

基于网络药理学和分子对接研究金银花-黄芪药对 治疗骨髓炎的分子机制*

崔喜喜¹, 韩宗昌², 李记天², 李无阴², 张虹^{1, 2Δ}

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 河南省洛阳正骨医院/河南省骨科医院, 河南 洛阳 471002)

摘要: **目的** 运用网络药理学与分子对接的方法探索金银花-黄芪药对治疗骨髓炎可能的作用机制, 为临床用药提供科学依据。**方法** 在 TCMSP 平台内检索金银花、黄芪的生物活性成分并进行筛选, 同时在蛋白质数据库和相关基因数据库中检索骨髓炎的潜在靶点, 构建 Venny 图寻找共同靶点; 运用 Cytoscape 软件构建“药物成分-靶点-疾病”复杂网络关系图, 通过 Bisogenet 软件、CytoNCA 软件和 Metascape 数据库等进行蛋白互作关系分析、靶点基因功能富集分析和信号通路分析, 并使用分子对接软件(AutoDock)将核心靶点与化合物进行分子对接, 使用绘图软件 Pymol 将结果可视化。**结果** 本研究共纳入金银花的有效成分 236 种, 黄芪有效成分 87 种, 预测出可能的共同靶点 21 种。通过富集分析, 显示金银花-黄芪药对中的有效成分能够影响多种蛋白质的表达, 这些蛋白质又与骨髓炎的发生发展密切相关。分子对接结果显示金银花-黄芪药对的有效成分和靶点蛋白能够自发结合。**结论** 金银花-黄芪药对可从抗氧化应激、提高免疫力、减少细胞凋亡、抗炎抗菌 4 个途径发挥治疗作用, 为治疗骨髓炎和新药开发提供了理论依据。

关键词: 金银花; 黄芪; 骨髓炎; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2021)03-0079-10

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2021.03.014

Study on the Molecular Mechanism of Honeysuckle and Astragalus on Osteomyelitis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

CUI Xixi¹, HAN Zongchang², LI Jitian², LI Wuyin², ZHANG Hong^{1, 2}

(1. Henan University of Chinese Traditional Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2. Luoyang Orthopedic Hospital of Henan Province/Orthopedic Hospital of Henan Province, Luoyang 471002, China)

ABSTRACT: Objective To explore the possible mechanism of Honeysuckle and Astragalus in the treatment of osteomyelitis by using the method of network pharmacology and molecular docking, so as to provide scientific basis for clinical medication. **Methods** The bioactive components of Honeysuckle and Astragalus were searched in TCMSP platform and screened according to the research needs. At the same time, the potential targets of osteomyelitis were searched in protein database and related gene database, and the common targets were found in Venny diagram; The complex network diagram of "drug composition-target-disease" is constructed by using Cytoscape software. Protein interaction analysis, target gene function enrichment analysis and signal pathway analysis are carried out by Bisogenet software, CytoNCA software and Metascape database. The core target is connected with the compound by using molecular docking software (AutoDock). The results were visualized by Pymol. **Results** 236 kinds of effective bioactive components of Honeysuckle and 87 kinds of effective components of Astragalus were explored, and 21 possible common targets were predicted. Enrichment analysis showed that Honeysuckle and Astragalus could affect the expression of a variety of proteins, which were closely related to

收稿日期: 2021-04-10

* 基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题项目(2016ZY1010, 2018ZYD01)

第一作者简介: 崔喜喜(1990-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药药理与临床。

Δ通信作者: 张虹, E-mail: 1243889796@qq.com

the occurrence and development of osteomyelitis. The results of molecular docking showed that the effective components of Honeysuckle and Astragalus could spontaneously bind to the target protein. **Conclusion** Honeysuckle and Astragalus can play a therapeutic role in four aspects: antioxidant stress, improving immunity, reducing apoptosis, anti-inflammatory and antibacterial, which provides a theoretical basis for the follow-up treatment of osteomyelitis and the development of new drugs.

KEY WORDS: Honeysuckle; Astragalus; osteomyelitis; network pharmacology; molecular docking

骨髓炎(osteomyelitis)是临床上常见的感染性疾病,多发生于四肢长管状骨,急性期治疗不及时易发展为慢性骨髓炎,严重者可致畸致残,影响患者生活质量^[1-2]。无论是急性骨髓炎还是慢性骨髓炎,在临床上均以抗生素治疗为主^[3-4],慢性骨髓炎长期反复应用抗生素容易使细菌产生耐药性,这对临床治疗产生不良影响^[5],因此亟需寻找一种新型治疗方法或研发一种靶向药物来治疗骨髓炎。大量临床数据显示中医药治疗骨病疗效显著,且能够避免耐药性^[6-8],因此有必要深入探索中医药治疗骨髓炎的有效方法及药物作用机制。

中医古籍对骨髓炎有着明确的记载,多数医家将其归为“附骨疽”“骨蚀”^[9],《黄帝内经》描述:“虚邪之入于身也深……,内伤骨为骨蚀”。中医学根据发病症状总结为早期邪毒壅盛,气血阻滞,辨证属热毒炽盛;中期毒热内盛,气血耗损,辨证属正虚邪滞;后期热毒伤阴,正气虚损,辨证属气阴两虚。纵观整个发病过程,多存在“毒、虚”的临床特点,因此有医家将“益气解毒”作为治疗骨髓炎的核心原则。

刘艳等^[7]总结不同医家治疗骨髓炎的用药规律,分析了 100 条方剂,涉及 162 味中药,发现金银花、黄芪为高频中药。金银花味甘,性寒,归肺、心、胃经^[10-11],具有清热解毒的功效,现代药理学发现其含有绿原酸类化合物^[12]、黄酮类化合物^[13]等活性成分,并证实其广谱抗菌、抗病毒、增强免疫的功效^[10-13]。黄芪味甘,性微温,归脾、肺经,具有补气固表、利尿、托毒排脓、生肌的功效,被誉为补气之圣药^[14]。金银花配伍黄芪能清热解毒兼以补益气血,符合中药治疗骨髓炎的用药特点^[7,15]。

