉴定手段,能较为客观地反映全方位的物质基础和化学成分群的整体性和复杂性,用于整体评价药材和制剂的手段,已经有了较广泛的应用^[1]。通过指纹图谱的研究,可以揭示不同企业制剂的共有峰特征,通过相似度的计算,可以反映同一家生产企业的原料、工艺等的稳定性,以及不同企业制剂整体的特征区别。网络药理学是基于系统生物学的理论,融合多向药理学、生物信息学、计算机科学等多学科的技术和内容,进行“疾病表型-基因-靶点-药物”等多层次网络的构建,探索药物与疾病间相关性、系统性与整体性的特征,“成分-靶点-通道”构建的网络,经过拓扑参数分析,以可视化的网络图等阐明药物作用机制^[2],这与中药材特别是中药制剂的多成分、多靶点和多通路等性质不谋而合^[3-7],成为近年来中药研究的热点。

本研究通过建立 SHT 的指纹图谱,采用指纹图谱和网络药理学相结合的方法分析预测 SHT 中的质量标志物(Q-marker),为全面控制 SHT 的质量提供依据,为进一步研究 SHT 的作用机制提供参考,同时为研究其他中药制剂提供质控方法-网络药理研究的新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo U3000 RSLC 高效液相色谱仪(美国 Thermo 公司);XPE205 电子天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司);UA22MFDN 超声仪(德国 WIGGENS 公司)。

1.2 试药

5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF)(批号:111626-201912;纯度:99.2%)、原儿茶酸(proto catechuic acid, PCA)(批号:110809-200102;纯度:99.9%)、原儿茶醛(proto catechnic aldehyde, PCAH)(批号:110810-201909;纯度:99.6%)、紫丁香苷(eleutheroside B, ESB)(批号:111574-201605;纯度:95.2%)、绿原酸(chlorogenic acid, CA)(批号:110753-202018;纯度:96.1%)、羟基红花黄色素 A(hydroxysafflor yellow A, HSYA)(批号:111637-201609;纯度:93.1%)、络石苷(tracheloside, TS)(批号:111858-201001;纯度:95.5%)、4-甲氧基水杨醛(4-methoxysalicylaldehyde, 4-MSA)(批号:110790-201404;纯度:99.2%)和杠柳毒苷

(periplocoside, PS)(批号:111793-200901;纯度:93.8%)均购自中国食品药品检定研究院。25 批 SHT 样品,均来自不同生产企业,编号 P1~P25,信息见表 1。

1.3 试剂

甲醇为分析纯,乙腈为色谱纯,试验用水为 Milli-Q 系统制备。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent Proshell SB C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 2.7 μm);柱温 20 °C;流速 1.0 mL·min⁻¹;流动相为 0.5%磷酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~15 min, 5%→10%B;15~17 min, 10%→18%B;17~23 min, 18%B;23~40 min, 18%→22%B;40~60 min, 22%→29%B。检测波长:0~17 min, 260 nm;17~23 min, 403 nm;23~50 min, 280 nm;50~60 min, 220 nm。

2.2 对照品溶液的制备

分别取 5-HMF、PCA、PCAH、ESB、CA、HSYA、TS、4-MSA 和 PS 对照品适量,精密称定,分别加 60%甲醇制成每 1 mL 含 5-HMF 13 μg、PCA 13 μg、PCAH 15 μg、ESB 15 μg、CA 15 μg、HSYA 17 μg、TS 28 μg、4-MSA 34 μg 和 PS 10 μg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取重量差异项下本品约 1.2 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入 60%甲醇 25 mL,称定质量,超声 30 min,放冷,60%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。取处方中药味,按工艺制备各阴性样品,再按供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 参照峰选择 虽然红花是 SHT 的君药,HSYA 是红花的主要成分,但是通过研究发现,部分企业产品中该色谱峰较小,故选择原标准控制的 4-MSA 为参照峰。

2.4.2 仪器精密度试验 取 SHT(编号:P1),按“2.3”项下的方法制备供试品溶液 1 份,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图,并按国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统对其相似度进行评价。结果表明,相似度均为 1.00,符合指纹图谱技术要求,该方法仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取 SHT(编号: P1), 按“2.3”项下制备方法制备供试品溶液 6 份, 并按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图, 按国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统分别对其相似度进行评价, 结果表明, 相似度均为 1.00, 该方法具有较好的重复性。

