

经典名方旋覆代赭汤的指纹图谱及功效关联物质预测分析

申屠银洪¹, 李欢欢², 赵晓莉², 毛靖², 林丽², 毛春芹², 李鹏³, 许金国^{2*}, 陆兔林^{2*}

1. 浙江桐君堂中药饮片有限公司, 浙江 桐庐 311500

2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

3. 南京海陵中药制药工艺技术研究有限公司, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 基于指纹图谱及网络药理学, 建立旋覆代赭汤(Xuanfu Daizhe Decoction, XDD)的指纹图谱分析方法, 并对其功效关联物质进行预测分析, 为XDD质量控制提供参考依据。方法 运用HPLC色谱法建立旋覆代赭汤物质基准对应实物(material standard corresponding material, XDD/MSCM)指纹图谱分析方法, 匹配共有峰, 并对各共有峰进行归属分析, 基于文献及指纹图谱筛选XDD活性成分, 通过网络药理学建立“成分-靶点-通路”网络, 进一步佐证XDD功效成分选择的合理性。结果 建立了XDD/MSCM指纹图谱分析方法, 对多批次XDD/MSCM样品进行测定, 标定36个共有峰, 通过对照品指认出甘草苷、1,5-O-二咖啡酰奎宁酸、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、1-O-乙酰旋覆花内酯、人参皂苷Rb₁、甘草酸、6-姜辣素8个色谱峰, 各批次样品相似度均>0.90, 且36个共有峰均能明确归属到旋覆花、人参、生姜、甘草4味饮片; 采用网络药理学对甘草苷、1,5-O-二咖啡酰奎宁酸、人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、1-O-乙酰旋覆花内酯、人参皂苷Rb₁、甘草酸、6-姜辣素8个药效成分进行机制预测, 富集的通路中含磷脂酰肌醇-3-羟激酶-蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase-protein kinase B, PI3K-Akt)信号通路、低氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)信号通路等与止呕及抗炎作用相关。结论 建立的XDD指纹图谱分析方法稳定可行, 通过归属分析明确色谱峰的来源, 为XDD后续制剂的研究提供参照基准, 且结合网络药理学发现XDD 8个成分与XDD功效属性密切相关, 可作为其潜在的功效关联物质, 为XDD指标成分选择的合理性提供依据, 同时为经典名方的研究提供参考。

关键词: 经典名方; 旋覆代赭汤; 指纹图谱; 网络药理学; 功效关联物质; 质量控制; 甘草苷; 1,5-O-二咖啡酰奎宁酸; 人参皂苷; 1-O-乙酰旋覆花内酯; 甘草酸; 6-姜辣素; 旋覆花; 人参; 生姜; 甘草; PI3K-Akt; HIF-1

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)16-4825-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.16.007

Predictive analysis of fingerprints and efficacy related substances of classical prescription Xuanfu Daizhe Decoction

SHEN-TU Yin-hong¹, LI Huan-huan², ZHAO Xiao-li², MAO Jing², LIN Li², MAO Chun-qin², LI Peng³, XU Jin-guo², LU Tu-lin²

1. Zhejiang Tongjuntang Traditional Chinese Medicine Pieces Co., Ltd., Tonglu 311500, China

2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Nanjing Hailing of Chinese Medicine Pharmaceutical Technology Research Co., Ltd., Nanjing 210023, China

Abstract: Objective Based on fingerprints and network pharmacology, the fingerprint analysis method of Xuanfu Daizhe Decoction (旋覆代赭汤, XDD) is established, and its efficacy related substances are predicted and analyzed, which provides a reference for the quality control of XDD. **Methods** HPLC method was used to establish the fingerprint analysis method of XDD material standard corresponding material (XDD/MSCM) and the common peaks were matched, at the same time, the attribution analysis of each common peak was performed. The active ingredients of XDD were screened based on literature and fingerprints, and The “component-target-pathway” network was established through network pharmacology, which further supported the rationality of

收稿日期: 2021-03-31

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1707000); 南京市栖霞区产学研合作及科技成果转化项目

作者简介: 申屠银洪, 男, 执业药师, 主要从事中药及饮片质量标准研究管理。E-mail: st.yh@163.com

*通信作者: 许金国, 男, 高级实验师, 主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。E-mail: 300024@njucm.edu.cn

