

基于网络药理学探讨丹参酮IIA治疗重症肺炎的分子机制

庄贤锐¹, 王智威², 刘旺³, 陈日垦², 郑珍珍^{3*} (1. 广东医科大学附属第二医院急诊科, 广东湛江 524000; 2. 广州医科大学附属第一医院呼吸科, 广东广州 510120; 3. 广东医科大学附属第二医院呼吸科, 广东湛江 524000)

摘要: **目的** 通过网络药理学探讨丹参酮IIA治疗重症肺炎的可能机制。**方法** 通过PubChem数据库查找丹参酮IIA化学结构, 在Swiss Target Prediction数据库获取丹参酮IIA靶点信息。基于GeneCards、OMIM、PharmGkb和Drugbank数据库获取重症肺炎相关疾病靶点, 经构建蛋白质相互作用(PPI)网络筛选, 选择R语言对共同靶点进行KEGG与GO富集分析。**结果** 共获得47种丹参酮IIA与重症肺炎相关靶点, PPI网络中前6位核心基因为AKT1、雄激素受体(AR)、前列腺素内过氧化物合成酶2(PTGS2)、环氧合酶-2(COX-2)、表皮生长因子受体(EGFR)和黄体酮受体(PGR); GO功能富集后富集条目较多的有肿瘤坏死因子(TNF)产生及其调节、细菌来源分子反应、TNF超家族细胞因子产生等; KEGG富集通路分析显示丹参酮IIA治疗重症肺炎主要通路有神经活性配体-受体相互作用、癌症中PD-L1表达和PD-1检查点通路、前列腺癌、EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药等。分子对接提示核心靶点在丹参酮IIA治疗重症肺炎上均有潜在作用。**结论** 丹参酮IIA可能是通过多靶点、多通路抑制氧化应激、炎症反应来改善重症肺炎, 作用于AKT1、AR、PTGS2、EGFR和PGR等相关靶点。

关键词: 网络; 药理学; 丹参酮IIA; 重症肺炎

中图分类号: R 563.1

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2023)04-0388-07

Molecular mechanism of tanshinone IIA on severe pneumonia based on network pharmacology

ZHUANG Xian-rui¹, WANG Zhi-wei², LIU Wang³, CHEN Ri-ken², ZHENG Zhen-zhen^{3*} (1. Department of Emergency, Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, China; 2. Department of Respiratory Medicine, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China; 3. Department of Respiratory Medicine, Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, China)

Abstract: **Objective** To study the possible mechanism of tanshinone IIA on severe pneumonia using network pharmacology. **Methods** The chemical structure and target information of tanshinone IIA were retrieved from PubChem and Swiss Target Prediction databases. The targets of severe pneumonia-associated diseases were obtained using GeneCards, OMIM, PharmGkb and Drugbank databases. The common targets were analyzed by KEGG and GO enrichment analysis after PPI network screening. **Results** Forty-seven related targets between tanshinone IIA and severe pneumonia were obtained. The top 6 core genes in PPI network were AKT1, androgen receptor (AR), PTGS2, cyclooxygenase-2 (COX-2), EGFR and progesterone receptor (PGR). GO analysis showed tumor necrosis factor (TNF) production and regulation, response to molecule of bacterial origin, and TNF superfamily cytokine production. KEGG analysis revealed that the main pathways of tanshinone IIA in severe pneumonia were neuroactive ligand-receptor interaction, PD-L1 expression and PD-1 checkpoint path in cancer, prostate cancer, and EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance. Molecular docking suggested that the core targets of tanshinone IIA had the potential roles in severe pneumonia. **Conclusion** Tanshinone IIA may improve severe pneumonia by inhibiting oxidative stress and inflammatory response in multi-target and multi-pathway modes including AKT1, AR, PTGS2, EGFR, and PGR.

Key words: network; pharmacology; tanshinone IIA; severe pneumonia

收稿日期: 2022-10-18

基金项目: 湛江市科技发展专项资金竞争性分配项目(2021A05108)