网络药理学是通过大数据预测药物多成分、多靶点、多途径治疗疾病的可能机制,分子对接技术是通过受体与药物分子之间的相互作用,从分子水平上模拟验证中药有效成分作用于疾病的科学依据。基于此,本研究利用网络药理学预测金银花-黄芪药对治疗骨髓炎可能的作用机制,并采用分子对接技术进行

验证,为临床用药提供理论支持,同时为新药的研发提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 药物活性成分的筛选 在 TCSP 数据库中检索“金银花”“黄芪”获得其活性成分信息,并设置口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18 进行筛选。

1.2 药物作用靶点预测与疾病靶点查询 在 TCSP 数据库中进行检索,获取化合物的靶点,并在 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)中对各靶点人类基因简称进行查询转化,获取相关基因。在 GeneCards 数据库(<https://auth.lifemapsc.com>)中以“osteomyelitis”为检索词进行检索,获取骨髓炎已知的相关靶基因。

1.3 共同靶点的确定 在网站(<http://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>)中导入药物作用靶点和疾病作用靶点的相关基因数据,绘制 Venny 图获取药物(金银花和黄芪)靶点与疾病(骨髓炎)靶点的交集为共同靶点,即为金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的潜在靶点。

1.4 成分-靶点网络构建 将确定的药物成分、疾病共同靶点导入 Cytoscape3.8.2(美国)构建“成分-靶点”网络图。在获取的结果图中,各个节点代表着可能存在的化合物和靶蛋白,线条代表着化合物和靶蛋白的相互作用。使用 Cytoscape3.8.2 中网络分析(Network analyzer)功能,对 Degree、Betweenness Centrality(BC)和 Closeness Centrality(CC)进行分析,以获取金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的主要活性成分。

1.5 蛋白相互网络的构建 将药物和疾病的靶点导入在线系统 Bisogenet 进行扩展,然后取交集初步获得金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的直接和间接靶点,设置上述获得靶点 Degree 的 2 倍中位数为标准进行筛选,然后运用网络拓扑分析软件 CytoNCA 进行分析,根据 Degree、BC、CC 等参数进行进一步筛选,以准确的深度挖掘金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的直接或间接作用靶点,构建蛋白质相互作用(PPI)网络。

1.6 生物通路分析 在 Metascape 数据库中将金银花-黄芪药对的作用靶标进行基因本体论 (GO) 分析与京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析, 得到通路富集结果, 将相关筛选标准设置为 $P < 0.01$ 。

1.7 分子对接 利用 AutoDock 及 Pymol 软件将金银花-黄芪药对中的主要活性成分与靶蛋白进行分子对接并可视化, 计算关键活性成分及关键靶点的分子结合能, 并以结合能 ≤ -5.0 kJ/mol 为判定标准, 验证

金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的科学性。

2 结果

2.1 药物的活性成分及相应靶蛋白 在 TCMSP 数据库中共检索出 236 种金银花活性成分、87 种黄芪活性成分, 筛选后得到符合标准金银花活性成分 23 种, 黄芪活性成分 20 种, 如黄酮类、环烯醚萜类和生物碱类化合物, 这些化合物很有可能就是金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的主要活性成分群。详见表 1、表 2。

表 1 金银花生物活性成分

序号	活性成分	序号	活性成分
1	Mandenol	12	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone
2	Ethyl linolenate	13	7-epi-Vogeloside
3	phytofluene	14	Caeruloside C
4	Eriodyctiol (flavanone)	15	Centauroside_qt
5	(-)-(3R,8S,9R,9aS,10aS)-9-ethenyl-8-(beta-D-glucopyranosyloxy)-2,3,9,9a,10,10a-hexahydro-5-oxo-5H,8H-pyrano[4,3-d]oxazolo[3,2-a]pyridine-3-carboxylic acid_qt	16	Ioniceracetalides B_qt
6	secologanic dibutylacetal_qt	17	XYLOSTOSIDINE
7	beta-carotene	18	dinethylsecologanoside
8	ZINC03978781	19	beta-sitosterol
9	Chryseriol	20	kaempferol
10	kryptoxanthin	21	Stigmasterol
11	4,5'-Retro-.beta.,beta.-Carotene-3,3'-dione, 4',5'-didehydro-	22	luteolin
		23	quercetin

表 2 黄芪生物活性成分

序号	活性成分	序号	活性成分
1	Mairin	10	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol
2	Jaranol	11	Bifendate
3	hederagenin	12	formononetin
4	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	13	isoflavanone
5	isorhamnetin	14	Calycosin
6	3,9-di-O-methylnisolin	15	kaempferol
7	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	16	FA
8	7-O-methylisomucronulatol	17	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol
9	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-beta-D-glucoside	18	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole
		19	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene
		20	quercetin

2.2 药物靶点预测及共同靶点的确定 在 Uniprot 数据库中输入潜在靶点的 PDB ID, 并剔除重复的基因靶点。在 GeneCards 数据库(<https://auth.lifemapsc.com>)中以“Osteomyelitis”为检索词进行检索, 获取已知的疾病靶点 953 个。取两者交集的共同靶点共 21 个, 这些为金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的可能靶基因, 并绘制 Venny 图。详见表 3、图 1。

表 3 药物治疗疾病的潜在靶标

序号	靶标	序号	靶标	序号	靶标
1	MGAM	8	SELE	15	CTSD
2	RELA	9	DUOX2	16	IKBKB
3	FOS	10	NOS3	17	VCAM1
4	IL6	11	F2	18	EGFR
5	NFKBIA	12	CYP1B1	19	EIF6
6	CASP8	13	CYP3A4	20	CRP
7	ICAM1	14	CAV1	21	RUNX2