2.4.4 稳定性试验 取 SHT(编号: P1), 按“2.3”项下制备方法制备供试品溶液 1 份, 并按“2.1”项下色谱条件分别在 55 h 内不同时间点时注入液相色谱仪, 记录色谱图, 并按国家药典委员会提供的中药色谱指纹图谱相似度评价系统对其相似度进行评价, 结果显示相似度均为 1.00, 各供试品溶液在 55 h 内稳定。

2.5 指纹图谱的建立与相关性分析

2.5.1 SHT 指纹图谱的建立 取 SHT 样品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液及各样品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版), 以 P1 样品为参照图谱, 建立 SHT 的指纹图谱, 见图 1A。

2.5.2 共有峰的指认及归属分析 根据指纹图谱分析结果, 将 SHT 供试品溶液、各缺味样品溶液、对照品溶液分别进样测定, 并将图谱进行叠加, 结果见图 1B。由图可知, 共确定 9 个共有峰, 分别为 1 号峰(5-HMF)、2 号峰(PCA)、3 号峰(PCAH)、4 号峰(ESB)、5 号峰(CA)、6 号峰(HSYA)、7 号峰(TS)、8 号峰(4-MSA)和 9 号峰(PS), 归属分别为 1, 2, 3 号峰归属为烫狗脊; 4 号峰归属为槲寄生; 5, 7 号峰归属为络石藤; 6 号峰归属为红花; 8, 9 号峰归属为香加皮。

2.5.3 相似度分析 取“1.2”项下 25 批不同生产企业的 SHT 样品, 分别制备成供试品溶液, 进样, 分析, 通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版), 计算相似度, 结果见表 1。部分批次相似度 <0.8 , 结合峰面积大小分析, 发现主要是源于 ESB、HSYA 和 TS 的峰面积差异, 推测是不同企业的药材质量及不同的生产工艺的影响。

2.6 网络药理学预测结果

2.6.1 SHT 靶点的预测与筛选 将上述共有峰成分的结构信息导入 Swiss Target Prediction 平台预测靶点, 根据靶点的可信度, 取可能性 ≥ 0.3 的靶点 496 个进行下一步分析。从 Genecards 数据库以“软组织挫伤(soft tissue injury)”“骨关节炎(osteoarthritis)”“外伤(traumatic injury)”“血瘀

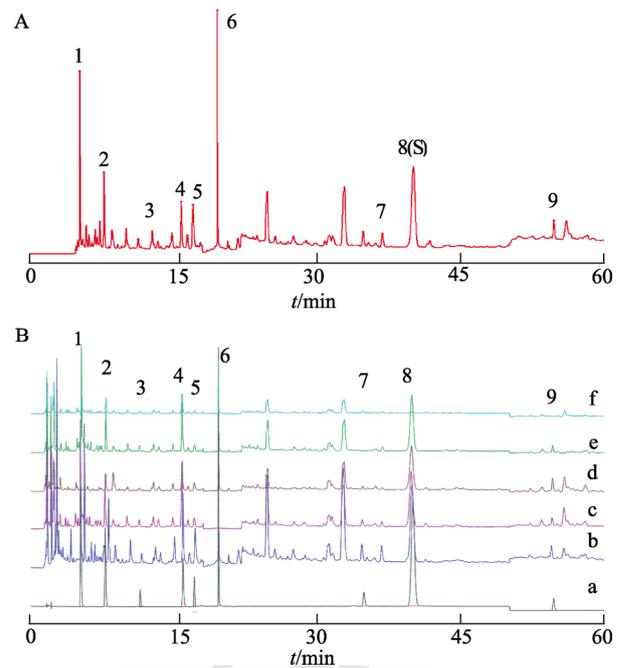


图 1 SHT 指纹图谱、混合对照和供试品及各阴性样品色谱图

A-SHT 对照指纹图谱; B-混合对照和供试品及各阴性样品色谱图; a-混合对照色谱图; b-供试品色谱图; c-缺红花样品色谱图; d-缺狗脊样品色谱图; e-缺络石藤样品色谱图; f-缺香加皮样品色谱图; 1-5-羟甲基糠醛; 2-原儿茶酸; 3-原儿茶醛; 4-紫丁香苷; 5-绿原酸; 6-羟基红花黄色素 A; 7-络石苷; 8-4-甲氧基水杨醛; 9-杠柳毒苷。