陆兔林, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。E-mail: ltl2021@njucm.edu.cn

functional components selection for XDD. **Results** A method for fingerprint analysis of XDD/MSCM was established. The samples of multiple batches of XDD/MSCM were determined. A total of 36 common peaks were calibrated. Eight chromatographic peaks including liquiritin and 1,5-di-O-caffeoylquinic acid, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re, 1-O-acetyl britannilactone, ginsenoside Rb₁, glycyrrhizic acid, 6-gingerol could be determined by reference substance. The similarity of the sub-samples were > 0.90, and the 36 common peaks could be clearly assigned to four pieces of Xuanfuhua (*Inulae Flos*), Renshen (*Ginseng Radix et Rhizoma*), Shengjiang (*Zingiberis Rhizoma Recens*), and Gancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*). The mechanism of eight medicinal ingredients of liquiritin and 1,5-di-O-caffeoylquinic acid, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re, 1-O-acetyl britannilactone, ginsenoside Rb₁, glycyrrhizic acid, 6-gingerol was predicted by network pharmacology, and the enriched pathway contained phosphatidylinositol-3-hydroxykinase-protein kinase B (PI3K-Akt) signaling pathway, hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) signaling pathway related to anti-vomiting and anti-inflammatory effects. **Conclusion** The fingerprint analysis method of XDD established in this study is stable and feasible. The source of the chromatographic peaks is clarified through the attribution analysis, which provides a reference for the study of subsequent preparations of XDD. In addition, combined with network pharmacology, it was found that eight components were closely related to the efficacy properties of XDD, which could be used as potential efficacy related substances, providing a basis for the rationality of the selection of index components of XDD, and providing a reference for the study of classical formulas.

Key words: classical prescription; Xuanfu Daizhe Decoction; fingerprint chromatography; network pharmacology; efficacy related substances; quality control; liquiritin; 1,5-di-O-caffeoylquinic acid; ginsenoside; 1-O-acetyl britannilactone; glycyrrhizic acid; 6-gingerol; *Inulae Flos*; *Ginseng Radix et Rhizoma*; *Zingiberis Rhizoma Recens*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; PI3K-Akt; HIF-1

经典名方是指来源于古代中医典籍记载的至今仍广泛应用且疗效确切的中药方剂, 彰显了中医药治疗疾病的独特优势。为了全面利用中医药财富服务于人类健康, 2018 年国家中医药管理局发布《古代经典名方目录(第一批)》^[1], 并以《古代经典名方中药复方制剂及其物质基准的申报资料要求(征求意见稿)》(以下简称《申报资料要求》)^[2]指导经典名方的开展。

经典名方的研究主要集中在如何还原古方原貌, 并对其进行全面的质量控制。为了加强对经典名方的质量监管, 要求创建“药材-饮片-物质基准对应实物(material standard corresponding material, MSCM)-制剂”全过程的质量控制措施, 指纹图谱被列为评价中药的重要方法。

旋覆代赭汤(Xuanfu Daizhe Decoction, XDD)出自东汉张仲景《伤寒论》一书, 全方由旋覆花、人参、生姜、代赭、甘草(炙)、半夏(洗)、大枣(擘)7味药组成, 具有降逆化痰、益气和胃之功^[3], 现代药理研究表明其具有止呕、抗炎等作用^[4]。本实验按照《申报资料要求》旨在建立旋覆代赭汤物质基准对应实物(XDD/MSCM)指纹图谱分析方法, 并对共有峰进行归属分析, 明确饮片与 MSCM 的内在关联, 以期形成稳定可行的物质基准质量标准, 并结合网络药理学技术构建“成分-靶点-通路”网络, 分析 XDD 质量控制指标选择的合理性, 探索 XDD 潜在的功效关联物质, 为 XDD 质量控制及制剂的进一步研究提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪, 配四元低压梯度泵, 在线脱气装置, 自动进样器, DAD 检测器, 色谱工作站, 美国安捷伦公司; MS-105D 电子天平, 梅特勒-托利多集团; TD1002C 电子天平, 天津天马衡基仪器有限公司; MG-H21S011 多功能电陶炉, 广东美的生活电器制造有限公司; HH-2K4 恒温水浴锅, 巩义市英峪予华仪器厂; KQ-500B 超声波清洗机, 昆山市超声仪器有限公司; H1650-W 台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 砂锅, 江西舒雅陶瓷有限公司。