2.3 成分-靶点与疾病靶点网络 以预测的 21 个基因作为金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的靶点, 使用 Cytoscape3.8.2 建立金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的

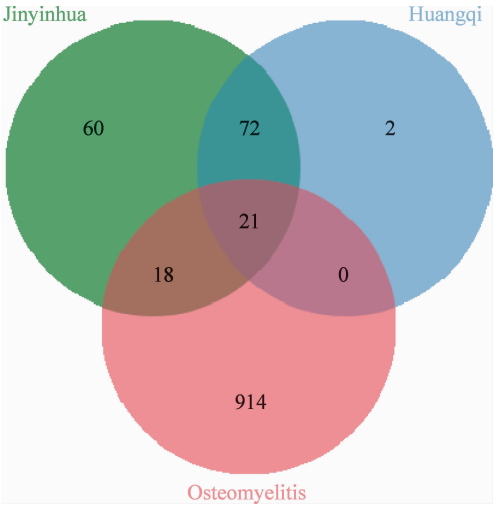


图 1 共同靶点

网络图, 见图 2。排名前 5 的关键成分分别为 quercetin、kaempferol、ursolic acid、apigenin、luteolin, 这些成分对治疗骨髓炎有重要的作用。详见表 4。

2.4 蛋白质相互作用网络构建 利用 Bisogenet 进行扩展, CytoNCA 进行分析, 构建 PPI 网络, 见图 3。设置 Degree 为 12、BC 为 0.013907、CC 为 0.53、LAC 为 28.025、Neighborhood Conne(NC)为 13.3125 为筛选条件进行筛选并取交集为核心蛋白, 见图 4。结果

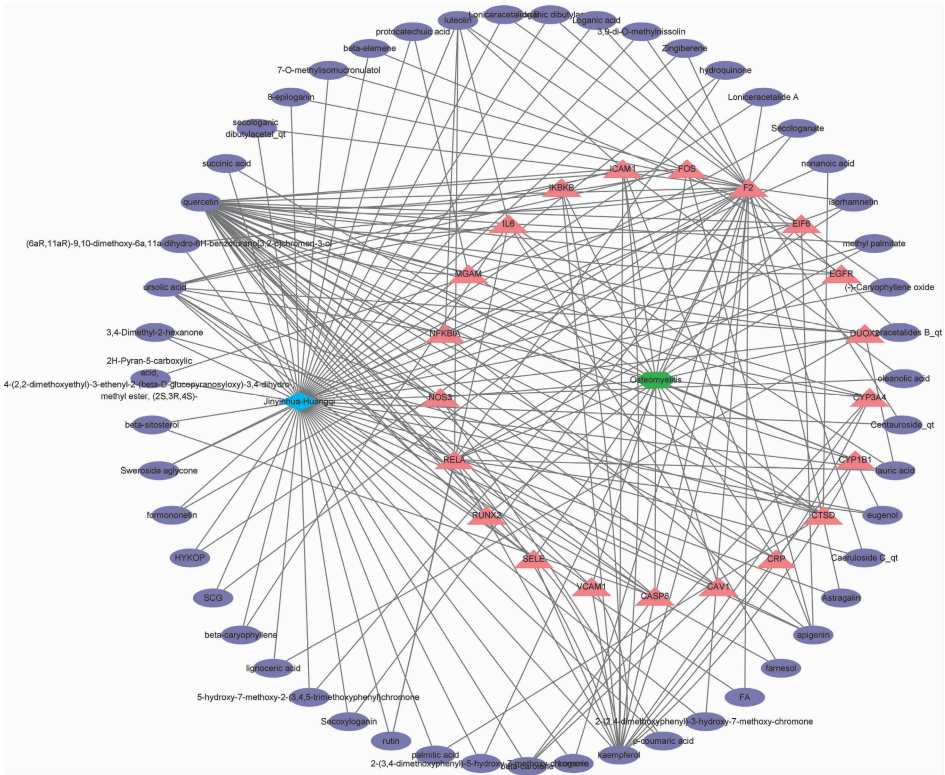


图 2 药物治疗骨髓炎的成分-靶点网络图

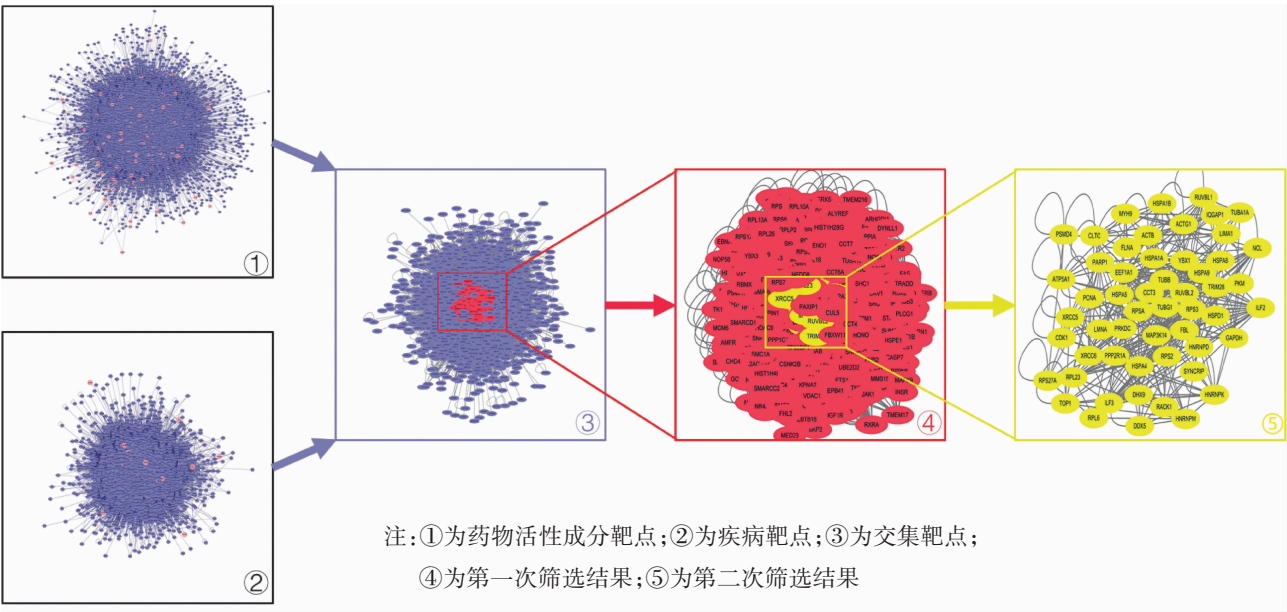
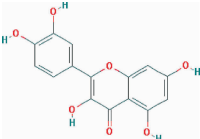
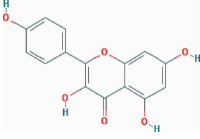
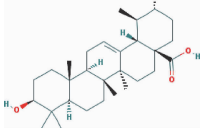
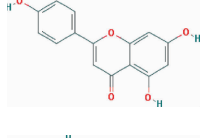
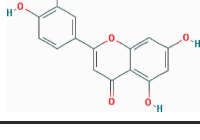