Fig. 1 Fingerprint of SHT, chromatogram of mixed reference substances, sample sample solution and negative solutions

A-Reference fingerprint of SHT; B-chromatogram of mixed reference substances and sample solutions and negative solutions; a-chromatogram of mixed reference substances; b-chromatogram of sample solution; c-chromatogram of negative *Carthamus tinctorius* L. solution; d-chromatogram of sample solution of negative *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. Solution; e-chromatogram of negative *Trachelospermum jasminoides* (Lindl.) Lem. solution; f-chromatogram of negative *Periploca sepium* Bge solution; 1-5-hydroxymethylfurfural; 2-protocatechuic acid; 3-protocatechuic aldehyde; 4-eleutheroside; 5-chlorogenic acid; 6-hydroxysafflor yellow A; 7-tracheloside; 8-4-methoxysalicylaldehyde; 9-periplocoside.

表 1 样品信息及相似度测定结果

Tab. 1 Information of samples and the results of similarity test

编号	生产单位	批号	相似度	编号	生产单位	批号	相似度
P1	生产企业 1	18120601	0.93	P14	生产企业 14	191203	0.84
P2	生产企业 2	200101	0.92	P15	生产企业 15	2001031	0.88
P3	生产企业 3	20190805	0.69	P16	生产企业 16	19441201	0.91
P4	生产企业 4	20190602	0.78	P17	生产企业 17	191102	0.76
P5	生产企业 5	20191001	0.68	P18	生产企业 18	190601	0.86
P6	生产企业 6	191215	0.73	P19	生产企业 19	190502	0.90
P7	生产企业 7	2002003	0.82	P20	生产企业 20	200312	0.69
P8	生产企业 8	190904	0.62	P21	生产企业 21	1912001	0.80
P9	生产企业 9	191002	0.84	P22	生产企业 22	20190309	0.89
P10	生产企业 10	191201	0.79	P23	生产企业 23	181115	0.72
P11	生产企业 11	200111	0.82	P24	生产企业 24	20190802	0.89
P12	生产企业 12	191104	0.87	P25	生产企业 25	19090030	0.86
P13	生产企业 13	191102	0.91				

(blood stasis) “肿胀(swelling)” “扭伤(sprains)” “疼痛(pain)” 为疾病关键词, 获得相关靶点 5 826 个, 疾病靶点度值最大值为 85.81, 最小值为 0.15, 取其 2 倍中位数, 设定相关度>4.96 的靶点为 SHT 作用的潜在靶点, 经 Uniprot 数据规范后得到 922 个疾病靶点。和共有峰的作用靶点相匹配, 得到 102 个 SHT 作用的潜在靶点。

2.6.2 PPI 网络分析 将靶点 PPI 图导入 Cytoscape 软件, 通过 Bundle Edge 分析功能得到核心子网络, 靶点度值越大, 形状越大, 表明靶点与网络中其他靶点连接越紧密, 结果见图 2。EGFR、MMP8、PIK3CA、PTGS2、AKR1B1、PTGS1、MMP13 等排名靠前的靶点为 SHT 起效的核心靶点, 选择连接最紧密的靶点 30 个作为核心靶点。