1.2 试药

试剂: 乙腈, HPLC 级, 德国 Merck 公司; 磷酸, HPLC 级, 阿拉丁试剂有限公司; 甲醇, HPLC 级, 江苏汉邦科技有限公司; 甲醇, 分析纯, 山东禹王实业有限公司化工分公司; 正丁醇, 分析纯, 上海申博化工有限公司; 水为娃哈哈纯净水。

对照品: 甘草苷(批号 P25J7F18328, 质量分数≥95%)、1,5-O-二咖啡酰奎宁酸(批号 P26F9F54633, 质量分数≥98%), 上海源叶生物科技有限公司; 甘草酸单铵盐(批号 110731-202021, 质量分数≥96.2%)、6-姜辣素(批号 111833-201806, 质量分数≥99.9%)、人参皂苷 Rg₁(批号 110703-201832, 质量分数≥93.4%)、人参皂苷 Re(批号 110754-201827, 质量分数≥93.9%)、人参皂苷 Rb₁(批号 110704-201827, 质量分数≥93.1%), 中国药品生物制剂检

定研究院; 1-O-乙酰旋覆花内酯(批号 CFS201802, 质量分数 $\geq 98\%$), 武汉天植物技术有限公司。

XDD 7 味原料药材各采集不少于 3 个产地, 每个产地不少于 5 批, 总批次不少于 15 批, 经南京中医药大学研究生院陈建伟教授鉴定旋覆花为菊科植物旋覆花 *Inula japonica* Thunb. 的干燥头状花序; 人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎; 生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎; 代赭石为氧化物类矿物刚玉族赤铁矿, 主含 Fe_2O_3 ; 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎; 半夏为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎; 大枣为鼠李科枣属植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实^[5]。按照《中国药典》2015 年版各药材

项下检测方法进行检测, 均符合药典标准, 并结合资源考证优选药材产地, 最终优选的各药材产地分别为旋覆花(山东东平)、人参(吉林抚松)、生姜(云南蒙自)、代赭石(河北宣化、河北平山)、甘草(甘肃民勤)、半夏(江苏泰州)、大枣(山东新泰)。

本实验结合前期研究及《中国药典》2015 年版及全国炮制规范指导下优化的炮制工艺参数, 其中甘草(炙)为炒甘草, 半夏(洗)为姜半夏。将优选产地的药材炮制成对应的 15 批饮片, 饮片经检查均符合《中国药典》2015 年版各饮片项下标准, 利用 Excel 中 RANDBETWEEN 函数生成随机数, 将旋覆花、人参、生姜、代赭石、甘草、姜半夏、大枣 7 味饮片的不同批次随机组合制备 XDD/MSCM, 批次组合具体信息见表 1。

