

# 基于生物活性和分子对接的滇鸡血藤水煎液质量控制研究

朱泓宇<sup>1</sup>, 乔子璇<sup>1</sup>, 徐裕彬<sup>2</sup>, 任广喜<sup>1</sup>, 李萌<sup>1</sup>, 姜丹<sup>1\*</sup>, 刘春生<sup>1\*</sup> (1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2. 河北橘井药业有限公司, 安国 071200)

**摘要** 目的: 初步探究滇鸡血藤水煎液活血功效的生物评价方法并挖掘参与凝血酶抑制的核心成分。方法: 采用体外凝血酶活性抑制试验, 评价滇鸡血藤水煎液体外凝血酶抑制活性。然后利用超高效液相色谱-质谱(UPLC-MS)挖掘滇鸡血藤水煎液中的化学成分, 并通过分子对接技术对这些化学成分的生物活性进行评估, 筛选核心抗凝成分。结果: 凝血酶抑制试验表明滇鸡血藤的标准煎剂(0.2 g·mL<sup>-1</sup>)具有高达78.40%的凝血酶抑制率, 并从滇鸡血藤水煎液中推测鉴定了14个化合物, 将其与凝血酶进行分子对接评价: 戈米辛C(-7.9 kcal·mol<sup>-1</sup>)、戈米辛G(-7.6 kcal·mol<sup>-1</sup>)、内南五味子素C(-8.1 kcal·mol<sup>-1</sup>)、内南五味子素D(-9.4 kcal·mol<sup>-1</sup>)、阿里山五味子灵C(-9.4 kcal·mol<sup>-1</sup>)、五味子素C(-7.9 kcal·mol<sup>-1</sup>)、五味子素A(-7.3 kcal·mol<sup>-1</sup>)、异型南五味子素E(-8.2 kcal·mol<sup>-1</sup>)、五味子酯D(-8.6 kcal·mol<sup>-1</sup>)、红花五味子素(-7.4 kcal·mol<sup>-1</sup>)、内南五味子酯B(-7.6 kcal·mol<sup>-1</sup>)、内南五味子酯A(-8.1 kcal·mol<sup>-1</sup>)、乙酰基氧代南五味子烷(-8.5 kcal·mol<sup>-1</sup>)、内南五味子酯D(-9.2 kcal·mol<sup>-1</sup>)。其中内南五味子素D和阿里山五味子灵C与凝血酶蛋白具有紧密结合的空间构型以及理想的结合能。结论: 滇鸡血藤水煎液具有较好的凝血酶抑制活性, 筛选出的2个具有凝血酶抑制活性的核心成分, 可作为其质量标志物候选成分, 为滇鸡血藤水煎液生物活性评价方法的建立和质控研究提供了参考依据。

**关键词:** 滇鸡血藤; 抗凝血酶活性; 分子对接; 质量评价

中图分类号: R917; R932 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2023)11-1319-007  
doi:10.16153/j.1002-7777.2023.11.012

## Study on Quality Control of Kadsurae Caulis Decoction Based on Biological Activity and Molecular Docking

Zhu Hongyu<sup>1</sup>, Qiao Zixuan<sup>1</sup>, Xu Yubin<sup>2</sup>, Ren Guangxi<sup>1</sup>, Li Meng<sup>1</sup>, Jiang Dan<sup>1\*</sup>, Liu Chunsheng<sup>1\*</sup> (1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China; 2. Hebei Jujing Pharmaceutical Industry Co. Ltd., Anguo 071200, China)

**Abstract Objective:** To preliminary explore the biological evaluation method for the blood activating effect of kadsurae caulis decoction, and to explore the core components involved in thrombin inhibition. **Methods:** In vitro thrombin inhibition test was used to evaluate the thrombin inhibition activity of kadsurae caulis decoction.