作者简介: 庄贤锐(1981-), 男, 学士, 副主任医师, E-mail: 790893899@qq.com

王智威(2001-), 男, 学士, 在读本科生

通信作者: 郑珍珍(1988-), 女, 硕士, 主治医师, E-mail: zhengzhenzhen2018@163.com

感染性肺炎是一种常见病和多发病,可表现发热、咳嗽、咳痰和胸闷等症状,一部分患者机体免疫力差会导致进一步发展为重症肺炎,引起病情恶化,病死率较高,并很大程度增加患者的经济负担及社会医疗负担^[1-2]。重症肺炎除了与肺部感染、治疗不及时或用药时病情控制不佳有关外,亦与患者身体免疫力差、全身营养不良、耐药等因素有关。重症肺炎可引起急性呼吸衰竭、高碳酸/低氧血症及血流动力学紊乱等严重并发症,致死率高^[3]。及时评价重症肺炎患者的预后,及早制定合理的治疗措施,对延缓病情发展、降低病死率具有重要意义。丹参作为一种经典传统中药,多年来被广泛应用于心血管病的治疗中。丹参酮IIA是从丹参中提取出的脂溶性成分之一,含量最高,也是最为稳定的有效活性成分,是近年来国内外学者对中药单体中研究较多的活性成分。已有实验证实丹参酮IIA具有清除氧自由基、抗炎、抗肿瘤及保护肺的作用^[4-5],但目前有关丹参酮IIA治疗重症肺炎的机制的研究尚少。本研究通过构建丹参酮IIA网络药理学探讨其治疗重症肺炎的可能机制,为后续的临床治疗方法的开发提供实验基础和理论依据。

1 资料和方法

1.1 数据库与软件

有机小分子生物活性数据库: PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>); 有效活性成分靶点预测数据库: Swiss Target Prediction (swisstargetprediction.ch); 疾病靶点数据库: GeneCards (<https://www.genecards.org/>); OMIM (<https://www.omim.org/>); PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org/>); DrugBank (<https://go.drugbank.com/>); 蛋白质相互作用分析平台: STRING (<https://cn.string-db.org/>); 分析及作图软件: Cytoscape (v3.9.1); 生信分析平台: R 语言 (v4.1.3)。

1.2 丹参酮IIA 靶点预测

以丹参酮IIA 为关键词,通过PubChem 进行检索,确定丹参酮IIA 的结构信息,通过在PubChem 获取的结构信息,在Swiss Target Prediction 平台中预测丹参酮IIA 的靶点,确定研究所需的靶点信息。

1.3 重症肺炎相关靶点筛选

以“Severe pneumonia”为关键词,在GeneCards、OMIM、PharmGkb 和 Drugbank 数据库中查找重症肺炎相关靶点信息,取其交集获得重症肺炎相关靶点。将丹参酮IIA 和重症肺炎的有关靶点信息进行对比分析,确定两者的交集,得到丹参酮IIA 在治疗重症肺炎

上的作用靶点。

1.4 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建

在 String 平台中导入上一步骤获得的靶点信息,选择 Multiple Proteins, 将 Organism 设置成 Homo Sapiens, 然后向 Cytoscape (v3.9.1) 工具中导入获得的信息,构建网络并进行分析,最后获得研究所需的 PPI 关系图,再通过其插件 CytoHubba 选择 MCC 算法,获得分数前 10 的核心靶点。

1.5 靶点GO 富集与KEGG 通路分析

使用 R 语言对丹参酮IIA 与重症肺炎的共同作用靶点进行分析,获得 GO 和 KEGG 富集分析所需的气泡图以及条形图,最后通过转换获得相应的原始基因靶点。

1.6 分子对接

在 UniProt 数据库中搜索所选基因编码的受体蛋白; 该蛋白的 3D 结构下载到 RCSB PDB 数据库; 从 PubChem 数据库下载的 TanshinoneIIA 2D 结构使用 ChemBio3D 软件最小化能量计算并输出 3D 结构; 受体蛋白使用 PyMOL 进行脱水。利用 AutoDock 软件对蛋白质进行氢化和电荷计算,最后采用 AutoDock Vina 进行对接,寻找最佳构象。

2 结果

2.1 丹参酮IIA-重症肺炎相关靶点筛选

图 1、2 展示丹参酮IIA 的 2D 和 3D 结构。将在 PubChem 上得到的丹参酮IIA 的化学结构导入 SwissTargetPrediction 数据库预测并构建靶点集,共潜在活性靶点 100 个。在 GeneCards、OMIM、PharmGKB 和 DrugBank 数据库中搜索重症肺炎相关疾病基因,再进行疾病相关基因合并去重,共得到 5 396 个疾病相关基因(图 3)。将丹参酮IIA 靶点基因和疾病相关基因取交集,共得到 63 个丹参酮IIA-重症肺炎交集基因(图 4)。

2.2 丹参酮IIA-重症肺炎相关靶点GO 和KEGG 富集分析

使用 R 语言软件对丹参酮IIA-重症肺炎相关靶点进行 GO 富集分析。经 R 语言运行后总共得到 431 个功能 ($P < 0.01$), 其中生物过程 409 个, 分子功能 14 个, 细胞组成 8 个, 见条形图与气泡图(图 5A、B)。若富集较少时图形的颜色趋近于蓝色; 若富集较为显著时颜色趋近于红色, 图像的横坐标代表的是富集数量。GO 富集分析描述了丹参酮IIA 治疗重症肺炎的预测靶点参与 tumor necrosis factor production、regulation of