表 1 XDD/MSCM 随机组合
Table 1 XDD/MSCM random combination

编号	批号						
	旋覆花	人参	生姜	代赭石	甘草	姜半夏	大枣
XDD1	ypTA1801170013	yp20190531013	yp191223013	ypTA180125001	ypXELHQG-GC-33	yp201801153	ypDZ18071611
XDD2	ypTA1801180011	yp20190531023	yp191223043	ypTA180088001	ypXELHQG-GC-13	yp201801152	ypDZ18071643
XDD3	ypTA1801170013	yp20190531052	yp191223052	ypTA180125001	ypXELHQG-GC-32	yp201801113	ypDZ18071612
XDD4	ypTA1801170012	yp20190531033	yp191223051	ypTA180089001	ypXELHQG-GC-12	yp201801151	ypDZ18071622
XDD5	ypTA1801180012	yp20190531012	yp191223031	ypTA180123001	ypXELHQG-GC-11	yp201801143	ypDZ18071632
XDD6	ypTA1801200011	yp20190531031	yp191223051	ypTA180086001	ypXELHQG-GC-52	yp201801152	ypDZ18071633
XDD7	ypTA1801190012	yp20190531031	yp191223052	ypTA180092002	ypXELHQG-GC-12	yp201801153	ypDZ18071641
XDD8	ypTA1801160011	yp20190531042	yp191223022	ypTA180089001	ypXELHQG-GC-51	yp201801152	ypDZ18071613
XDD9	ypTA1801180012	yp20190531012	yp191223013	ypTA180092001	ypXELHQG-GC-43	yp201801123	ypDZ18071633
XDD10	ypTA1801200012	yp20190531042	yp191223032	ypTA180123001	ypXELHQG-GC-13	yp201801152	ypDZ18071621
XDD11	ypTA1801180012	yp20190531023	yp191223043	ypTA180092002	ypXELHQG-GC-41	yp201801133	ypDZ18071611
XDD12	ypTA1801180011	yp20190531052	yp191223011	ypTA180122001	ypXELHQG-GC-53	yp201801153	ypDZ18071651
XDD13	ypTA1801160011	yp20190531032	yp191223022	ypTA180124001	ypXELHQG-GC-42	yp201801142	ypDZ18071652
XDD14	ypTA1801200013	yp20190531051	yp191223032	ypTA180087001	ypXELHQG-GC-13	yp201801121	ypDZ18071633
XDD15	ypTA1801170013	yp20190531012	yp191223011	ypTA180124001	ypXELHQG-GC-21	yp201801142	ypDZ18071613
XDD16	ypTA1801160011	yp20190531042	yp191223032	ypTA180090001	ypXELHQG-GC-13	yp201801132	ypDZ18071652
XDD17	ypTA1801160011	yp20190531042	yp191223032	ypTA180090001	ypXELHQG-GC-13	yp201801132	ypDZ18071652
XDD18	ypTA1801160011	yp20190531042	yp191223032	ypTA180090001	ypXELHQG-GC-13	yp201801132	ypDZ18071652

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

按处方量分别称取旋覆花 9 g, 人参 6 g, 生姜 15 g, 代赭石 3 g, 甘草 9 g, 姜半夏 7.5 g, 大枣 12 g 的各味饮片, 加水 2000 mL, 浸泡 60 min, 以武火(2200 W)煮沸后, 半开盖, 调节火力至 1000 W,

保持微沸并煮至 1200 mL, 趁热用 100 目筛滤过, 滤液继续煎煮至 600 mL, 放冷, 即得 XDD/MSCM。

取 XDD/MSCM 10 mL, 精密量取, 正丁醇萃取 3 次, 每次 10 mL, 合并正丁醇液, 蒸干, 加甲醇溶解至 2 mL, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2 对照品溶液的制备

取各对照品适量,精密称定,加甲醇配制成含甘草苷 318.0 $\mu\text{g/mL}$ 、甘草酸 121.2 $\mu\text{g/mL}$ 、6-姜辣素 44.0 $\mu\text{g/mL}$ 、1,5-O-二咖啡酰奎宁酸 132.3 $\mu\text{g/mL}$ 、1-O-乙酰旋覆花内酯 39.6 $\mu\text{g/mL}$ 、人参皂苷 Rg_1 412.0 $\mu\text{g/mL}$ 、人参皂苷 Re 436.0 $\mu\text{g/mL}$ 、人参皂苷 Rb_1 407.2 $\mu\text{g/mL}$ 混合对照品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液,梯度洗脱:0~10 min, 5%~15%乙腈;10~15 min, 15%~21%乙腈;15~25 min, 21%~22%乙腈;25~28 min, 22%~25%乙腈;28~52 min, 25%~28%乙腈;52~60 min, 28%~36%乙腈;60~75 min, 36%~43%乙腈;75~90 min, 43%~46%乙腈;90~95 min, 46%~58%乙腈;95~103 min, 58%~70%乙腈;103~113 min, 70%~95%乙腈;113~115 min, 95%~5%乙腈;体积流量 1 mL/min;检测波长 203 nm;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量 5 μL 。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取 XDD/MSCM 供试品溶液,重复进样 6 次,记录指纹色谱图。以峰型最佳且稳定的 30 号峰 (6-姜辣素) 为参照峰,各个共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.11%,相对峰面积 RSD 值均小于 3.31%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 取 XDD/MSCM 供试品溶液,

平行制备 6 份供试品溶液,在上述色谱条件下进样 HPLC 分析,记录指纹色谱图。以 30 号峰 (6-姜辣素) 为参照峰,各共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.09%,相对峰面积 RSD 值均小于 7.57%,表明该方法的重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 分别取 XDD/MSCM 供试品溶液,室温放置 0、2、4、8、12、24 h 后,在上述色谱条件进行 HPLC 分析,记录指纹色谱图。以 30 号峰 (6-姜辣素) 为参照峰,各个共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 0.22%,相对峰面积 RSD 值均小于 3.55%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 XDD/MSCM 指纹图谱建立及相似度评价

