

应用化合物-靶点网络预测杜仲延缓软骨退变的药效物质基础及作用机制

郑春松¹, 付长龙¹, 林洁¹, 吴广文², 李西海², 叶蕪芝¹, 刘献祥¹

(1. 福建中医药大学, 福建 福州 350122;

2. 福建省中西医结合老年性疾病重点实验室, 福建 福州 350122)

摘要 目的:探讨杜仲延缓软骨退变的药效物质基础及作用机制。**方法:**通过检索北京大学天然产物库,检索出杜仲中的化合物 117 个,在 Discovery studio 模拟平台上建立杜仲化合物分子数据集。通过检索 TTD 数据库和相关文献,确定白细胞介素(interleukin, IL) - 1 β 、肿瘤坏死因子 - α (tumor necrosis factor - α , TNF - α)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP) - 1、MMP - 3、转化生长因子(transforming growth factor, TGF) - β 1 及聚蛋白多糖酶(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS) - 4 为杜仲延缓软骨退变的研究靶点,从 RCSB 蛋白数据库下载其蛋白质-配体复合物结构,在 Discovery studio 模拟平台上建立其蛋白分子数据集。利用分子对接和生物网络技术,构建杜仲化合物-软骨退变靶点作用网络,分析杜仲化合物与软骨退变靶点的作用情况,辨识杜仲延缓软骨退变的药效物质基础,并从杜仲化合物作用的靶点功能探讨杜仲延缓软骨退变的作用机制。**结果:**从杜仲化合物分子数据集中共筛选出 70 个化合物为杜仲延缓软骨退变的药效物质基础,分别属于环烯醚萜类、黄酮类和苯丙素类化合物。建立的杜仲化合物-软骨退变靶点作用网络中共有 76 个节点(包含 70 个杜仲化合物节点和 6 个靶点节点)和 200 条边,每个靶点的平均化合物数目为 14 个,平均每个化合物能与 2.9 个靶点作用。IL - 1 β 、MMP - 1、TNF - α 、MMP - 3、ADAMTS - 4、TGF - β 1、UNPD197620(环烯醚萜类化合物)、UNPD20544(环烯醚萜类化合物)、UNPD197619(环烯醚萜类化合物)、UNPD156594(环烯醚萜类化合物)、UNPD67874(黄酮类化合物)、UNPD117238(黄酮类化合物)和 UNPD182417(环烯醚萜类化合物)具有较高的度和介数值。**结论:**杜仲延缓软骨退变的主要药效物质基础为环烯醚萜类和黄酮类化合物,其作用机制可能是通过抑制软骨中 IL - 1 β 、TNF - α 的表达来减少软骨中 MMPs 和 ADAMTS 的表达,同时促进 TGF - β 1 的表达,从而减少软骨破坏、促进软骨修复,最终延缓软骨退变的进程。

关键词 杜仲; 骨关节炎; 软骨, 关节; 化合物-靶点网络; 药理作用分子作用机制; 计算机模拟

Application of compound - target network in predicting the pharmacodynamic material basis of eucommia ulmoides in delaying cartilage degeneration and its mechanism of action

ZHENG Chunsong¹, FU Changlong¹, LIN Jie¹, WU Guangwen², LI Xihai², YE Hongzhi¹, LIU Xianxiang¹

1. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian, China

2. Fujian Key Laboratory of Integrated Medicine on Geriatrics, Fuzhou 350122, Fujian, China

ABSTRACT Objective: To explore the pharmacodynamic material basis of eucommia ulmoides in delaying cartilage degeneration and its mechanism of action. **Methods:** One hundred and seventeen chemical compounds were searched out from eucommia ulmoides by searching Peking University Natural Product Library, and eucommia ulmoides chemical compound molecular datasets were built on the Discovery studio simulation platform. Interleukin (IL) - 1 β , tumor necrosis factor - α (TNF - α), matrix metalloproteinases (MMP) - 1, MMP - 3, transforming growth factor (TGF) - β 1 and a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs (ADAMTS) - 4 were identified as the research targets of eucommia ulmoides for delaying cartilage degeneration through retrieving TTD database and related literatures. Their protein - ligand compound structures were downloaded from RCSB protein database and the molecular datasets of protein were built on the Discovery studio simulation platform. The network of interaction between chemical compounds of eucommia ulmoides and targets of cartilage degeneration was built by using molecular docking and bio - network technology, and their interactions were analyzed. The pharmacodynamic