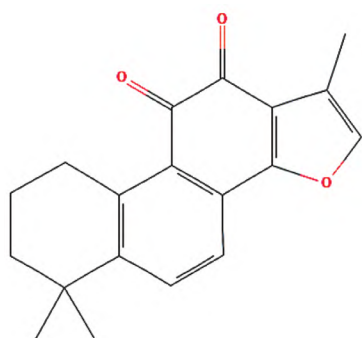


图1 丹参酮IIA 2D 结构

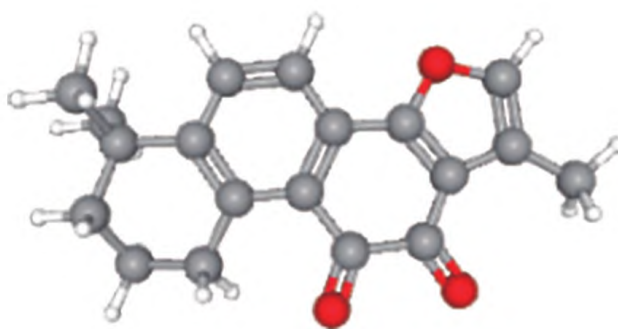


图2 丹参酮IIA 3D 结构

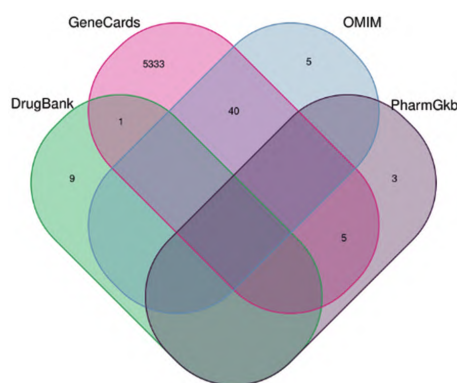


图3 重症肺炎相关靶点venn 图

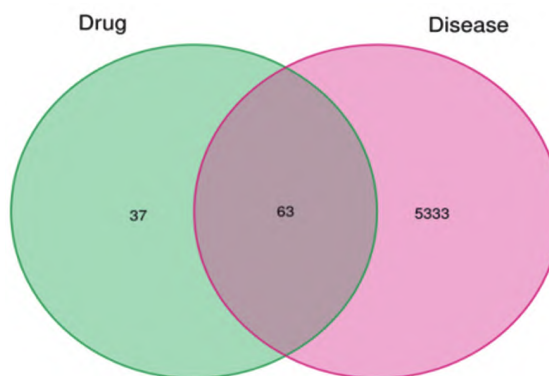


图4 丹参酮IIA-重症肺炎共同靶点venn 图

tumor necrosis factor production、response to molecule of bacterial origin、tumor necrosis factor superfamily cytokine production 等; KEGG 富集得到 80 个通路, 以前 30 作为分界(图 5C), Y 轴表示通路, X 轴表示在该通路下丰富的基因数量, 颜色越红表示 q 值就越小, 代表富集越显著。气泡图 X 轴表示基因的比率, 圆形越大表示在每个通路上基因的数目越多(图 5D)。KEGG 富集分析描述了丹参酮 IIA 治疗重症肺炎的预测靶点参与 Neuroactive ligand-receptor interaction、PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer、Prostate cancer、EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance 等。Neuroactive ligand-receptor interaction 的详细通路见图 6。

2.3 筛选核心靶点

为了确定丹参酮 IIA 治疗重症肺炎的潜在枢纽靶点及其之间的相互作用, 本文将上述得到的 63 个靶点信息输入到 STRING 网络平台 (<https://string-db.org/>), 并在 Organism 中选择 Homo sapiens 物种, 构建 PPI 网络(图 7)。将 PPI 网络下载并导入 Cytoscape 软件, 使用 CytoHubba 插件通过 MCC 方法进行排序输出前 5 的核心靶点(图 8), 包括 PPI 网络中前 5 核心基因为蛋白激酶 B (AKT) 1、雄激素受体 (AR)、前列腺素内过氧化物合成酶 2 (PTGS2)、蛋白环加氧酶-2 (COX-2)、表