图 3 药物治疗骨髓炎 PPI 图

表 4 主要活性成分拓扑参数

序号	活性成分	Degree	BC	CC	结构
1	quercetin	41	0.17	0.58	
2	kaempferol	17	0.04	0.49	
3	ursolic acid	10	0.03	0.49	
4	apigenin	6	0.01	0.47	
5	luteolin	6	0.01	0.47	

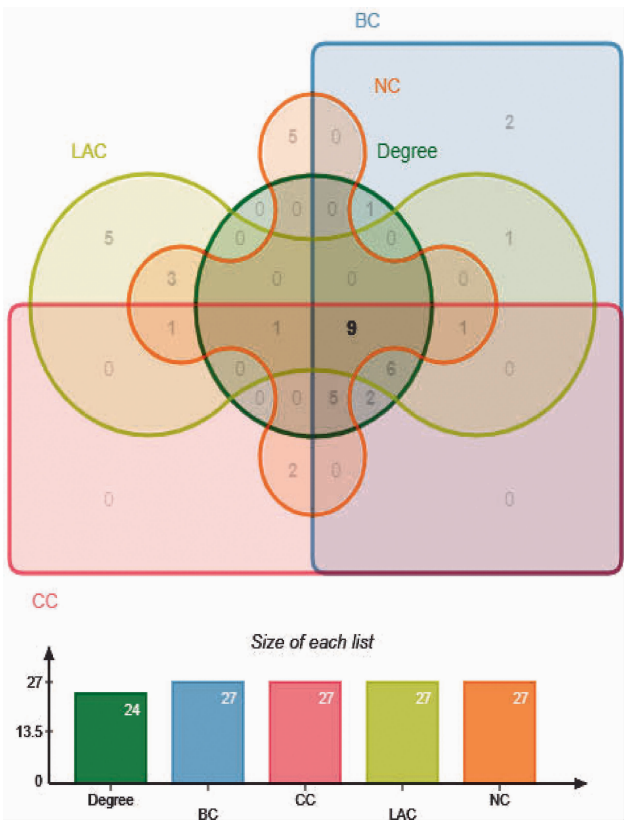


图 4 蛋白互作网络图中的核心蛋白

显示排名前 3 的是 HSPA5、MAP3K14、DHX9,表明这些蛋白在网络中起到关键作用,可能是金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的关键靶点。

2.5 交集基因的 GO 和 KEGG 通路富集分析 将 21 个药物与疾病的共同靶点映射到 Metascape 数据库

中,筛选背景选择为“Human”进行生物学功能富集,富集条件设置为 P Value Cutoff=0.01、Min Enrichmen=1.5,系统的分析其生物过程并选择排名前 5 的进行图例展示。GO 富集中交集基因主要参与了对细菌的反应、对无机物的反应、活性氧化过程、对肿瘤坏