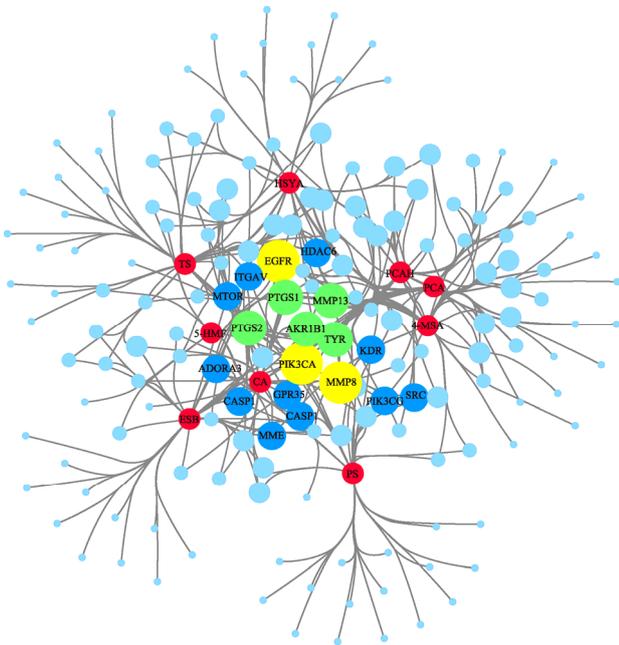


图 2 共有成分与 SHT 靶点的 PPI 网络分析
Fig. 2 PPI network of common ingredients and SHT targets

2.6.3 GO 富集分析 利用 Matescape 平台对 SHT 起效的潜在靶点进行 GO 分析, SHT 主要通过参与调节对受伤的应激的反应、对激酶活性的调控、有毒物质的反应、作用于血液循环系统、对氧含量降低的应激反应、对氮化合物的应激反应细胞因子介导的信号通路等生物过程发挥损伤、促进血液循环的作用, 将 $P < 0.001$ 排名前 10 的条目运用 OriginPro 2019b 绘制气泡图, 见图 3。

2.6.4 KEGG 通路分析 利用 Matescape 平台对 SHT 调控的潜在靶点进行 KEGG 分析, SHT 主要通过参与调节流式剪切应力与动脉粥样硬化通路、

神经活动配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)、COX2 和 EGFR 炎症关系通路、白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)信号通路等 115 个通路发挥改善病症的作用, 将 $P < 0.001$ 排名前 10 的条目运用 OriginPro 2019b 软件绘制气泡图, 见图 4。

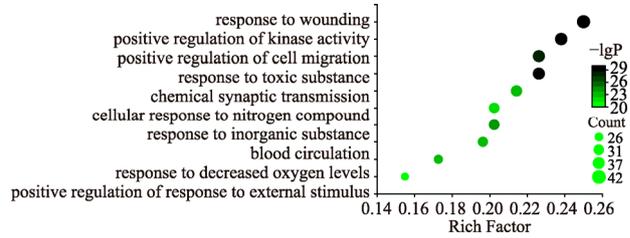


图 3 GO 富集分析
Fig. 3 GO enrichment analysis

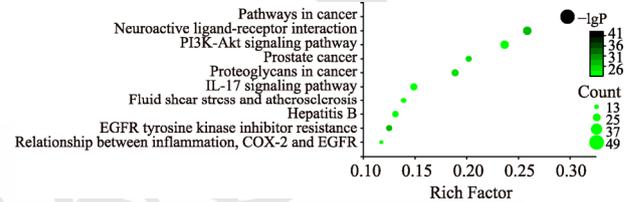


图 4 KEGG 富集分析
Fig. 4 KEGG enrichment analysis

2.6.5 “成分-靶点-通路”网络 通过 CytoScape 3.8.0 软件构建“成分-靶点-通路”网络, 该网络共有 49 个节点(包括 9 个成分、30 个靶点、10 条通路), 244 条边, 见图 5。从图中可见, HSYA、PCA、PCAH、4-MSA、TS、ESB 的节点度值排名靠前, 可能为 SHT 中的主要活性成分, 可以作为本品潜在的 Q-marker。

3 讨论

中药复方制剂成分复杂, 具有多成分、多靶点和多通路的特点, 使其作用机制研究极其困难。通过建立 SHT 的指纹图谱, 指认其共有峰, 对指认出的成分进行网络药理学分析, 筛选得到了 SHT 的关键靶点和信号通路, 进一步阐述了 SHT 的可能作用机制, 为下一步 Q-marker 的含量测定, 中药全程质量控制体系的建立打下基础。

本研究在优化供试品溶液制备方式时, 以 SHT 样品色谱图中色谱峰数量、关键色谱峰大小和分离效果为指标, 比较了甲醇、50%甲醇和水的差别, 结果 50%甲醇的图谱略优于甲醇, 水提取的效率最低。进一步比较了不同浓度的甲醇, 结果发现 60%甲醇的提取效率最高。这与原标准采用 60%甲醇提取制备供试品的结果一致。在选择色谱柱时, 为提