皮生长因子受体 (EGFR) 和黄体酮受体 (PGR)。

2.4 丹参酮 IIA-重症肺炎主要靶点的分子对接

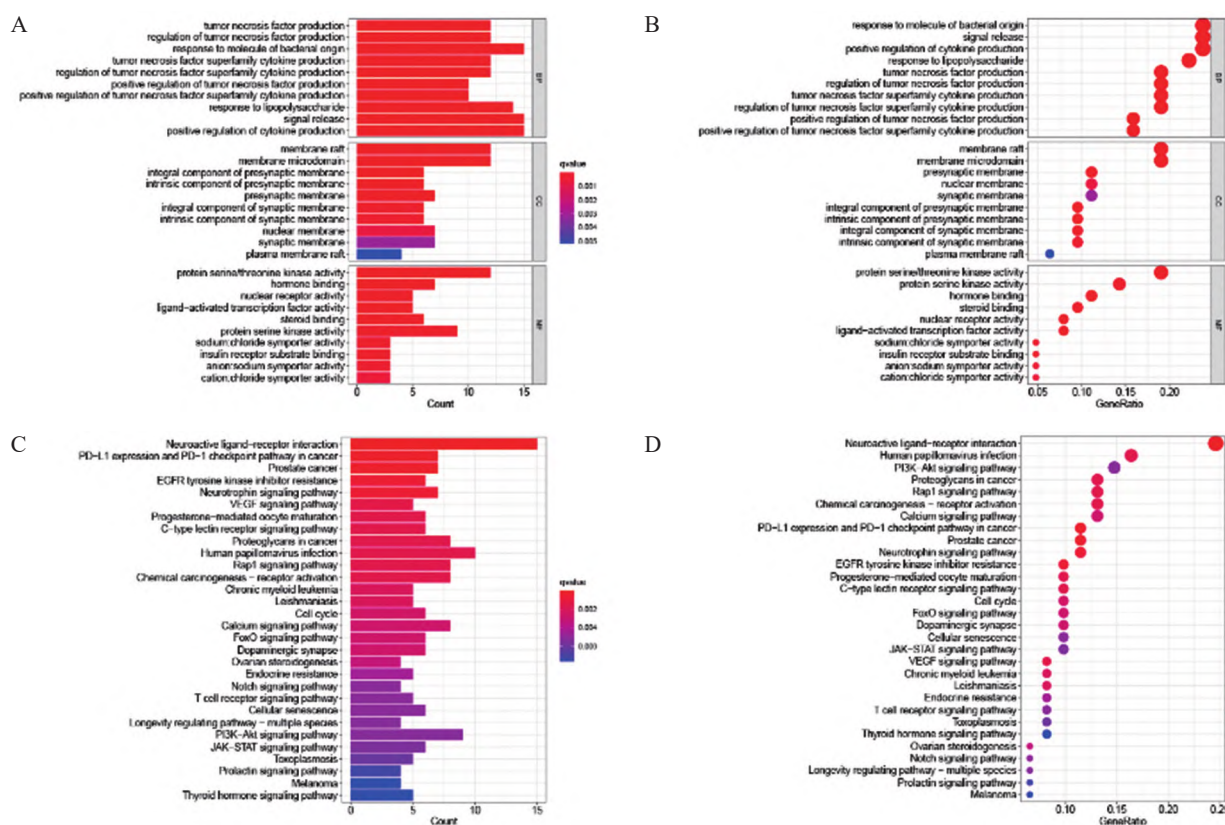
使用 Autodock Vina 进行 20 次对接, 根据 Autodock Vina 的计算结果显示以上所得的 10 个主要靶点的结合自由能均小于 -5 kCal/mol (表 1), 随后进行分子对接的可视化(图 9), 表明核心靶点在丹参酮 IIA 治疗重症肺炎上均有潜在作用。

表1 分子对接的结合自由能

成分	靶点	结合自由能/(kCal/mol)
丹参酮IIA	AKT1	-12.3
丹参酮IIA	PTGS2	-11.2
丹参酮IIA	PGR	-10.3
丹参酮IIA	NR3C1	-9.8
丹参酮IIA	MDM2	-9.6
丹参酮IIA	IGF1R	-9.4
丹参酮IIA	EGFR	-8.4
丹参酮IIA	MAPK14	-8.4
丹参酮IIA	HDAC1	-7.6
丹参酮IIA	AR	-7.3