基金项目: 中央高校横向课题项目(编号 2020110031001469)

作者简介: 朱泓宇 Tel: (010) 53912100; E-mail: 1127511986@qq.com

通信作者: 刘春生 Tel: (010) 53912100; E-mail: max\_liucs@263.net

姜丹 Tel: (010) 53912100; E-mail: jiangdan1027@163.com

The chemical constituents in kadsurae caulis decoction were illuminated by UPLC-MS. The pharmacological activities of these compounds were evaluated by molecular docking, and potential thrombin activity inhibitors were screened from them. **Results:** The thrombin inhibition test showed that the thrombin inhibition rate of kadsurae caulis decoction is up to 78.40%, and 14 compounds were speculated and identified from the decoction by UPLC-MS, and their molecular docking with thrombin was evaluated: Gomisins C(-7.9 kcal·mol<sup>-1</sup>), Gomisins G(-7.6 kcal·mol<sup>-1</sup>), Interiorin C(-8.1 kcal·mol<sup>-1</sup>), Interiorin D(-9.4 kcal·mol<sup>-1</sup>), Schiarisanrin C(-9.4 kcal·mol<sup>-1</sup>), Schisandrin C(-7.9 kcal·mol<sup>-1</sup>), Schizandrin A(-7.3 kcal·mol<sup>-1</sup>), Heteroclitin E(-8.2 kcal·mol<sup>-1</sup>), Schisantherin D(-8.6 kcal·mol<sup>-1</sup>), Rubschisandrin(-7.4 kcal·mol<sup>-1</sup>), Interiotherin B(-7.6 kcal·mol<sup>-1</sup>), Interiotherin A(-8.1 kcal·mol<sup>-1</sup>), Acetoxyl Oxokadsurane(-8.5 kcal·mol<sup>-1</sup>), Interiotherin D(-9.2 kcal·mol<sup>-1</sup>). The docking results of these compounds indicated that Interiorin D and Schiarisanrin C had a highly compact spatial configuration and binding energy with thrombin protein. **Conclusion:** The thrombin inhibitory activity of kadsurae caulis decoction is excellent, and 2 core components with thrombin inhibitory activity have been screened out, that can be used as candidate components for the quality markers. This provides a reference basis for the establishment of a biological activity evaluation method and quality control research of kadsurae caulis decoction.

**Keywords:** kadsurae caulis; antithrombin activity; molecular docking; quality evaluation

据报道, 心血管疾病已处于人群总死亡原因的首位<sup>[1]</sup>, 而血栓性疾病在其中是最为常见的。现阶段, 西医采用的抗血栓药物主要有抗凝血类、抗血小板类和溶栓类药物三种。由于其发病机理复杂, 发病因素多样, 单一化学药物较难起到全面治疗效果, 且经常会出现出血等不良反应<sup>[2]</sup>。中医药治疗血栓类疾病有着悠久的历史, 相比西医, 治疗产生的不良反应少, 也更加安全可靠<sup>[3]</sup>, 传统中药治疗血栓类疾病逐渐被人们关注, 如丹参<sup>[4]</sup>、血竭<sup>[5]</sup>。滇鸡血藤自古以来在血瘀证相关的中医临床治疗上被广泛应用, 并取得了较好疗效<sup>[6]</sup>。

滇鸡血藤为木兰科植物内南五味子 *Kadsura interior* A. C. Smith 的干燥藤茎, 具有活血补血、调经止痛、舒筋活络的功效<sup>[7]</sup>。滇鸡血藤尤以活血见长<sup>[8]</sup>, 并常以水煎液的形式广泛应用于临床。目前对滇鸡血藤的研究主要集中在化学成分和药理作用上, 其活血功效的作用层面、机制和质量评价尚未进行相关研究。

因此, 本研究以滇鸡血藤水煎液为研究对象, 从抗凝血酶活性这一角度切入, 试图证实其活血功效, 对滇鸡血藤水煎液的生物活性评价方法进行探究, 使用超高效液相色谱-质谱 (UPLC-MS) 技术推测鉴定其水煎液中的化合物, 利用分子对接技术对这些化合物的抗凝血酶活性进行评价, 分析作用机制, 为滇鸡血藤水煎液生物活性评价方法的建立和质控研究提供参考依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

3K15型冷冻离心机 (曦玛离心机), 酶标仪 (美国博腾仪器有限公司), 旋蒸仪 (北京天恒泰科技有限公司), 3000系列高效液相系统 (美国赛默飞世尔科技有限公司)。