按照“2.1”项下方法制备 18 批 XDD/MSCM 供试品溶液,并按“2.3”项下色谱条件进样,并记录色谱图。色谱图依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012A) 软件。以 S1 号样品的指纹图谱作为参照谱,采用中位数法,进行多点校正和色谱峰匹配,得到 18 批样品叠加图及共有模式图,结果见图 1、2-A。确定了 36 个共有峰,经与化学对照品 (图 2-B) 的色谱行为进行比较,可鉴定出其中 8 个色谱峰,分别为 7 号峰甘草苷、14 号峰 1,5-O-二咖啡酰奎宁酸、19 号峰人参皂苷 Rg_1 、20 号峰人参皂苷 Re 、22 号峰 1-O-乙酰旋覆花内酯、25 号峰人参皂苷 Rb_1 、29 号峰甘草酸、30 号峰 6-姜辣素。

与对照指纹图谱相比为参照图谱,设其相似度

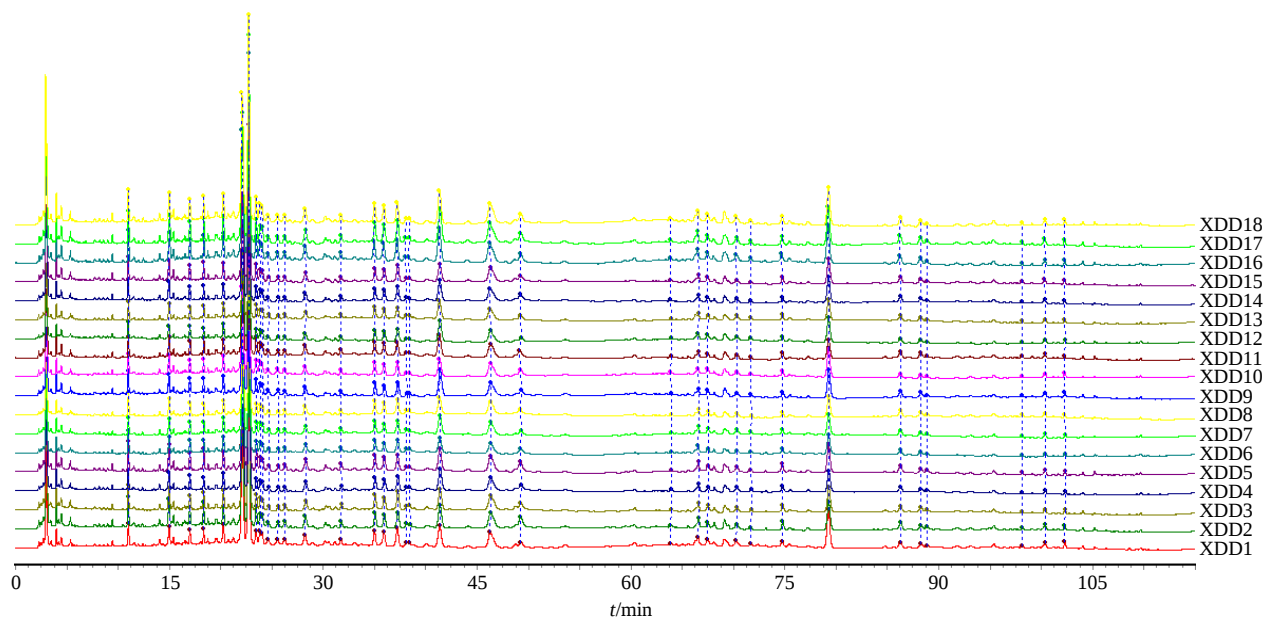
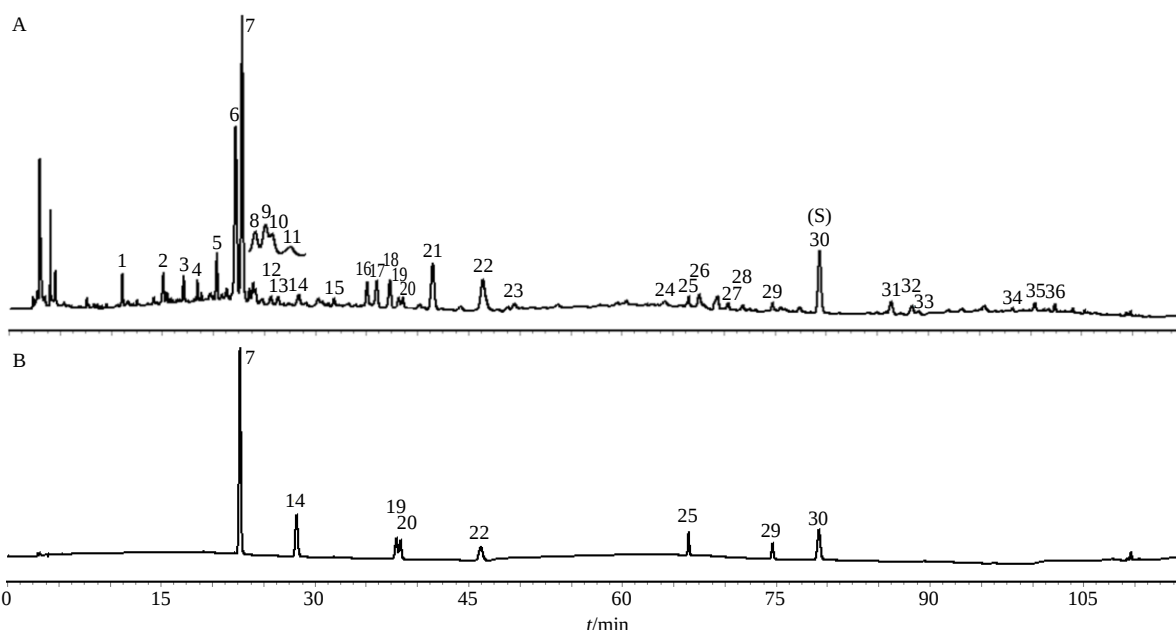