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81573801); 福建省自然科学基金项目(2015J01338)

通讯作者: 刘献祥 E-mail: liuxianxiang@163.com

material basis of eucommia ulmoides in delaying cartilage degeneration was identified, meanwhile, the mechanism of action of eucommia ulmoides in delaying cartilage degeneration was explored by analysing the role of target of eucommia ulmoides chemical compounds. **Results:** Seventy chemical compounds selected from eucommia ulmoides chemical compound molecular datasets were identified as the pharmacodynamic material basis of eucommia ulmoides in delaying cartilage degeneration, and they belonged to iridoids, flavonoids and phenylpropanoids respectively. The network of interaction between chemical compound of eucommia ulmoides and targets of cartilage degeneration consisted of 76 nodes (included 70 eucommia ulmoides chemical compound nodes and 6 target nodes) and 200 edges in total. The average number of chemical compounds for each target was 14, and each chemical compound can act on 2.9 targets averagely. IL-1 β , MMP-1, TNF- α , MMP-3, ADAMTS-4, TGF- β 1, UNPD197620 (iridoid), UNPD20544 (iridoid), UNPD197619 (iridoid), UNPD156594 (iridoid), UNPD67874 (flavonoid), UNPD117238 (flavonoid) and UNPD182417 (iridoids) had comparatively high degrees and betweenness values. **Conclusion:** The main pharmacodynamic material basis of eucommia ulmoides in delaying cartilage degeneration are iridoids and flavonoids. They can reduce the expression of MMPs and ADAMTS and promote the expression of TGF- β 1 in cartilage through inhibiting the expression of IL-1 β and TNF- α , which may be the mechanisms of action for reducing the damage of cartilage, promoting the repair of cartilage and delaying the process of cartilage degeneration ultimately.

Key words eucommia ulmoides; osteoarthritis; cartilage, articular; compound-target network; molecular mechanisms of pharmacological action; computer simulation

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是中老年人较常见的慢性退行性骨关节疾病, 其主要病变为关节软骨退变及继发性骨质增生^[1]。本课题组前期的研究结果提示, “关节软骨退变” 为 OA 的原发病变, “骨质增生” 为其继发的病理特征, 揭示了延缓关节软骨退变在治疗 OA 中的重要性^[2]。

杜仲作为治疗 OA 常用方药独活寄生汤的重要组成部分^[3-4], 归肝、肾经, 具有补肝肾、强筋骨的功效, 可用于治疗足膝痿弱^[5]。实验研究表明, 杜仲可调节基质金属蛋白酶类 (matrix metalloproteinases, MMPs) 和组织金属蛋白酶抑制剂的表达, 对关节软骨具有保护作用^[6]; 而且杜仲苷能提高体外培养的大鼠软骨细胞在炎性环境下的增殖活力, 促进软骨细胞中 II 型胶原蛋白的分泌, 显示了对软骨细胞的抗炎保护作用^[7]。为进一步探讨杜仲延缓软骨退变的药效物质基础及作用机制, 我们利用化合物-靶点网络的计算机模拟方法^[8-9]研究了杜仲化学成分与软骨退变靶点的相互作用, 现总结报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验材料 杜仲所含化合物来源于北京大学天然产物库^[10]; 软骨退变靶点信息来源于 TTD 数据库^[11]和文献^[12-15], 靶点蛋白质结构来源于 RCSB 蛋白数据库^[16]。