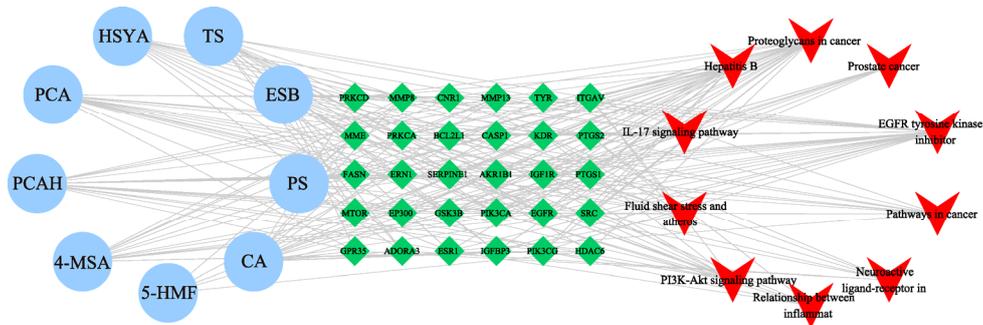


图5 “成分-靶点-通路”网络
圆圈代表9个共有组分；菱形代表靶点；箭头代表通路。

Fig. 5 Network of “ingredients-targets-pathways”

Circle represented 9 common ingredients of SHT; diamond represented targets; arrows represented pathways.

高分离效果，首先考虑采用小粒径色谱柱进行筛查，对比考察了 Agilent Proshell SB C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 2.7 μm)、Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)、Agilent Proshell EC C₁₈(4.6 mm×150 mm, 2.7 μm)，结果 Agilent Proshell SB C₁₈ 色谱柱分离效果最好，峰形最佳；且对仪器耐压性能要求较低，最终选择该色谱柱。由于本品测定的色谱峰最大吸收波长差异较大，为保证测定效果，为后续多指标含量测定做准备，故采用 DAD 检测器，分段设置检测波长的办法。

指纹图谱中 HSYA(6 号峰)和 TS(7 号峰)之间有 2 个较大的色谱峰，经研究，源于槲寄生，分别为圣草素-7-O-葡萄糖苷和高圣草素-7-O-葡萄糖苷，但由于槲寄生寄主不同，成分有差异^[8]，部分槲寄生这 2 个色谱峰缺失，故不作为共有峰纳入指纹图谱。

SHT 主要用于治疗筋骨疼痛、肢体拘挛、腰背酸痛、铁打损伤，这些疾病在临床上主要属于软组织挫伤、疼痛等，是一种以炎症、氧化应激为特征的疾病^[9-10]。其中重要炎症因子包括 COX2/PTGS2、TNF-α、IL-6 和 IL-1β 等^[11-12]。越来越多的证据表明，COX2(PTGS2)抑制剂对软组织挫伤有很好的疗效^[13-14]。GO 功能和 KEGG 通路分析结果表明，SHT 主要通过调控活性氧代谢过程、对氧化应激的反应，影响 IL-17、PTGS2 信号通路改善病症。

由“成分-靶点-通路”网络可知，SHT 中 9 个共有成分主要通过 EGFR、MMP8、PIK3CA、PTGS2、AKR1B1、PTGS1、MMP13 等靶点，影响 EGFR 信号通路、IL-17 信号通路、PTGS2 信号通路，发挥改善病症的作用。EGFR 可以抑制骨性关节炎的进程^[15]，PTGS2 具有调节炎症和抗氧化的作

用^[16]，骨与软骨在生长中需要对细胞外基质进行降解和转换^[17]，MMP8 和 MMP13 具有促进细胞外基质降解的作用^[18]，同时 MMP13 可以促进软骨细胞增殖^[19]。

本研究所建立的指纹图谱科学有效，通过对 SHT 潜在 Q-marker 的预测，为提升相关药物质量控制水平提供系统的科学数据，为中药 Q-marker 的量化评价与分级辨识提供了创新思路与方法，为有力提升中药质量控制水平提供重要的理论与方法支撑，为后期深入研究 SHT 的作用机制提供参考，也为 SHT 的质量控制提供了更全面的参考。