3 讨论

肺炎发病率与病死率均很高, 抗生素是治疗肺炎的主要手段。为了减少抗生素的耐药性和药物副作用, 需要充分将医生的经验性、药物的有效性和患者的个



A.GO 分析柱状图; B.GO 分析气泡图; C.KEGG 分析柱状图; D.KEGG 分析气泡图

图5 丹参酮IIA-重症肺炎相关靶点GO富集分析

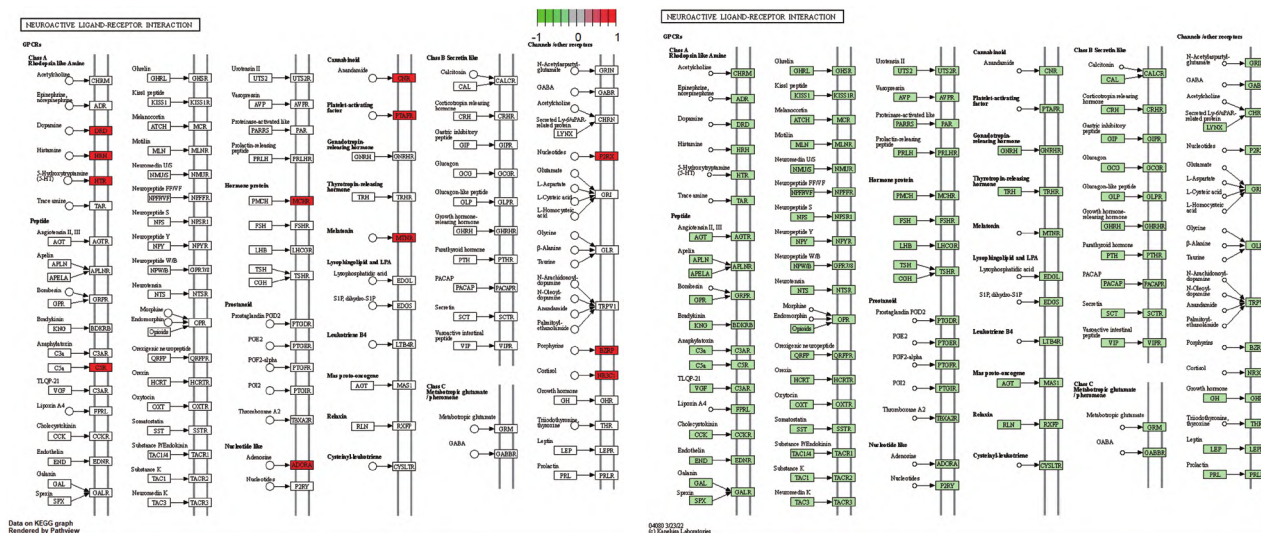


图 6 神经活性配体-受体相互作用

体化相结合,同时还要考虑研发其他包括中药在内的治疗药物。重症肺炎病原微生物入侵人体后导致的炎症免疫信号转导紊乱性疾病,感染性因素经气管支气管进入肺内,刺激抗原递呈细胞,产生TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等多种前炎症因子,同时介导外周循环的炎症细胞迁徙到肺组织,进一步释放大量的炎症介质和细胞因子,最终触发炎症因子的级联反应而导致全身炎症

反应综合征^[6-7],其发病机制非常复杂。有国外学者发现,作为抗病原体感染第一道防线的天然免疫,在重症肺炎患者的发病机制中起至关重要的作用^[8]。许和平等^[9]发现重症肺炎患者的TNF- α 、IL-8、IL-1 均明显高于肺炎组患者,TNF- α 、IL-1 β 等炎症介质为中心的链式炎症反应,过强的炎症反应加重机体组织器官的损害,从而加重重症肺炎的发生发展。丹参酮IIA 是一