1.2 实验设备 Discovery studio 分子模拟软件; Cytoscape 生物信息网络关系软件。本实验所有计算工作均在北京大学化学与分子工程学院计算机模拟

实验室完成, 计算过程中除非特别指明, 所选用的参数均为缺省值。

2 方法

2.1 杜仲化合物分子数据集与软骨退变靶点蛋白分子数据集的建立 通过检索北京大学天然产物库, 检索出杜仲中的化合物 117 个, 在 Discovery studio 模拟平台上建立杜仲化合物分子数据集。通过检索 TTD 数据库和相关文献, 确定白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP)-1、MMP-3、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- β 1 及聚蛋白多糖酶 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS)-4 为杜仲延缓软骨退变的研究靶点, 从 RCSB 蛋白数据库下载其蛋白质-配体复合物结构, 代码分别为 3O4O、2AZ5、3AYK、4G9L、1RW8 和 4WK7。在 Discovery studio 模拟平台上建立其蛋白分子数据集。

2.2 杜仲化合物-软骨退变靶点作用网络的构建与分析 将杜仲化合物分子数据集与软骨退变靶点蛋白在 Discovery studio 软件 LigandFit 模块中进行分子对接。对接前各蛋白结构进行去溶剂、去配体、加氢处理, 以其所含的活性原配体来确定活性位点^[17], 以杜仲化合物分子数据集为研究对象, 使用蒙特卡罗方法构象采样、Dreiding 力场下进行打分, 保留得分最高的构象, 对对接成功的化合物 DOCK-

SCORE 进行排序。以各蛋白原配体的 DOCK - SCORE 为阈值,大于阈值的化合物视为杜仲延缓软骨退变的药效物质基础^[18]。将杜仲延缓软骨退变的药效物质基础化合物与软骨退变靶点作为节点,其相互作用用边表示。采用 Cytoscape 软件构建杜仲化合物 - 软骨退变靶点作用网络^[19],在该软件的 Network Analysis 模块中,分析杜仲化合物与软骨退变靶点的作用情况。

3 结果

分别以 IL - 1 β 、TNF - α 、MMP - 1、MMP - 3、TGF - β 1 和 ADAMTS - 4 为杜仲延缓软骨退变的研究靶点,以各蛋白的原配体 DOCK - SCORE 值为阈值,从杜仲化合物分子数据集中筛选出其延缓软骨退变的潜在药效物质基础化合物数目分别为 62 个、41 个、53 个、17 个、10 个和 17 个,去除重复的化合物后共计 70 个(表 1),分别属于环烯醚萜类、黄酮类和苯丙素类化合物。

表 1 杜仲延缓软骨退变的分子对接虚拟筛选结果

靶点	命中化合物数量(个)	化合物名称(从中各取 5 个)
白细胞介素 - 1 β	62	Rutin, Eucomoside C, Asperulosidic acid, Syringin, (+) - Syringaresinol
肿瘤坏死因子 - α	41	Kaempferol - 3 - O - rutinoid, Rutin, Eucomoside C, Asperulosidic acid, Asperuloside
基质金属蛋白酶 - 1	53	Rutin, Geniposidic acid, Eucomoside A, Eucomoside B, Eucomoside C
基质金属蛋白酶 - 3	17	Asperulosidic acid, Rutin, Geniposidic acid, Chlorogenic acid, Eucomoside B
转化生长因子 - β 1	10	Eucomoside A, Quercetin, Kaempferol, Chlorogenic acid, Asperuloside
聚蛋白多糖酶 - 4	17	Geniposidic acid, Eucomoside A, Geniposide, Ulmoside, Aucubin