### 1.2 药材与试剂

12批滇鸡血藤药材购自河北橘井药业有限公司, 样品批号分别为Y436200901、Y436200902、Y436200904、Y436200905、Y436200907、Y436200908、Y436200909、Y436200910、Y436200911、Y506180901、Y506180902、Y506180903; 由北京中医药大学中药学院中药鉴定系刘春生教授鉴定为木兰科植物内南五味子 *Kadsura interior* A. C. Smith 的干燥藤茎。乙酸乙酯为分析纯, 甲醇为色谱纯。凝血酶时间测定试剂盒 (批号50441, 德国西门子医学诊断产品有限公司)。兔血浆 (货号MP20019-100 mL, 上海源叶生物科技有限公司)。磷酸盐缓冲液 (PBS) (pH=7.4, 货号c3580-0500, 上海道鹏科技生物有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 水煎剂制备

将滇鸡血藤饮片在水 (1:8, w/v) 中浸泡 30 min, 然后煎煮 30 min。收集滤液, 将药渣在水 (1:6, w/v) 中再煎煮 20 min。然后将2次滤液合

并浓缩至 $0.2\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 备用<sup>[9]</sup>。

## 2.2 体外凝血酶抑制试验

该方法在Qiao的方法(Qiao, 2018)<sup>[10]</sup>基础上稍作改良。

利用冷冻离心机在室温下以 $8000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度将“2.1”项最终制备获得的12批次水煎液离心10 min, 将上清液作为样品溶液, 然后在室温下将酶标仪微孔板读数器设置在405 nm波长。将磷酸盐缓冲液(PBS)  $50\text{ }\mu\text{L}$ 、凝血酶时间测定试剂 $50\text{ }\mu\text{L}$ 和样品溶液 $30\text{ }\mu\text{L}$ 添加到平板孔中, 混合并在室温下孵育10 min; 最后添加兔血浆 $100\text{ }\mu\text{L}$ 混合。对照空白用 $30\text{ }\mu\text{L}$ 去离子水代替样品溶液。混合后立即测量样品和空白样品的吸光度。在5 min后, 再次测量405 nm处的吸光度。根据以下等式计算抑制率, 其中 $\Delta S$ 、 $\Delta B$ 分别代表样品和对照空白的吸光度先后两次测量结果的差值, 对照空白组反映无干扰下的两次吸光度测量差值, 故定义对照空白的抑制率为0%。

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{\Delta S}{\Delta B}\right) \times 100\%$$

## 2.3 UPLC-MS

取“2.1”项制备的滇鸡血藤水煎液200 mL, 用等量乙酸乙酯(1:1, v/v)萃取2次, 合并2次萃取液并在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下用旋蒸仪旋蒸至干燥, 然后用2 mL甲醇溶解作为待测样品。利用UPLC-MS法对样品进行定性分析, 试验采用3000系列高效液相系统和安捷伦Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$ 色谱柱

( $4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$ ,  $5\text{ }\mu\text{m}$ , 安捷伦科技有限公司), 柱温控制在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 进样体积为 $1.0\text{ }\mu\text{L}$ , 流速为 $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 流动相为甲醇(A)和水(B), 梯度洗脱, 5 min内从80%A到20%B的线性梯度, 随后30 min线性梯度20%B至100%B, 然后100%B, 持续5 min。

获得正离子电喷雾离子(ESI); 扫描范围为 $m/z\ 50\sim 1200$ , 靶分子定量为 $m/z\ 350$ , 干燥器温度为 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 干燥器流量为 $9.0\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ , 喷雾器压力为 $0.24\text{ MPa}$ (35.0 psi), 毛细管电压为4 kV。

## 2.4 分子对接

将质谱分析确定的化合物与凝血酶蛋白进行分子对接。

首先对“2.3”项中滇鸡血藤水煎液样品的质谱结果进行分析, 将UPLC-MS分离得到的化合物与已经报道滇鸡血藤中含有的化合物结果进行比较, 然后将鉴定成功的化合物和凝血酶的3D结构(2GDE)分别以SDF格式和PDB格式从PubChem和PDB数据库下载。PyMOL软件用于除水、氢化和其他操作, Autodock Vina进行分子对接。最后, 根据结合能值和对接构象确定最佳结合模式。

## 3 结果

### 3.1 滇鸡血藤水煎液体外凝血酶抑制活性测定

以试验空白作为对照, 根据“2.2”项凝血酶抑制率公式定义, 对照组抑制率为0%, 12批次滇鸡血藤水煎液样品体外凝血酶抑制率计算结果见图1, 其平均值高达78.40%。