图 1 18 批 XDD/MSCM HPLC 指纹图谱叠加图

Fig. 1 Overlay of HPLC fingerprints of 18 batches of XDD/MSCM



7-甘草苷 14-1,5-O-二咖啡酰奎宁酸 19-人参皂苷 Rg₁ 20-人参皂苷 Re 22-1-O-乙酰旋覆花内酯 25-人参皂苷 Rb₁ 29-甘草酸 30-6-姜辣素
7-liquiritin 14-1,5-di-O-caffeoylquinic acid 19-ginsenoside Rg₁ 20-ginsenoside Re 22-1-O-acetyl britannilactone 25-ginsenoside Rb₁
29-glycyrrhizic acid 30-6-gingerol

图 2 XDD/MSCM HPLC 共有模式 (A) 和混合对照品的 HPLC 图 (B)

Fig. 2 HPLC common mode of XDD/MSCM (A) and HPLC of mixed reference substances (B)

为 1.000, 计算 18 批 XDD/MSCM 的相似度, 结果见表 2, 各批次样品指纹图谱相似度大于 0.90, 得到的 XDD/MSCM 指纹图谱相似度良好, 表明各批次的物质群基本一致, 上述方法稳定、可行, 形成的物质基准对照图谱能够作为衡量 XDD 制剂的标准参照物。

表 2 18 批 XDD/MSCM 指纹图谱相似度

Table 2 Fingerprint similarity of 18 batches of XDD/MSCM

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.996	S7	0.999	S13	0.998
S2	0.999	S8	0.999	S14	1.000
S3	0.997	S9	0.998	S15	0.998
S4	0.999	S10	0.998	S16	1.000
S5	0.999	S11	0.998	S17	1.000
S6	0.998	S12	0.997	S18	1.000

2.6 XDD/MSCM 共有峰的归属研究

按供试品制备方法, 分别制备单味饮片供试品溶液、缺单味饮片供试品溶液及 XDD/MSCM 供试品溶液, 按照“2.3”项下指纹图谱条件进行检测, 分别将 7 味饮片单味饮片供试品溶液、缺单味饮片供试品溶液和 XDD/MSCM 供试品溶液色谱图进行