死因子的反应、急性炎症反应等,见图 5。

图 6 和图 7-1 中的颜色的深浅代表富集程度,颜色越深代表富集程度越高。图 7-2 中不同颜色节点

代表不同通路,见表 5。

2.6 分子对接结果与分析 将筛选出的排名前 3 的 quercetin、kaempferol、ursolic acid 及排名前 3 的核心

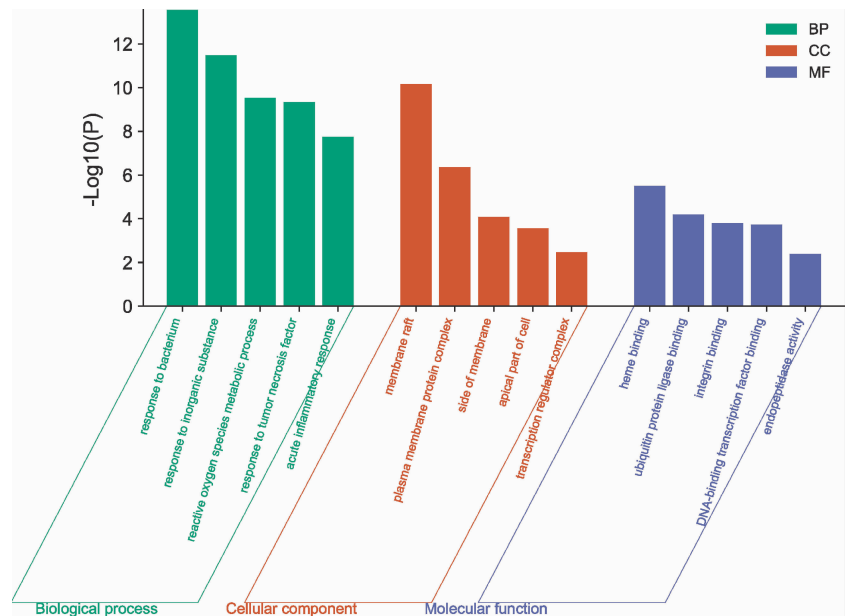


图 5 GO 功能富集分析条形图

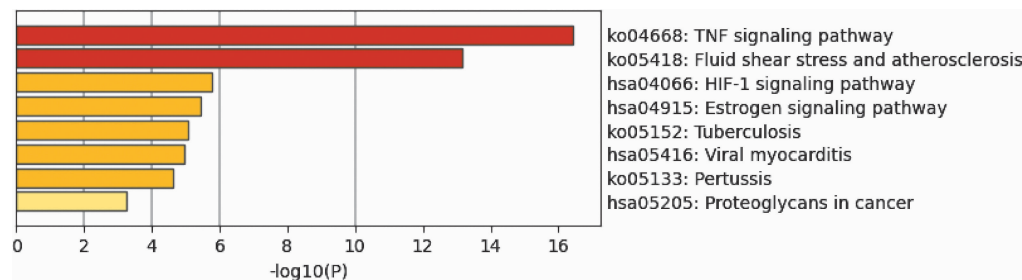


图 6 KEGG 通路富集分析条形图

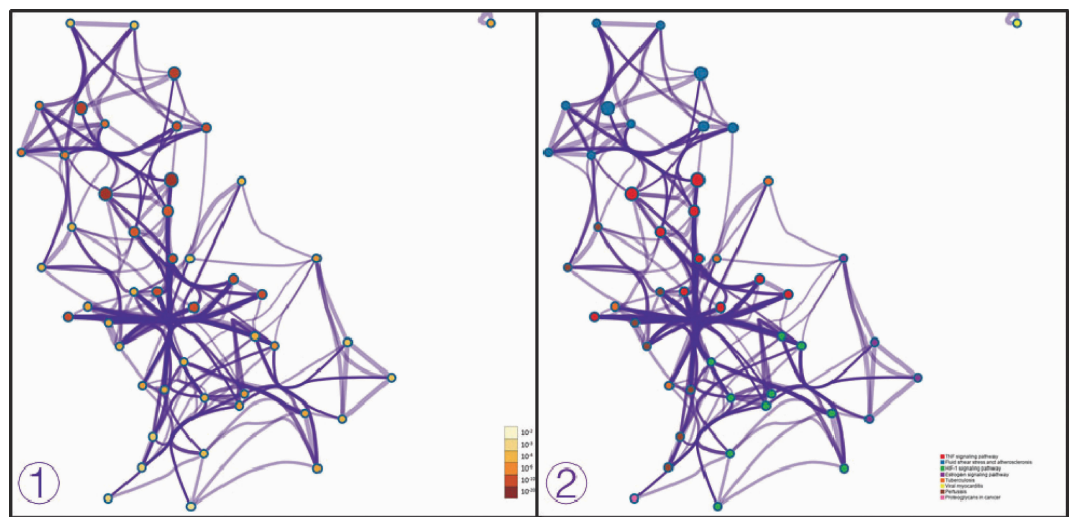


图 7 KEGG 通路富集分析

表 5 信号通路基本信息

序号 ID	信号通路	基因数	关键基因分布
hsa04668	TNF signaling pathway	9	CASP8 FOS ICAM1 IKKB IL6 NFKBIA RELA SELE VCAM1
hsa05418	Fluid shear stress and atherosclerosis	8	CAV1 FOS ICAM1 IKKB NOS3 RELA SELE VCAM1
hsa04066	HIF-1 signaling pathway	4	EGFR IL6 NOS3 RELA
hsa04915	Estrogen signaling pathway	4	CTSD EGFR FOS NOS3
hsa05152	Tuberculosis	4	CASP8 CTSD IL6 RELA
hsa05416	Viral myocarditis	3	CASP8 CAV1 ICAM1
hsa05133	Pertussis	3	FOS IL6 RELA
hsa05205	Proteoglycans in cancer	3	CAV1 EGFR IL6

靶点 HSPA5、MAP3K14、DHX9 分别输入 PUBCHEM、PDB 数据库中,以结合能 ≤ -5.0 kJ/mol 为标准,对关键活性成分和靶点进行分子对接。结果显示 9 组配对中两两之间对接的亲合力均小于 -5.0 kJ/mol,表明药物活性成分与核心靶点之间具有较好的结合性,证明金银花-黄芩药对治疗骨髓炎科学有效,见图 8、表 6。选取均排名第1 的 quercetin 和 HSPA5 进行对接流程展示,见图 9。