建立的杜仲化合物 - 软骨退变靶点作用网络中共有 76 个节点(包含 70 个杜仲化合物节点和 6 个靶点节点)和 200 条边,每个靶点的平均化合物数目为 14 个,平均每个化合物能与 2.9 个靶点作用(图 1)。在 Cytoscape 软件 Plugins 面板下计算得到杜仲化合物 - 软骨退变靶点作用网络模型的重要节点信息显示,IL - 1 β 、MMP - 1、TNF - α 、MMP - 3、ADAMTS - 4、TGF - β 1、UNPD197620(环烯醚萜类化合物)、UNPD20544(环烯醚萜类化合物)、UNPD197619(环烯醚萜类化合物)、UNPD156594(环烯醚萜类化合物)、

UNPD67874(黄酮类化合物)、UNPD117238(黄酮类化合物)和 UNPD182417(环烯醚萜类化合物)具有较高的度和介数值(表 2)。

4 讨论

在生理状态下,软骨组织中的分解性细胞因子和合成性细胞因子之间存在着动态的平衡,二者在延缓 OA 软骨退变中都具有重要的作用^[20]。一方面,IL - 1 β 、TNF - α 作为主要的分解性细胞因子,能促进 MMPs 和 ADAMTS 等的表达,从而降解软骨聚蛋白多糖和胶原^[21-23]。其中,MMP - 1 过表达导致软骨 II

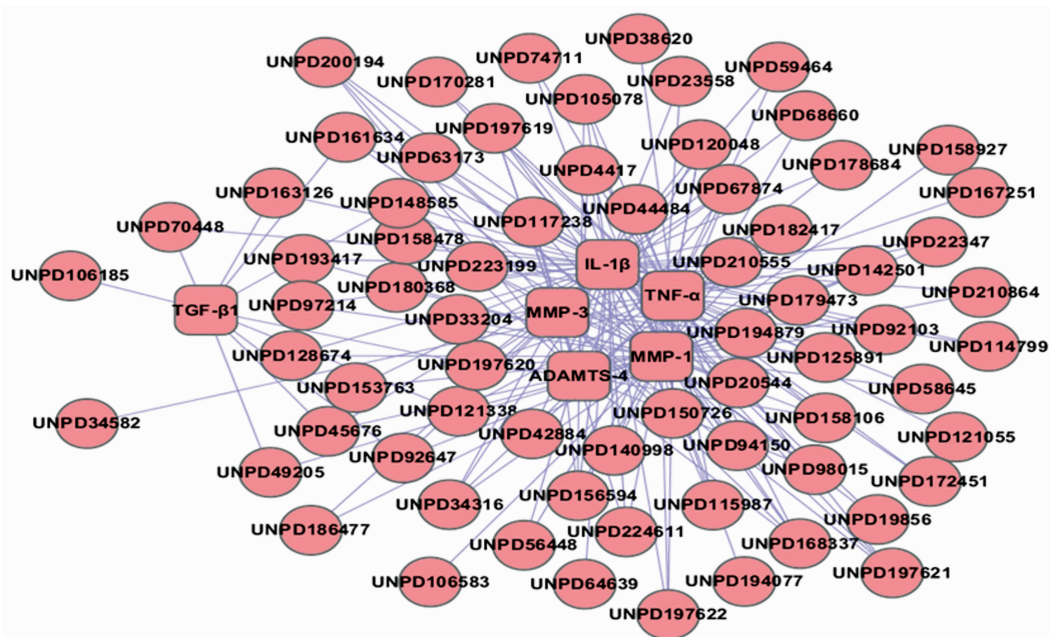


表 2 杜仲化合物-软骨退变靶点作用网络的重要节点信息

节点	化合物名称	度	介数值
白细胞介素-1 β	—	62	0.452 4
基质金属蛋白酶-1	—	53	0.311 5
肿瘤坏死因子- α	—	41	0.191 7
基质金属蛋白酶-3	—	17	0.015 4
聚蛋白多糖酶-4	—	17	0.014 3
转化生长因子- β 1	—	10	0.034 1
UNPD197620	Eucomoside A	6	0.015 4
UNPD20544	Ulmoside	5	0.004 4
UNPD197619	Scandoside 10-O-glucopyranoside	5	0.004 4
UNPD156594	Asperulosidic acid	5	0.004 4
UNPD117238	Kaempferol 3-O-beta-D-glucopyranoside	5	0.004 4
UNPD67874	Isoquercitrin	5	0.004 4
UNPD182417	Aucubin	4	0.002 2