比对, XDD/MSCM 指纹图谱中共有 20 个峰来自旋覆花, XDD/MSCM 指纹图谱中共有 3 个峰来自人参, XDD/MSCM 指纹图谱中共有 3 个峰来自生姜, XDD/MSCM 指纹图谱中共有 14 个峰来自甘草, XDD/MSCM 指纹图谱未有峰来自代赭石、姜半夏、大枣, 结果见图 3。

对 XDD/MSCM 进行饮片归属分析, 结果见表 3, XDD/MSCM 指纹图谱中 36 个共有峰, 经对照品指认明确 8 个色谱峰, 分别为 7 号峰甘草苷、14 号峰 1,5-O-二咖啡酰奎宁酸、19 号峰人参皂苷 Rg₁、20 号峰人参皂苷 Re、22 号峰 1-O-乙酰旋覆花内酯、25 号峰人参皂苷 Rb₁、29 号峰甘草酸、30 号峰 6-姜辣素, 且 36 个峰可以在原料饮片中找到明确归属, 分别为 1、3~5、8~17、22~24、26、27、34 号峰来自旋覆花; 19、20、25 号峰来自人参; 30、35、36 号峰来自生姜; 2、6、7、16~18、21、27~29、31~33、35 号峰来自甘草; 其中 16、17、27 号峰为旋覆花与甘草所共有, 35 号峰为甘草与生姜所共有, 表明 XDD/MSCM 的主要物质群均可清晰地追溯到饮片归属明确。