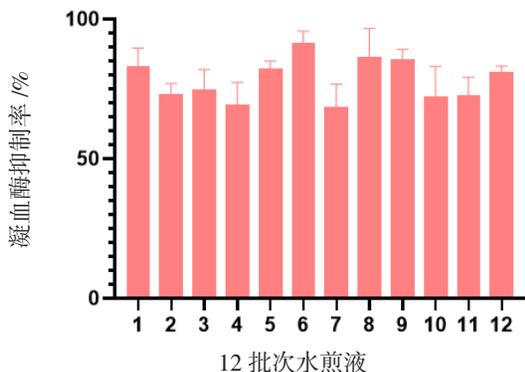


图1 12 批次滇鸡血藤水煎液体外凝血酶抑制率

### 3.2 滇鸡血藤水煎液UPLC-MS分析

总离子流图(图2)表明滇鸡血藤水煎液中含有丰富的化学成分, 它们是潜在的抑制凝血酶活性的单体化合物。为了进一步鉴定这些化合物, 将MS

结果与滇鸡血藤化合物研究进展报告<sup>[11]</sup>中的结果进行比较, 并通过质谱工作站Xcalibur数据库以分子量精确到小数点后五位为标准进行检索, 共得到14个化合物, 见表1。

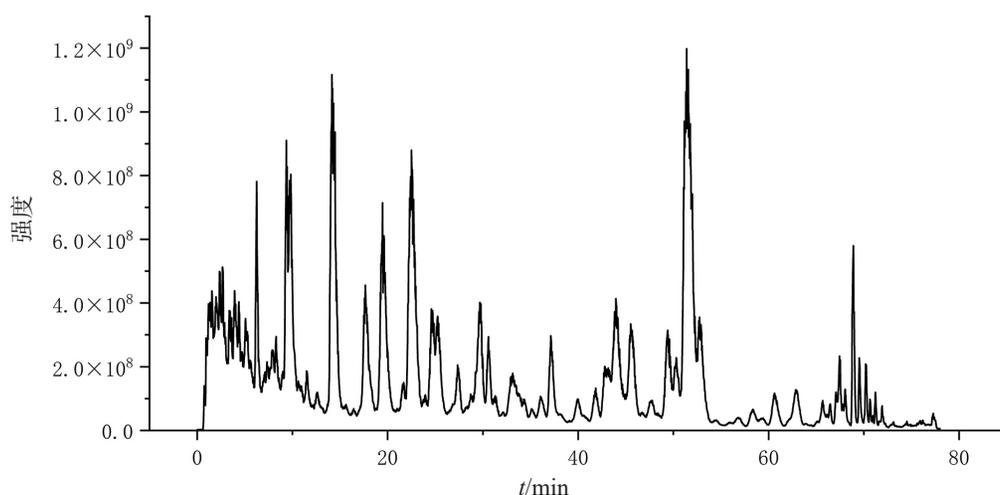


图2 滇鸡血藤水煎液乙酸乙酯部位总离子流图

表1 质谱推测分析得到的滇鸡血藤水煎液中的主要化合物

| 编号 | 化合物                               | 分子式  | [M+H] <sup>+</sup> |
|----|-----------------------------------|--|--------------------|
| 1  | 戈米辛 C (Gomisin C)                 | C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>9</sub> | 537.21             |
| 2  | 戈米辛 G (Gomisin G)                 | C <sub>30</sub> H <sub>32</sub> O <sub>9</sub> | 537.21             |
| 3  | 内南五味子素 C (Interiorin C)           | C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub> | 443.17             |
| 4  | 内南五味子素 D (Interiorin D)           | C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub> | 505.19             |
| 5  | 阿里山五味子灵 C (Schiarisanrin C)       | C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub> | 505.19             |
| 6  | 五味子素 C (Schisandrin C)            | C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub> | 385.16             |
| 7  | 五味子素 A (Schizandrin A)            | C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub> | 417.23             |
| 8  | 异型南五味子素 E (Heteroclitin E)        | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>9</sub> | 499.20             |
| 9  | 五味子酯 D (Schisantherin D)          | C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>9</sub> | 521.18             |
| 10 | 红花五味子素 (Rubschisandrin)           | C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub> | 401.20             |
| 11 | 内南五味子酯 B (Interiotherin B)        | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>9</sub> | 499.20             |
| 12 | 内南五味子酯 A (Interiotherin A)        | C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub> | 505.19             |
| 13 | 乙酰基氧代南五味子烷 (Acetoxy Oxokadsurane) | C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub> | 443.17             |
| 14 | 内南五味子酯 D (Interiotherin D)        | C <sub>26</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub> | 467.17             |