型胶原降解是软骨退变的重要原因, MMP-3 通过参与间质胶原酶的激活来实现对软骨 II 型胶原的降解; ADAMTS-4 的表达在人软骨聚蛋白多糖的降解中起主要作用^[15]。另一方面, TGF- β 1 作为主要的合成性细胞因子, 具有促进软骨细胞增殖与分化、促进软骨基质合成、抑制 MMPs 合成来抑制软骨基质降解及修复软骨等功能, 在软骨的生长和重建中起着关键性的作用^[24]。因此, 若分解性细胞因子和合成性细胞因子的平衡机制被破坏, 会导致细胞外基质降解、软骨组织变性, 进而导致关节软骨退变, 最终导致 OA^[20,25]。因此, 本研究将 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-1、MMP-3、ADAMTS-4 和 TGF- β 1 作为杜仲延缓软骨退变药效物质基础的作用靶点。

中药药效物质基础是中药现代化研究的关键, 但由于中药具有多成分、多靶点的特点, 而且部分有效成分含量很少, 若按照“从中药到活性成分”的传统途径来研究中药的药效物质基础, 存在实验时间长、假阳性干扰、漏筛等缺点, 这使得中药药效物质基础的研究极为困难^[26]。在此背景下, 徐筱杰^[27]提出利用计算机模拟的方法来探讨中药可能的药效物质基础及机制, 为实验提供导向, 可节省大量人力、物力。近年来, 网络药理学作为计算机模拟的常用方法, 已经应用到中药现代化研究中, 成为探讨中药药效物质基础及作用机制的重要手段之一^[28-29]。中药有效成分-靶点作用网络节点的度和介数可以评价中药有效成分和靶点在网络中的重要性^[29]。本研究建立了杜仲化合物-软骨退变靶点作用网络。从杜仲化合物的网络特征看, 环烯醚萜类化合物 (UNPD197620、UNPD20544、UNPD197619、UNPD156594、UNPD182417) 和

黄酮类化合物 (UNPD67874、UNPD117238) 具有较大的度和介数值, 是网络中的关键化合物节点, 提示杜仲中环烯醚萜类化合物和黄酮类化合物在延缓软骨退变方面起着关键性的作用。而且此类化合物具有多靶点作用, 例如, UNPD67874 (Isoquercitrin) 与 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-1、MMP-3、ADAMTS-4 均有较好的作用, UNPD182417 (Aucubin) 与 IL-1 β 、MMP-1、MMP-3、ADAMTS-4 也均有较好的作用。而以往的研究也已证实 Isoquercitrin 能与 IL-1 β 、TNF- α 作用, Aucubin 能与 MMP-1 作用^[30-31]。这些化合物将成为未来治疗 OA “多靶点药物” 开发的重要研究对象^[32]。从靶点的网络特征看, IL-1 β 、MMP-1、TNF- α 、MMP-3 和 ADAMTS-4 分布集中, 提示它们之间存在密切的关系, 与文献报道的结果一致^[21-23]; 而且, 它们具有较大的度和介数值, 表明它们是杜仲延缓软骨退变的关键靶点^[29], 即杜仲可通过抑制软骨中 IL-1 β 、TNF- α 的表达来降低软骨中 MMP-1、MMP-3 和 ADAMTS-4 表达, 从而延缓软骨聚蛋白多糖和胶原的降解。虽然 TGF- β 1 的度值相对较小, 但是其介数值却大于 MMP-3 和 ADAMTS-4, 提示杜仲对 TGF- β 1 的作用也是其延缓关节软骨退变的重要机制^[33], 即杜仲能促进软骨中 TGF- β 1 表达, 增强对 MMP-1 和 MMP-3 表达的抑制作用, 抑制软骨基质降解, 促进软骨修复。