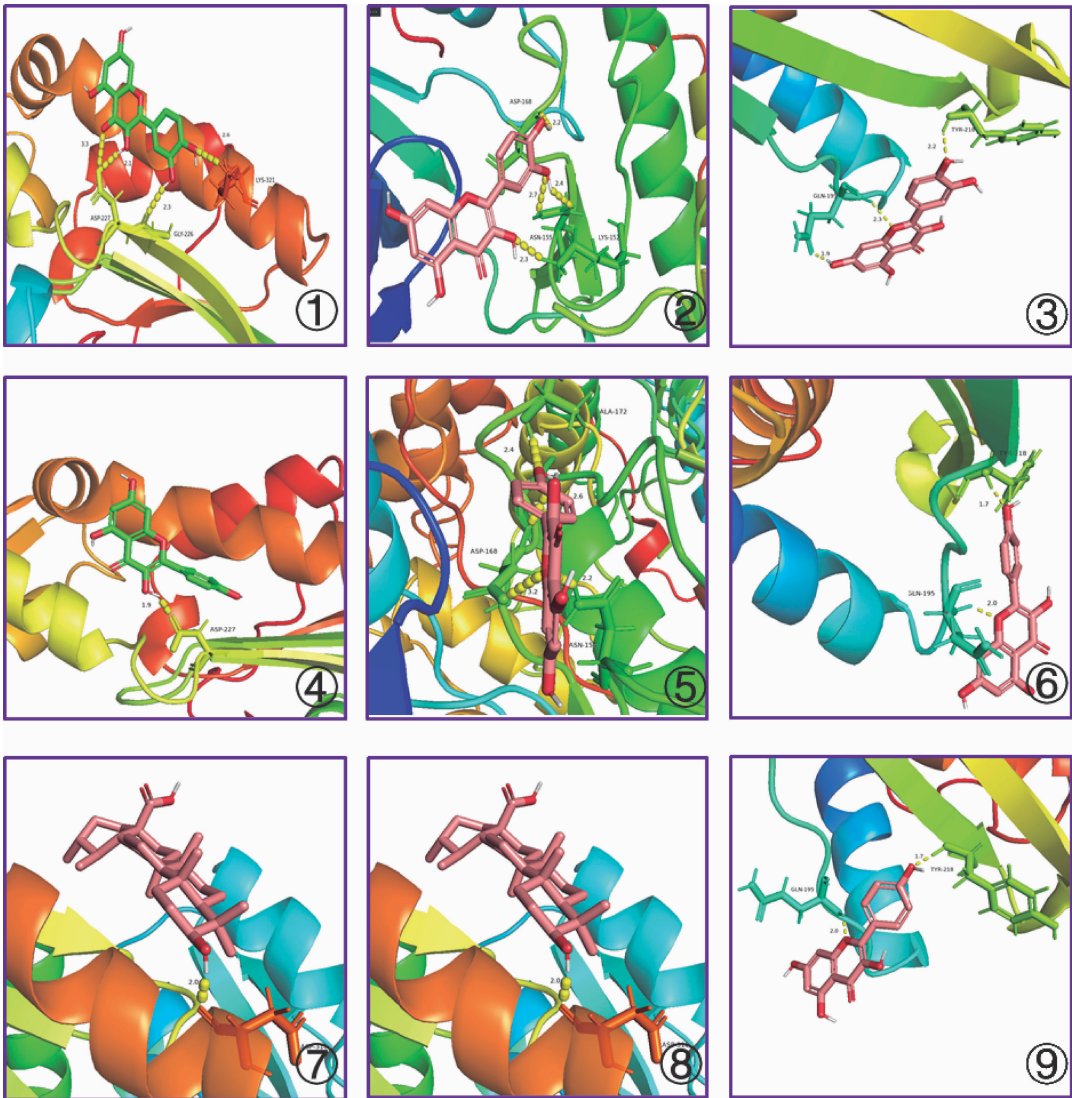


图 8 分子对接结果

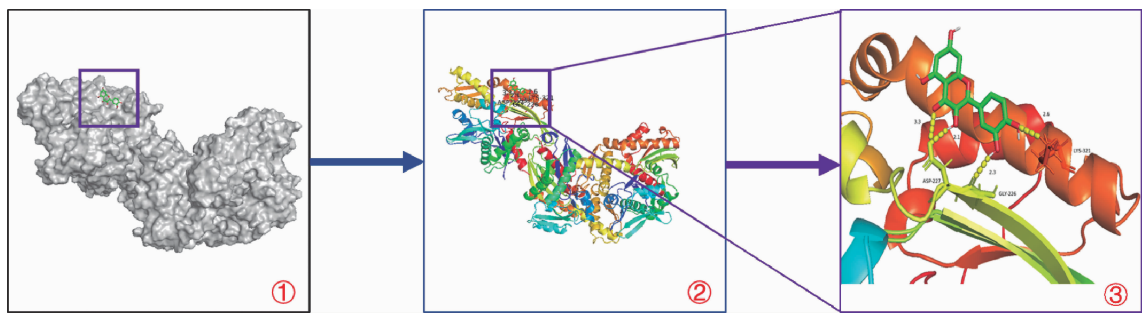


图 9 quercetin 和 HSPA5 的对接结果

表 6 分子对接能

成分	化学式	相对分子质量	靶点	结合能 (KJ/mol)	分子对接图
quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.24	HSPA5	-5.94128	8-①
			MAP3K14	-11.4642	8-②
			DHX9	-13.0541	8-③
kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.23	HSPA5	-5.81576	8-④
			MAP3K14	-9.2048	8-⑤
			DHX9	-11.0039	8-⑥
ursolic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456.70	HSPA5	-13.2633	8-⑦
			MAP3K14	-16.2339	8-⑧
			DHX9	-18.8698	8-⑨

3 讨论

骨髓炎是临床上常见的骨病之一,急性骨髓炎得到合适治疗后一般愈后较好,但治疗不彻底就转变为慢性骨髓炎,其病情迁延难愈将严重影响患者生活质量^[3]。早在《黄帝内经》中就有其病因病机的记载,隋代医家巢元方将该病称为“附骨疽”并沿用至今^[16]。该病基本病机为体质虚弱,邪毒内侵,壅遏成脓^[8]。临床上主要治疗原则为清热解毒,益气养阴。通过对相关文献检索及临床用药总结^[7-9,17],发现金银花是常用的抗菌消炎类中药,为治疗“痈疽”的主要用药之一,也有部分学者称其为“中药抗生素”,现已发现其主要化学成分为有机酸类、环烯醚萜类和黄酮类,多数文献^[18-20]也对其提取物的抗菌消炎作用进行讨论,但研究结论较为单一。黄芪为临床上最常用的补虚类中药之一,现代药理学证实其主要化学成分包括多糖、皂苷类、黄酮类等,具有抗氧化应激、提高免疫力的功效^[21]。临床中疮疡、痈疽之病,初起多实中伴虚,后期

多虚中夹实。金银花善解实毒,黄芪善治虚,因此常相配伍用于治疗疮疡、痈疽。黄贵华等^[17]认为金银花配黄芪,有清热解毒消肿、扶正托脓生肌之效,可用于各个时期的疮疡、痈疽。