### 3.3 分子对接

首先验证所建立的对接方案的可行性,从共结晶凝血酶复合物(2GDE和原始配体SN3)中提取原始配体分子,并使用Autodock Vina将其重新对接到2GDE中。重新对接的共结晶凝血酶复合物

(2GDE和SN3)的构象和原构象如图3所示。重新对接构象和原构象之间的低均方根偏差(RMSD)值为0.647Å。通常,如果RMSD≤2.0Å,则该分子对接模型是合理可行的<sup>[12]</sup>。

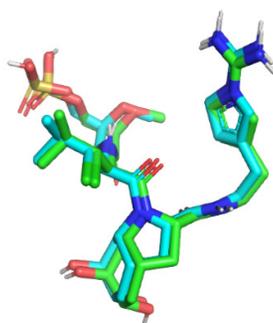


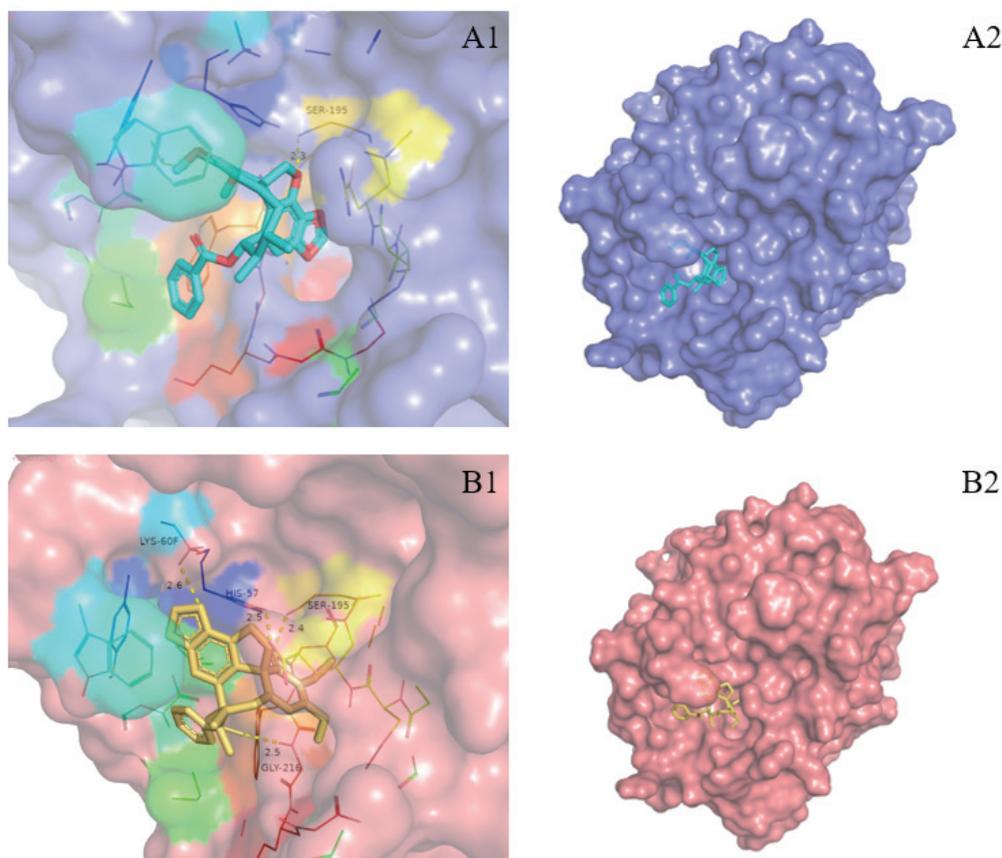
图 3 凝血酶原始配体 (SN3) 初始和重新对接后构象对比图

将质谱推测分析得到存在于滇鸡血藤水煎液中的化合物与凝血酶蛋白进行分子对接, 结果显示这些化合物与凝血酶蛋白呈现出不同程度的结合 (表2), 且结合能均低于 $-5 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 表明这些活性成分与凝血酶蛋白的结合有显著意义<sup>[13]</sup>。对接结果显示, 内南五味子素D (Interiorin D) 和