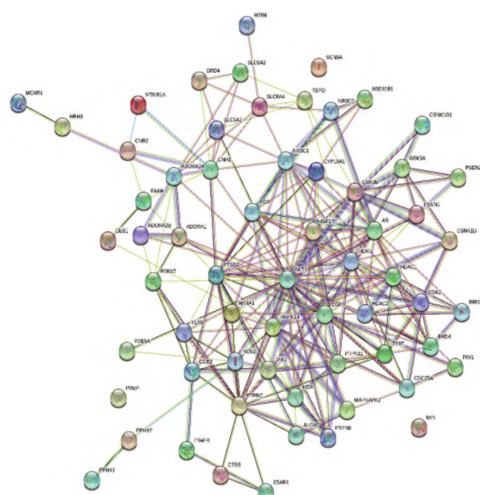


图7 靶点PPI网络

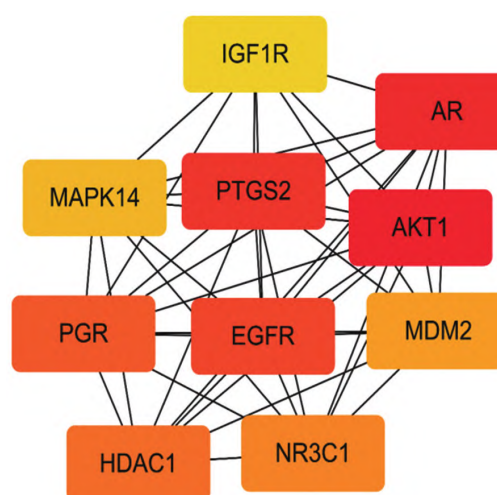
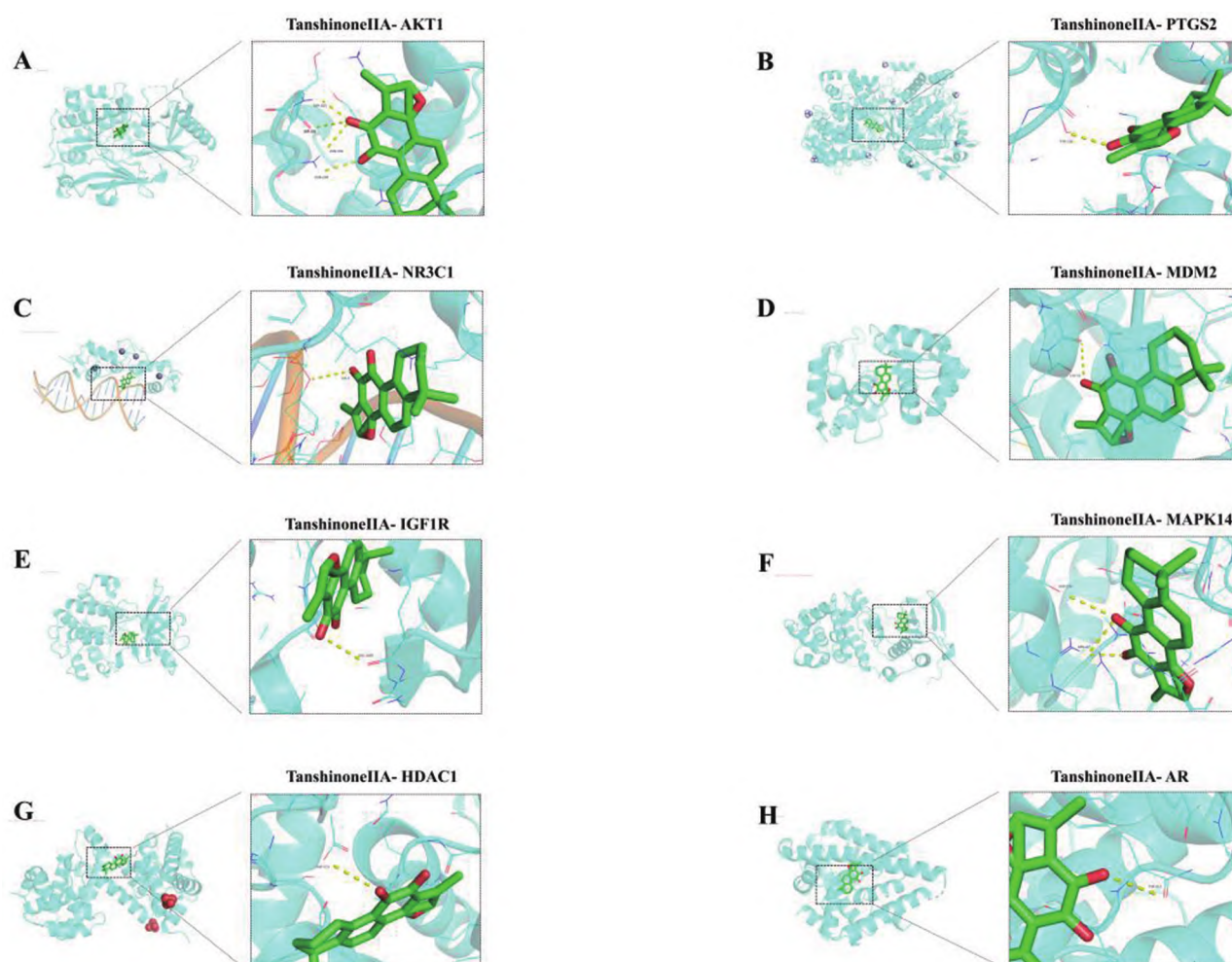


图8 核心靶点



A. 丹参酮IIA与AKT1的对接结果, AKT1上氢原子与SER-205、ASN-204有氢键连接; B. 丹参酮IIA与PTGS2的对接结果; C. 丹参酮IIA与NR3C1的对接结果; D. 丹参酮IIA与MDM2的对接结果; E. 丹参酮IIA与IGF1R的对接结果; F. 丹参酮IIA与MAPK14的对接结果; G. 丹参酮IIA与HDAC1的对接结果; H. 丹参酮IIA与AR的对接结果

图9 丹参酮IIA与主要靶蛋白的分子对接3D图

种类黄酮,可抑制炎症反应并减少动脉粥样硬化^[10-11]。有研究显示丹参酮IIA可以有效抑制促炎细胞因子的释放,包括TNF- α 和IL-6^[12-14]。本研究通过数据库预测