总之, 杜仲延缓软骨退变的主要药效物质基础为环烯醚萜类和黄酮类化合物, 其作用机制可能是通过抑制软骨中 IL-1 β 、TNF- α 的表达来减少软骨中 MMPs 和 ADAMTS 的表达, 同时促进 TGF- β 1 的表达, 从而减少软骨破坏、促进软骨修复, 最终延缓软骨

退变的进程。后期课题组将提取杜仲的环烯醚萜和黄酮部位,以 IL-1 β 诱导的退变关节软骨细胞和改良 Hulth 造模法复制的膝 OA 为模型^[4,34],以 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-1、MMP-3、ADAMTS-4 和 TGF- β 1 为药效学评价指标,进行“杜仲—有效部位—有效成分”的系统层次研究,验证模拟出来的潜在活性化合物的作用效果,为研制杜仲延缓关节软骨退变的多靶点新药、制定与其药效直接相关的质量标准提供帮助。

5 参考文献

- [1] 刘献祥,林燕萍. 中西医结合骨伤科学[M]. 北京:科学出版社,2011:247-250.
- [2] 刘献祥. 基于陈可冀学术思想之骨性关节炎研究[J]. 康复学报,2016,26(1):2-5.
- [3] ZHENG CS, XU XJ, YE HZ, et al. Computational approaches for exploring the potential synergy and polypharmacology of Duhuo Jisheng Decoction in the therapy of osteoarthritis[J]. Mol Med Rep, 2013, 7(6):1812-1818.
- [4] 郑春松,叶蕪芝,李西海,等. 独活寄生汤含药血清对白细胞介素 1 β 诱导的退变关节软骨细胞中基质金属蛋白酶和环氧合酶 2 表达的影响[J]. 中医正骨, 2015, 27(12):1-6.
- [5] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2002:520-521.
- [6] 鲁海,谢国平,刘文刚,等. 杜仲干预大鼠膝骨性关节炎关节软骨破坏的机理研究[J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(11):144-145.
- [7] 王胜楠. 杜仲苷对 IL-1 β 诱导的软骨细胞分解代谢和凋亡的影响及其作用机制[D]. 广州:南方医科大学, 2012.
- [8] 郑春松,徐筱杰,刘献祥,等. 精制透骨消痛颗粒防治骨性关节炎的计算机药理学[J]. 物理化学学报, 2010, 26(3):775-783.
- [9] ZHENG C, QIU M, XU X, et al. Understanding the diverse functions of Huatan Tongluo Fang on rheumatoid arthritis from a pharmacological perspective[J]. Exp Ther Med, 2016, 12(1):87-94.
- [10] GU J, GUI Y, CHEN L, et al. Use of natural products as chemical library for drug discovery and network pharmacology[J]. PLoS One, 2013, 8(4):e62839.
- [11] ZHU F, SHI Z, QIN C, et al. Therapeutic target database update 2012: a resource for facilitating target-oriented drug discovery[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(Database issue):D1128-D1136.
- [12] 杨坚,史晨辉. MMPs 及相关细胞因子在骨性关节炎中的研究进展[J]. 农垦医学, 2009, 31(5):448-451.
- [13] 郭常安,陈峥嵘,张秀荣. 骨关节炎基质金属蛋白酶 1、2、3 及其抑制物的表达与软骨退变的关系[J]. 复旦学报(医学版), 2002, 29(4):244-246.
- [14] LOESER RF. Molecular mechanisms of cartilage destruction: mechanics, inflammatory mediators, and aging collide[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(5):1357-1360.
- [15] NAITO S, SHIOMI T, OKADA A, et al. Expression of ADAMTS4 (aggrecanase-1) in human osteoarthritic cartilage[J]. Pathol Int, 2007, 57(11):703-711.
- [16] DESHPANDE N, ADDESS KJ, BLUHM WF, et al. The RCSB protein data bank: a redesigned query system and relational database based on the mmCIF schema[J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33(SI):D233-D237.
- [17] MONTES M, BRAUD E, MITEVA MA, et al. Receptor-based virtual ligand screening for the identification of novel CDC25 phosphatase inhibitors[J]. J Chem Inf Model, 2008, 48(1):157-165.
- [18] 郑春松,徐筱杰,叶蕪芝,等. 青风藤治疗骨性关节炎药效物质基础多靶导向作用的计算机模拟研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(3):375-379.
- [19] SMOOT ME, ONO K, RUSCHEINSKI J, et al. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization[J]. Bioinformatics, 2011, 27(3):431-432.
- [20] MUELLER MB, TUAN RS. Anabolic/catabolic balance in pathogenesis of osteoarthritis: identifying molecular targets[J]. PM R, 2011, 3(6 Suppl 1):3-11.
- [21] RA HJ, LEE HJ, JO HS, et al. Betulin suppressed interleukin-1 β -induced gene expression, secretion and proteolytic activity of matrix metalloproteinase in cultured articular chondrocytes and production of matrix metalloproteinase in the knee joint of rat[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2017, 21(1):19-26.
- [22] 张超,王旭,姜建元,等. MMP-1、13 mRNA 和 DDR2 表达与关节软骨退变的关系[J]. 复旦学报(医学版), 2007, 34(1):126-128.
- [23] 孟祥奇,黄桂成,惠初华,等. 黄芪甲苷对人膝骨关节炎退变软骨细胞 MMP-1 和 MMP-3 mRNA 表达的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(7):88-90.
- [24] GRIMAUD E, HEYMANN D, RÉDINI F. Recent advances in TGF- β effects on chondrocyte metabolism. Potential therapeutic roles of TGF- β in cartilage disorders[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2002, 13(3):241-257.