里山五味子灵C (Schiarisanrin C) 不仅在空间上与凝血酶蛋白活性口袋高度结合, 且结合能计算结果表明二者与活性位点的结合紧密程度最高。综上, 内南五味子素D和阿里山五味子灵C可能是滇鸡血藤发挥活血功效的核心成分, 其结合模式如图4所示。

表 2 滇鸡血藤水煎液存在的化合物与凝血酶的结合能

| 化合物                               | 编号 (Pubchem) | 结合能 / ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) |
|-----------------------------------|--------------|---|
| 戈米辛 C (Gomisin C)                 | 151529       | -7.9  |
| 戈米辛 G (Gomisin G)                 | 14992067     | -7.6  |
| 内南五味子素 C (Interiorin C)           | 101938315    | -8.1  |
| 内南五味子素 D (Interiorin D)           | 101938316    | -9.4  |
| 阿里山五味子灵 C (Schiarisanrin C)       | 10649180     | -9.4  |
| 五味子素 C (Schisandrin C)            | 119112       | -7.9  |
| 五味子素 A (Schizandrin A)            | 155256       | -7.3  |
| 异型南五味子素 E (Heteroclitin E)        | 15929161     | -8.2  |
| 五味子酯 D (Schisantherin D)          | 163067       | -8.6  |
| 红花五味子素 (Rubschisandrin)           | 174277       | -7.4  |
| 内南五味子酯 B (Interiotherin B)        | 20839677     | -7.6  |
| 内南五味子酯 A (Interiotherin A)        | 21125391     | -8.1  |
| 乙酰基氧代南五味子烷 (Acetoxy Oxokadsurane) | 49770118     | -8.5  |
| 内南五味子酯 D (Interiotherin D)        | 5478964      | -9.2  |



A1. 内南五味子素 D 与凝血酶分子对接模型 3D 视图; A2. 内南五味子素 D 与凝血酶分子对接模型结合区域表面结构; B1. 阿里山五味子灵 C 与凝血酶分子对接模型 3D 视图; B2. 阿里山五味子灵 C 与凝血酶分子对接模型结合区域表面结构。

图 4 内南五味子素 D、阿里山五味子灵 C 与凝血酶分子对接模式

#### 4 讨论

中药质量是中药发挥临床疗效的保障,对于中药质量的控制与评价研究一直是推动中药现代化进程中的重点和难点<sup>[14]</sup>。但是,目前仅基于化学基准的中药质量控制模式存在质量控制成分难以全面反映整体质量、与临床有效性及安全性关联不够紧密、不能充分体现中医药特色等问题,仍存在较大的局限性<sup>[15]</sup>。生物活性测定法能更为直接地表征中药的生物活性,同时结合中药药效相关的多指标含量测定,可以整体评价和控制中药的质量。李琳等<sup>[16]</sup>基于多指标成分含量关联生物活性对脑脉通的提取工艺进行了优化。唐进法等<sup>[17]</sup>利用多指标成分定量和凝血活性评价并结合分子对接,对丹红注射液活血化瘀的质量标志物进行预测分析。

本研究以体外凝血酶抑制试验对滇鸡血藤进

行活血功效评价,同时筛选得到了2个凝血酶抑制核心化合物,鉴于2020年版《中华人民共和国药典》对于滇鸡血藤的含量测定成分仅限于异型南五味子丁素<sup>[7]</sup>,上述2种筛选得到的化合物可作为滇鸡血藤质量标志物候选成分。

凝血酶作为凝血过程中的关键靶点之一,其活性对凝血过程有着很大的影响<sup>[18]</sup>。通过抑制凝血酶活性可改变凝血过程,从而实现活血化瘀,凝血酶时间(TT)用于凝血酶测定,是直接反映凝血酶作用下血浆纤维蛋白原转变为纤维蛋白能力的指标,故利用TT法可以评价滇鸡血藤水煎液的凝血酶抑制活性。

凝血酶蛋白分子中的Lys36-Arg73-Arg77-Lys149E是识别纤维蛋白原的结合基序<sup>[19]</sup>,除了结合自由能,化合物与识别基序中的氨基酸相互