并构建靶点集,共得到63个丹参酮IIA-重症肺炎交集基因。经PPI网络筛选后排在前5的核心靶标主要AKT1、AR、PTGS2、EGFR和PGR等,推测这5个靶

标是淫羊藿苷治疗肺动脉高压的关键靶点。研究表明由金黄色葡萄球菌诱导的AKT1 信号传导对于将巨噬细胞从抗菌表型(M1)转移到功能性惰性特征至关重要^[15]。而有研究表明COX-2、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 在肺部炎症中是高表达的,与抗炎治疗后 COX-2、TNF- α 表达下降^[16]。新型冠状病毒感染(COVID) 人类期间,有学者发现抗击COVID-19 的核心目标靶点就包括EGFR^[17],还有研究发现EGFR 突变的晚期肺癌患者与衰老、肺炎住院史和胃食管反流病有关^[18]。PGR 是感染性和炎症性疾病的潜在免疫调节剂,在肺部炎症性疾病中发挥着重要作用^[19]。以上研究都证实本研究中PPI 网络筛选的核心靶点在Tanshinone IIA 治疗重症肺炎中可能发挥重要作用。

GO 富集分析描述丹参酮 IIA 治疗重症肺炎的预测靶点参与tumor necrosis factor production、regulation of tumor necrosis factor production、response to molecule of bacterial origin、tumor necrosis factor superfamily cytokine production 等;而KEGG 富集分析描述了丹参酮 IIA 治疗重症肺炎的预测靶点参与Neuroactive ligand-receptor interaction、PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer、Prostate cancer、EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance 等。这可能是丹参酮 IIA 治疗重症肺炎的关键信号通路,KEGG 通路富集结果也与PPI 网络分析及GO 富集分析结果相似。由于表皮生长因子受体和Toll 样受体 4 (TLR4) 信号传导的解偶联,甲酚硫酸盐(PCS) 选择性地减少了气道上皮细胞的CCL20 产生,从而保护宿主免受过敏性气道炎症^[20]。C-X-C 基序趋化因子 10 (CXCL10) [也称为干扰素(IFN) - γ 诱导的 10 kDa 蛋白(IP-10)] 是气道上皮细胞响应呼吸道感染而产生的趋化因子,有助于淋巴细胞的募集以靶向和杀死病毒感染的细胞,而EGFR 的激活可抑制呼吸道病毒诱导的干扰素调节因子 1 (IRF1) 依赖性 CXCL10 的产生,从而抑制内源性抗病毒防御^[21]。故丹参酮 IIA-交集靶标-重症肺炎网络图关联复杂,可见丹参酮 IIA 治疗重症肺炎是通过多靶点、多途径之间的相互作用实现的,并且蕴含着多种潜在的治疗作用。分子对接是将小分子对接到大分子结构中,在结合位点处对其互补值进行评分的过程。这是一个充满活力的研究领域,在基于结构的药物设计、优化、生化途径和药物设计方面具有动态实用性,是最有吸引力的工具^[22-24]。结合能越低,表明活性成分与靶蛋白的结合力越强,一般认为结合能小于 -5 kCal/mol 的药物分子与靶点具有较好的结合

活性^[25]。在最后的分子对接中证实PPI 网络筛选的前 10 核心靶点的结合自由能均小于-5 kCal/mol,表明核心靶点在丹参酮 IIA 治疗重症肺炎上均有潜在作用。但本研究还缺乏具体的实验验证,这也是本文的一个缺陷,后续需进行体内及体外实验,进一步证实以上网络药理学筛选出的靶点。

本文通过网络药理学对丹参酮 IIA 治疗重症肺炎进行分析,认为丹参酮 IIA 可能是通过多靶点、多通路抑制氧化应激、炎症反应来改善重症肺炎,作用于 AKT1、AR、PTGS2、EGFR 和PGR 等相关靶点。目前关于其中的机制研究较少,本次获得信号通路可能是丹参酮 IIA 治疗重症肺炎的主要通路,后续可通过动物、细胞实验对通路及相关因子进行验证,为重症肺炎的治疗提供更好的基础理论依据。

参考文献:

- [1] RIDER A C, FRAZEE B W. Community-acquired pneumonia[J]. Emerg Med Clin North Am, 2018, 36(4): 665-683.
- [2] 刘湘园, 张婷, 周丽. 血清PCT、NLR 联合胸部CT 表现预测重症肺炎预后价值分析[J]. 中国实验诊断学, 2022, 26(5): 653-657.
- [3] LANKS C W, MUSANI A I, HSIA D W. Community-acquired pneumonia and hospital-acquired pneumonia[J]. Med Clin North Am, 2019, 103(3): 487-501.
- [4] HE H, TANG H, GAO L, et al. Tanshinone IIA attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(6): 4190-4196.
- [5] TANG H, HE H, JI H, et al. Tanshinone IIA ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and inhibits transforming growth factor-beta- β -dependent epithelial to mesenchymal transition[J]. J SURG RES, 2015, 197(1): 167-175.
- [6] FERNANDEZ-SERRANO S, DORCA J, COROMINES M, et al. Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2003, 10(5): 813-820.
- [7] GOODMAN R B, PUGIN J, LEE J S, et al. Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2003, 14(6): 523-535.
- [8] AKIRA S, UEMATSU S, TAKEUCHI O. Pathogen recognition and innate immunity[J]. Cell, 2006, 124(4): 783-801.
- [9] 许和平. 重症肺炎外周血单核细胞TLR2、4 表达与血浆TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 水平的相关性[D]. 广州: 广州医学院, 2009.
- [10] ZHENG S, REN Z, ZHANG Y, et al. Anti-inflammatory mechanism research of tanshinone II A by module-based network analysis[J]. Biomed Mater Eng, 2014, 24(6): 3815-3824.
- [11] YOU Z, XIN Y, LIU Y, et al. Protective effect of salvia