(下转第 18 页)

(上接第 10 页)

- [25] 朱孝芹,孙大勇. 改善疾病的骨关节炎治疗药物研究进展[J]. 承德医学院学报,2010,27(4):421-424.
- [26] 郭倩,田成旺,任涛,等. 中药药效物质基础研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2015,17(3):648-654.
- [27] 徐筱杰. 中药复方的计算机模拟研究[J]. 化学进展,1999,19(2):202-203.
- [28] 许海玉,黄璐琦,卢鹏,等. 基于体内 ADME 过程和网络药理学的中药现代研究思路[J]. 中国中药杂志,2012,37(2):142-145.
- [29] 柯志鹏,张新庄,丁玥,等. 利用网络药理学方法研究芪桂痛风片的药效物质基础与分子作用机制[J]. 中国中药杂志,2015,40(14):2837-2842.
- [30] LI L,ZHANG XH,LIU GR,et al. Isoquercitrin suppresses the expression of histamine and pro-inflammatory cytokines by inhibiting the activation of MAP Kinases and NF-

κ B in human KU812 cells [J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(6):407-412.

- [31] HO JN,LEE YH,LEE YD,et al. Inhibitory effect of Aucubin isolated from Eucommia ulmoides against UVB-induced matrix metalloproteinase-1 production in human skin fibroblasts [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2005, 69(11):2227-2231.
- [32] 徐炎,李学军. 多靶点药物治疗及药物发现[J]. 药学学报,2009,44(3):226-230.
- [33] 郑春松,林珠灿,许惠风,等. 透骨消痛胶囊治疗骨性关节炎的多向药理学研究[J]. 福建中医药大学学报,2011,21(1):43-47.
- [34] 刘献祥,李西海,周江涛. 改良 Huth 造模法复制膝骨性关节炎的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,2005,25(12):1104-1108.

(2017-07-02 收稿 2017-11-01 修回)