本研究通过网络药理学的方法,从有效成分、通路和基因蛋白方面探讨金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的作用机制。首先筛选金银花、黄芪的活性成分和骨髓炎相应的靶蛋白,得到符合标准的有 21 个。进一步使用 Cytoscape3.8.2 建立金银花治疗骨髓炎的网络图,发现 quercetin、kaempferol、ursolic acid、apigenin、luteolin 5 种成分与疾病的靶点相关性较高,这些有效成分主要调控成骨细胞的代谢平衡、血管的生成和凋亡、改善内环境的炎症反应等。其中槲皮素的潜在连接靶点最高,槲皮素具有抗氧化作用,能够通过清除 ROS,避免其激活 NF-κB 和 AP-1 的活性而导致的细胞凋亡,从而减少氧化应激诱发的炎症反应^[22]。也有学者^[23]通过细胞实验发现槲皮素能够影响肿瘤坏死基因的转录和细胞白介素的分泌,改善早期骨髓炎的症状。多数慢性骨髓炎患者病情反复,其重要原因之一为免疫力低下^[24]。山柰酚作为最常见的黄酮类化合物,具有良好的抗菌活性,尤其对耐甲氧青霉素的金黄色葡萄球菌有良好的抑制作用。慕静静等^[25]通过在体实验证实了山柰酚能够调控 T 淋巴细胞体外活化和增殖,改善机体免疫力。王倩等^[26]发现木犀草素能抑制 DNA 拓扑异构酶的活性,影响菌体核酸及蛋白质的合成,有效抑制金黄色葡萄球菌的活性。乔林等^[27]提出金黄色葡萄球菌是慢性骨髓炎的最主要致病菌,因此中药治疗骨髓炎可能是通过杀灭金黄色葡萄球菌实现的。综合来看,金银花-黄芪药对的活性成分功能集中在抗氧化应激、提高免疫力、减少细胞凋亡、抗炎抗菌 4 个方面。

对 PPI 网络分析可知, HSPA5、MAP3K14、DHX9 等蛋白可能为金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的关键靶点。HSPA 又被称为免疫球蛋白重链结合蛋白, 其定位在细胞内质网上, 作为钙离子结合蛋白能辅助蛋白质恢复正常的构象, 在应激状态下转移内质网内的错误折叠蛋白, 维持内环境的稳态^[28]。同时也有研究^[29]发现, HSPA5 能降低细胞对杀伤性 T 细胞的敏感程度来抑制细胞凋亡。樊凤艳等^[30]通过在体实验证实了 HSPA5 的表达能够抑制炎症因子 mRNA 的表达, 为中药调控 HSPA5 治疗骨髓炎提供了理论依据。MAP3K14 属于丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)超级家族, 参与信号的跨膜传导, 与细胞的增殖、分化、凋亡密切相关^[31]。曹洪庆等^[32]通过体外实验发现 MAP3K14 能够调节 miR-17-5P 的表达参与细胞的凋亡。LIU 等^[33]也通过实验证实了 MAP3K14 能介导炎症细胞死亡, 控制炎症。DHX9 又称为核 DNA 解旋酶 II 或 RNA 解旋酶 A, 主要由 DEXH 解旋酶和 DEXD 解旋酶构成, 在核糖核酸的转录翻译等方面起着重要的调控作用。研究^[34]表明 DHX9 能够激活 P53 信号引起凋亡或衰老反应。多数研究结果表明, 细菌、炎症和免疫力低下是骨髓炎发病的关键因素, 佐证了金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的科学性。

GO 富集结果表明金银花-黄芪药对与细菌的反应、对无机物的反应、活性氧化过程、对肿瘤坏死因子的反应、急性炎症反应密切相关。现代研究^[35]证实骨髓炎的发病主要是因为创伤或异物的存在引起细菌大量繁殖而诱发强烈的炎症反应, 而本研究结果也证实了金银花-黄芪药对治疗骨髓炎是通过抗菌、消炎、抗氧化、提高免疫力等途径实现的。KEGG 通路富集结果同样验证了以上结论, KEGG 通路主要涉及 TNF 信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化、HIF-1 信号通路、雌激素信号通路、结核通路等。

分子对接结果显示, 金银花-黄芪药对的有效成分(quercetin、kaempferol、ursolic acid)与(HSPA5、MAP3K14、DHX9)自发结合, 且结合活性较强(均<-5.0 kJ/mol), 提示金银花-黄芪药对能够调控骨髓炎的相关靶点蛋白治疗骨髓炎, 验证了网络药理学筛选的金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的核心靶点的科学性。

综上所述, 金银花-黄芪药对确实能多靶点、多途

径治疗骨髓炎, 主要通过抗氧化应激、提高免疫力、减少细胞凋亡、抗炎抗菌 4 个途径来发挥治疗作用。金银花、黄芪的多种有效活性成分之间密切联系, 在治疗骨髓炎的过程中共同发挥着重要作用。

参考文献:

- [1] HOFSTEE M I, MUTHUKRISHNAN G, ATKINS G J, et al. Current concepts of osteomyelitis: from pathologic mechanisms to advanced research methods [J]. *Am J Pathol*, 2020, 190(6): 1151-1163.
- [2] KAVANAGH N, RYAN E J, WIDAA A, et al. Staphylococcal Osteomyelitis: disease progression, treatment challenges, and future directions [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31(2): e00084-17.
- [3] SHIPITSYNA I V, OSIPOVA E V, ASTASHOVA O A, et al. Monitoring of the leading causative agents of osteomyelitis and their antibiotic resistance [J]. *Klin Lab Diagn*, 2020, 65(9): 562-566.
- [4] 田永福, 刘继权, 胡攸水, 等. 载重组人 BMP-2 磷酸钙联合载抗生素磷酸钙人工骨治疗慢性骨髓炎伴骨缺损的临床研究 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2021, 35(5): 573-578.
- [5] SCHMIDT B M, YE W, ZHOU S W. Multidrug resistant organism predicts ulcer recurrence following surgical management of diabetic foot osteomyelitis [J]. *Int Wound J*, 2020, 17(6): 1634-1641.
- [6] HUANG K, LIN B Y, GUO Q F, et al. Research on the clinical efficacy of the combination of Chinese traditional medicine and western medicine on the chronic traumatic tibial osteomyelitis [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2018, 31(Special 6): 2841-2845.
- [7] 刘艳, 谭艳庆, 顾诗颖, 等. 数据挖掘慢性化脓性骨髓炎的中药处方规律 [J]. *云南中医学院学报*, 2018, 41(3): 38-41.
- [8] 黄楠, 张军, 武永刚, 等. 清创术联合抗骨髓炎片治疗慢性骨髓炎的效果及机制探讨 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2021, 30(19): 2076-2079.
- [9] 孙德舜, 王锋, 张世华. 张景岳辨治附骨疽经验探析 [J]. *中医正骨*, 2014, 26(6): 70-72.
- [10] 王赤兵. 金银花的配伍及临床应用 [J]. *云南中医学院学报*, 2001, 24(4): 16-17.
- [11] 何显忠, 兰荣德. 金银花的药理作用与临床应用 [J]. *时珍国医国药*, 2004, 15(12): 865-867.

- [12] 何晶. 金银花的药理作用及临床应用[J]. 天津药学, 2008, 20(5): 74-76.
- [13] 王剑, 侯林, 崔清华, 等. 金银花总有机酸纯化工艺的优化[J]. 中成药, 2018, 40(5): 1198-1200.
- [14] 邓小颖, 杨旭萍, 刘佩芳, 等. 黄芪对小鼠心脑血管系统代谢稳态的影响[J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(4): 494-501.
- [15] 刘子豪, 来晓磊, 刘红旭. 基于网络药理学探讨黄芪—藿香—金银花配伍预防新型冠状病毒肺炎的机制研究[J]. 环球中医药, 2021, 14(2): 215-224.
- [16] 邱利忠. 基于中医古籍探讨化脓性骨髓炎的病因[J]. 环球中医药, 2018, 11(3): 427-429.
- [17] 黄贵华, 纪云西, 蒋历, 等. 金银花配伍规律及其临床应用特色[J]. 医药前沿, 2012, 2(1): 324-325.
- [18] 申丹, 唐仕欢, 卢朋, 等. 《中华人民共和国卫生部药品标准——中药成方制剂》金银花用药规律分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(3): 10-13.
- [19] 杨红燕, 李兆奎, 李玲燕. 金银花炒制的质量标准研究[J]. 浙江中医杂志, 2021, 56(1): 72-73.
- [20] 郭慧玲, 罗江南, 熊耀坤, 等. 顶空-气质联用比较不同产地金银花与山银花挥发性成分差异[J]. 中南药学, 2021, 19(6): 1182-1189.
- [21] 孙秀蕊, 魏桂杰, 王宏雅, 等. 基于外观性状和内在成分的黄芪药材质量等级评价[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(4): 966-971.
- [22] MILTON PRABU S, MUTHUMANI M, SHAGIRTHA K. Quercetin potentially attenuates cadmium induced oxidative stress mediated cardiotoxicity and dyslipidemia in rats[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013, 17(5): 582-595.
- [23] CHUANG C C, MARTINEZ K, XIE G X, et al. Quercetin is equally or more effective than resveratrol in attenuating tumor necrosis factor- α -mediated inflammation and insulin resistance in primary human adipocytes[J]. Am J Clin Nutr, 2010, 92(6): 1511-1521.
- [24] 李文波, 张超, 石杰, 等. 慢性骨髓炎感染复发诱因的研究进展[J]. 实用骨科杂志, 2017, 23(12): 1099-1102.
- [25] 慕静静, 曾耀英, 黄秀艳, 等. 山奈酚对小鼠 T 淋巴细胞体外活化、增殖和细胞周期的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, 25(12): 1106-1108.
- [26] 王倩, 谢明杰. 木犀草素对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及其机制[J]. 微生物学报, 2010, 50(9): 1180-1184.
- [27] 乔林, 夏志林, 刘健, 等. 多中心创伤后慢性骨髓炎的细菌谱特点及药敏分析[J]. 中华创伤骨科杂志, 2016, 18(9): 769-774.
- [28] STENGEL S T, FAZIO A, LIPINSKI S, et al. Activating transcription factor 6 mediates inflammatory signals in intestinal epithelial cells upon endoplasmic reticulum stress[J]. Gastroenterology, 2020, 159(4): 1357-1374.
- [29] CHENG C C, YANG B L, CHEN W C, et al. STAT3 mediated miR-30a-5p inhibition enhances proliferation and inhibits apoptosis in colorectal cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7315.
- [30] 樊凤艳, 黄灵芝, 王广义, 等. 肌肽对大鼠缺血-再灌注损伤后热休克蛋白 70 及炎症因子表达水平的影响[J]. 医学分子生物学杂志, 2007, 4(1): 11-14.
- [31] HAMDAN T A, BHAT H, CHAM L B, et al. Map3k14 as a regulator of innate and adaptive immune response during acute viral infection[J]. Pathogens, 2020, 9(2): 96.
- [32] 曹洪庆, 刘广民. MAP3K14 下调 miR-17-5p 对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 河北医药, 2021, 43(5): 666-670.
- [33] LIU Z X, MAR K B, HANNERS N W, et al. A NIK-SIX signalling axis controls inflammation by targeted silencing of non-canonical NF- κ B[J]. Nature, 2019, 568(7751): 249-253.
- [34] LEE T, PELLETIER J. Dependence of p53-deficient cells on the DHX9 DExH-box helicase[J]. Oncotarget, 2017, 8(19): 30908-30921.
- [35] BUTRICO C E, CASSAT J E. Quorum sensing and toxin production in staphylococcus aureus osteomyelitis: pathogenesis and paradox[J]. Toxins(Basel), 2020, 12(8): 516.