作用情况也是评估化合物凝血酶抑制活性的重要标准之一。因此,在以原配体作为对象,对分子对接模型进行可行性评估后,对14个化合物分别进行结合自由能和空间结构分析,其中内南五味子素D ( $-9.4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )、阿里山五味子灵C ( $-9.4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )和部分化合物对凝血酶在活性口袋的结合亲和力高于标准配体SN3 ( $-8.8 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )。且这些化合物在结合口袋处与周围氨基酸相互作用影响。根据小分子与凝血酶的空间结合和Gibb自由能两个方面综合评估,内南五味子素D和阿里山五味子灵C可能是水煎液凝血酶抑制活性的核心成分。

本研究以滇鸡血藤水煎液为研究对象,通过体外抗凝血酶活性试验评价其活血功效,并结合LC-MS,利用分子对接技术及其相关指标筛选得到了存在于滇鸡血藤水煎液中具有潜在的高效凝血酶抑制单体内南五味子素D和阿里山五味子灵C,可作为其质量标志物候选成分,为滇鸡血藤水煎液生物活性评价方法的建立和质控研究提供参考依据。

#### 参考文献:

- [1] 中国心血管健康与疾病报告2020概要[J]. 中国循环杂志, 2021, 36(6): 521-545.
- [2] 郭维, 石茂静, 郭杨, 等. 口服抗血栓药物患者急性创伤大出血诊断与治疗专家共识[J]. 中国急救医学, 2021, 41(4): 285-293.
- [3] 冷媛媛, 陈林, 王念, 等. 血瘀证及活血化瘀治法的古代文献溯源[J]. 江苏中医药, 2023, 55(5): 59-63.
- [4] 刘倩, 陈晨, 张媛, 等. 丹参注射液生物活性限度测定方法适用性研究[J]. 中国药事, 2013, 27(9): 938-941.
- [5] 贾敏, 陈杰. 血竭总黄酮抗血栓作用及机制研究[J]. 中国药事, 2013, 27(8): 876-878.
- [6] 尹旻臻, 彭华胜, 程铭恩. 凤庆鸡血藤、昆明鸡血藤、鸡血藤考[C]//中国药学会药学史专业委员会. 第十九届全国药学史本草学术研讨会暨2017年江苏省药学会药学史专业委员会年会论文集.[出版者不详], 2017: 7.
- [7] 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2020: 378.
- [8] 李松, 郭淑珍, 赵佳丽. 活血良药滇鸡血藤[J]. 首都食品与医药, 2016, 23(9): 63.
- [9] 陈士林, 刘安, 李琦, 等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1367-1375.
- [10] Qiao M L, Tu M L, Wang Z Y, et al. Identification and Antithrombotic Activity of Peptides from Blue Mussel (*Mytilus edulis*) Protein[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 138-138.
- [11] 张进, 高石曼, 贾晓光, 等. 内南五味子化学成分和药理活性的研究进展[J]. 中国现代中药, 2017, 19(7): 1045-1050.
- [12] Rao S N, Head M S, Kulkarni A. Validation Studies of the Site-directed Docking Program LibDock[J]. *J Chem Inf Model*, 2007, 47(6): 2159-2171.
- [13] 张鹏葛, 王一瑞, 宋玉霞, 等. 分析中药治疗布鲁氏菌病的作用机制[J]. 中国药事, 2022, 36(3): 330-340.
- [14] 孙婷婷, 马晓慧, 李欣欣, 等. 中药生物效价研究现状及开发思路探讨[J]. 中草药, 2017, 48(9): 1906-1911.
- [15] 张萌, 封亮, 贾晓斌. 基于生物活性与效应基准的中药质量评价技术发展现状与展望[J]. 世界中医药, 2020, 15(15): 2234-2239.
- [16] 李琳, 谢媛媛, 余焕铮, 等. 基于多指标成分含量关联生物活性综合评分法优化脑脉通提取工艺[J]. 中药与临床, 2022, 13(2): 16-20, 32.
- [17] 唐进法, 冯科冉, 王晓艳, 等. 基于多指标成分定量和凝血活性评价的丹红注射液质量标志物预测分析[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(11): 1209-1215, 1238.
- [18] 张智明. 凝血酶的研究进展[J]. 海峡药学, 2006, 18(6): 1-3.
- [19] Wolfram B. Structure and Interaction Modes of Thrombin[J]. *Blood Cell Mol Dis*, 2006, 36(2): 122-130.

(收稿日期 2023年5月6日 编辑 王雅雯)