- miltiorrhizae injection on N(G)-nitro-D-arginine induced nitric oxide deficient and oxidative damage in rat kidney[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2012, 64(5): 453-458.
- [12] LI Y, GUO Y, CHEN Y, et al. Establishment of an interleukin-1 β -induced inflammation-activated endothelial cell-smooth muscle cell-mononuclear cell co-culture model and evaluation of the anti-inflammatory effects of tanshinone IIA on atherosclerosis[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 1665-1676.
- [13] CHEN Y, WU X, YU S, et al. Neuroprotection of tanshinone IIA against cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibition of macrophage migration inhibitory factor in rats[J]. *Plos One*, 2012, 7(6): e40165.
- [14] GAO H, SUN W, ZHAO J, et al. Tanshinones and diethyl blechnics with anti-inflammatory and anti-cancer activities from *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen)[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33720.
- [15] XU F, KANG Y, ZHANG H, et al. Akt1-mediated regulation of macrophage polarization in a murine model of *Staphylococcus aureus* pulmonary infection[J]. *J Infect Dis*, 2013, 208(3): 528-538.
- [16] SAFDARPOUR S, EFTEKHARI Z, EIDI A, et al. Encapsulated saponin by ferritin nanoparticles attenuates the murine pneumococcal pneumonia[J]. *Microb Pathog*, 2022, 172: 105731.
- [17] LI R, WU K, LI Y, et al. Revealing the targets and mechanisms of vitamin A in the treatment of COVID-19[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(15): 15784-15796.
- [18] CHOI W I, JEONG J, LEE C W. Association between EGFR mutation and ageing, history of pneumonia and gastroesophageal reflux disease among patients with advanced lung cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2019, 122: 101-108.
- [19] SU S, HUA D, LI J P, et al. Modulation of innate immune response to viruses including SARS-CoV-2 by progesterone[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 137.
- [20] WYPYCH T P, PATTARONI C, PERDIJK O, et al. Microbial metabolism of L-tyrosine protects against allergic airway inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(3): 279-286.
- [21] KALINOWSKI A, UEKI I, MIN-OO G, et al. EGFR activation suppresses respiratory virus-induced IRF1-dependent CXCL10 production[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 307(2): L186-L196.
- [22] SAKIA S, BORDOLOI M. Molecular docking: Challenges, advances and its use in drug discovery perspective[J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(5): 501-521.
- [23] LOHNING A E, LEVONIS S M, WILLIAMS-NOONAN B, et al. A practical guide to molecular docking and homology modelling for medicinal chemists[J]. *Curr Top Med Chem*, 2017, 17(18): 2023-2040.
- [24] MORRIS G M, LIM-WILBY M. Molecular docking[J]. *Methods Mol Biol*, 2008, 443: 365-382.
- [25] 李安安, 姜涛, 詹敏, 等. 参苓白术散治疗膝关节关节炎作用机制的网络药理学和分子对接技术分析[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(2): 197-204.

~~~~~

(上接第 387 页)

- 展[J]. *中国海洋药物*, 2021, 40(5): 71-78.
- [11] 刘珍, 唐晓宁, 吴科锋, 等. 方格星虫低聚肽的分离、鉴定及其促骨发育作用评价[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(20): 334-341.
- [12] 张玲. 罗非鱼皮胶原降解反应行为及肽钙螯合物制备研究[D]. 广东: 华南理工大学, 2020.
- [13] WANG L, DING Y, ZHANG X, et al. Isolation of a novel calcium-binding peptide from wheat germ protein hydrolysates and the prediction for its mechanism of combination[J]. *Food Chem*, 2018, 239: 416-426.
- [14] ZHANG X, JIA Q, LI M, et al. Isolation of a novel calcium-binding peptide from phosvitin hydrolysates and the study of its calcium chelation mechanism[J]. *Food Res Int*, 2021, 141: 110169.
- [15] ZHAO L, HUANG Q, HUANG S, et al. Novel peptide with a specific calcium-binding capacity from whey protein hydrolysate and the possible chelating mode[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(42): 10274-10282.
- [16] 李军. 鲢鱼骨胶原多肽的制备及其抗氧化、钙螯合活性的研究[D]. 江西: 江西师范大学, 2020.