REFERENCES

- [1] CAO N N, YANG W J, LIN Y X, et al. HPLC fingerprint and multi-components determination of classical herbal prescription Zexie Decoction[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(10): 2773-2780.
- [2] BARABÁSI A L, GULBAHCE N, LOSCALZO J. Network medicine: A network-based approach to human disease[J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(1): 56-68.
- [3] XIE J, GAO S, LI L, et al. Research progress and application strategy on network pharmacology in Chinese materia medica[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50(10): 2257-2265.
- [4] XIA N N, REN W, DU J P, et al. Bibliometric analysis and information visualization research in the field of traditional Chinese medicine treating hypertension[J]. Pharm Today(今日药), 2018, 28(3): 200-203, 215.
- [5] ZHANG H M, LIU S H, GAO H J, et al. Research progress of network pharmacology method of compound traditional Chinese medicine[J]. Eval Anal Drug Use Hosp China(中国医院用药评价与分析), 2019, 19(10): 1270-1273, 1276.
- [6] EI L X, DING M P, WANG Z W, et al. “Multi-component-multi-target” Network pharmacology study of Yuyin Ruangan granules against hepatic fibrosis[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2020, 29(7): 788-798.
- [7] XU H B, QI X J, FANG C S, et al. Study on the mechanism of Zhenwu Decoction in treating chronic heart failure based on

- network pharmacology[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(15): 1801-1811.
- [8] LONG C, FAN R H, ZHANG Q L, et al. Simultaneous identification and quantification of the common compounds of *Viscum coloratum* and its corresponding host plants by ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and triple quadrupole mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017(1061/1062): 176-184.
- [9] LOGHMANI M T, TOBIN C, QUIGLEY C, et al. Soft tissue manipulation may attenuate inflammation, modulate pain, and improve gait in conscious rodents with induced low back pain[J]. Mil Med, 2021, 186(Suppl 1): 506-514.
- [10] JIANG S W, CHEN Z, LAI W Q, et al. Decoction of heat-clearing, detoxifying and blood stasis removing relieves acute soft tissue injury via modulating miR-26b-5p/COX2 axis to inhibit inflammation[J]. Biosci Rep, 2020, 40(12): BSR20201981. Doi: 10.1042/BSR20201981.
- [11] MARNETT L J, ROWLINSON S W, GOODWIN D C, et al. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition[J]. J Biol Chem, 1999, 274(33): 22903-22906.
- [12] DESAI S J, PRICKRIL B, RASOOLY A. Mechanisms of phytonutrient modulation of cyclooxygenase-2(COX-2) and inflammation related to cancer[J]. Nutr Cancer, 2018, 70(3): 350-375.
- [13] JONES P, LAMDIN R. Oral cyclo-oxygenase 2 inhibitors versus other oral analgesics for acute soft tissue injury: Systematic review and meta-analysis[J]. Clin Drug Investig, 2010, 30(7): 419-437.
- [14] LAUPACIS A. Review: selective COX-2 inhibitors increase vascular events more than placebo and naproxen, but not more than other NSAIDs[J]. ACP Journal Club, 2006, 145(3): 66. Doi: 10.1136/ebm.11.6.171.
- [15] MA X Y. The function of EGFR pathway in osteoarthritis[D]. Jinan: Shandong University, 2017.
- [16] MANSOUR D F, SALEH D O, MOSTAFA R E. Genistein ameliorates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity by modulation of oxidative stress and inflammatory mediators[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2017, 5(7): 836-843.
- [17] SASANO Y, LI H C, ZHU J X, et al. Immunohistochemical localization of type I collagen, fibronectin and tenascin C during embryonic osteogenesis in the dentary of mandibles and tibias in rats[J]. Histochem J, 2000, 32(10): 591-598.
- [18] WOESSNER J F, NAGASE H. Matrix Metalloproteinases and TIMPS[M]. Oxford: Oxford University Press, 2000.
- [19] WEI L, KANBE K, LEE M, et al. Stimulation of chondrocyte hypertrophy by chemokine stromal cell-derived factor 1 in the chondro-osseous junction during endochondral bone formation[J]. Dev Biol, 2010, 341(1): 236-245.

收稿日期: 2021-12-08
(本文责编: 沈倩)