从色谱峰个数与峰强度看, 旋覆花与甘草对指纹图谱的贡献最大, 方中人参主要含皂苷类物质, 为末端吸收, 在本指纹图谱条件下只能检出 3 个色

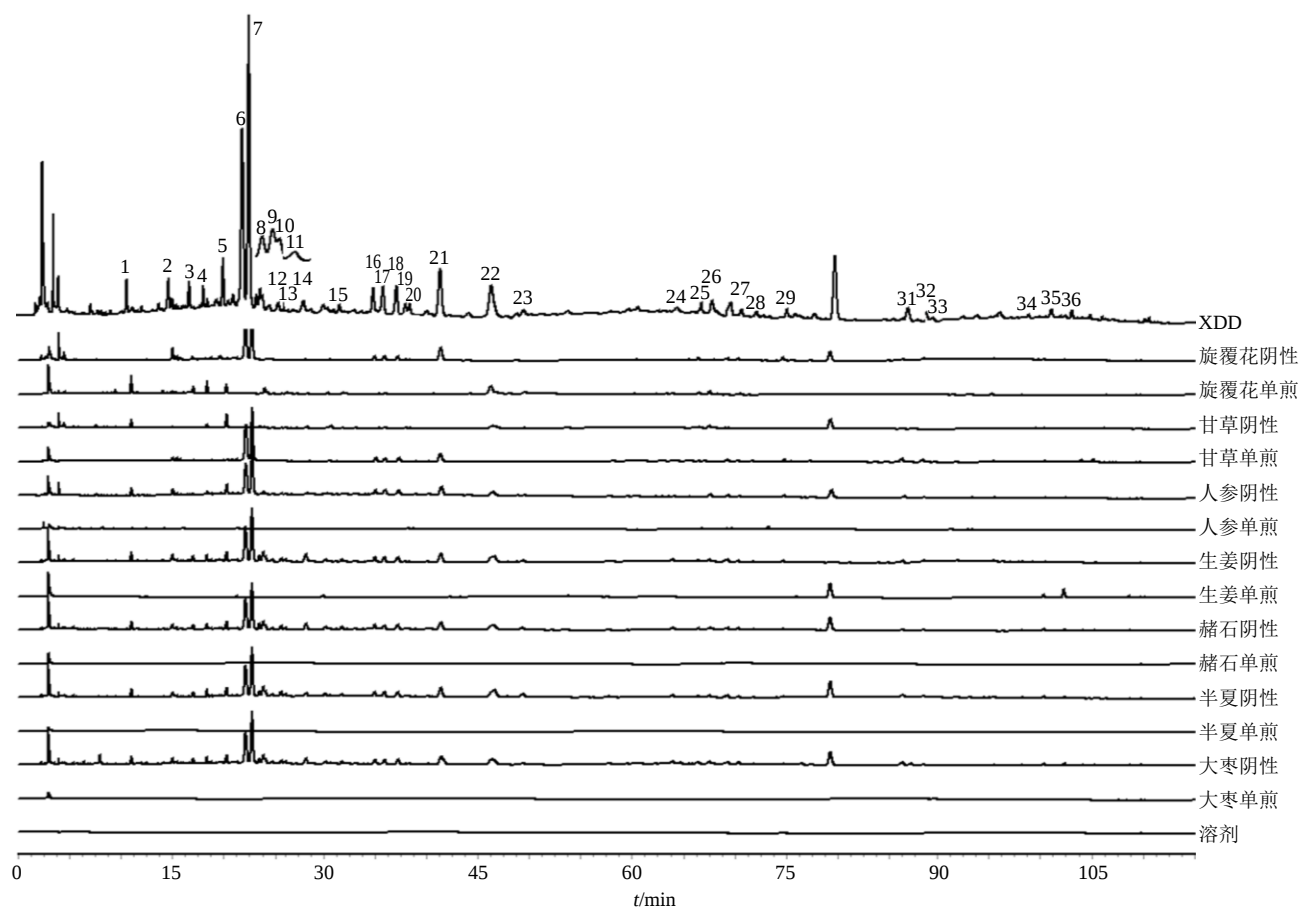


图 3 XDD 色谱峰归属色谱图

Fig. 3 Chromatograms of XDD chromatogram peak attribution

表 3 XDD/MSCM 共有峰归属

Table 3 Attribution of common peaks of XDD/MSCM

峰号	来源	化合物	峰号	来源	化合物	峰号	来源	化合物
1	旋覆花	未指认	13	旋覆花	未指认	25	人参	人参皂苷 Rb ₁
2	甘草	未指认	14	旋覆花	1,5-O-二咖啡酰奎宁酸	26	旋覆花	未指认
3	旋覆花	未指认	15	旋覆花	未指认	27	旋覆花、甘草	未指认
4	旋覆花	未指认	16	旋覆花、甘草	未指认	28	甘草	未指认
5	旋覆花	未指认	17	旋覆花、甘草	未指认	29	甘草	甘草酸
6	甘草	未指认	18	甘草	未指认	30	生姜	6-姜辣素
7	甘草	甘草苷	19	人参	人参皂苷 Rg ₁	31	甘草	未指认
8	旋覆花	未指认	20	人参	人参皂苷 Re	32	甘草	未指认
9	旋覆花	未指认	21	甘草	未指认	33	甘草	未指认
10	旋覆花	未指认	22	旋覆花	1-O-乙酰旋覆花内酯	34	旋覆花	未指认
11	旋覆花	未指认	23	旋覆花	未指认	35	甘草、生姜	未指认
12	旋覆花	未指认	24	旋覆花	未指认	36	生姜	未指认

谱峰，生姜主要含挥发油和姜辣素，在本指纹图谱条件下只能检出 3 个色谱峰，代赭石是矿物药，不适用于紫外下检出，姜半夏主要含淀粉、氨基酸，而且由于经过沸水多次泡洗，其中水溶性成分有不

同程度的损失，在水煎液中含量极少，大枣中指标性成分齐墩果酸、白桦脂酸等物质极性较小，由饮片转移至水煎液的量极少，且多糖、氨基酸类物质，在此色谱条件下不能检出色谱峰。因此，代赭石、

姜半夏、大枣 3 味饮片，为本实验条件下难以获得的指纹图谱信息。

2.7 基于网络药理学的 XDD 功效关联物质预测分析

2.7.1 基于可测性及可溯性的活性成分筛选 根据文献研究，旋覆花为 XDD 君药，其主要活性成分为倍半萜及有机酸类化合物^[6]，包含 1-O-乙酰旋覆花内酯、旋覆花素及 1,5-O-二咖啡先奎宁酸等成分^[7-8]，具有抗肿瘤、抗炎等药理活性^[9-10]；人参的主要活性成分为人参皂苷，包含人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rf 等^[11-12]，具有抗炎、抗癌、抗抑郁和增强记忆力等作用^[13-14]；生姜中含 6-姜辣素、8-姜酚、10-姜酚等姜辣素类主要活性成分^[15]，具有抗氧化、改善脂质代谢、抗炎、抗肿瘤、降血糖等活性^[16-17]；甘草的化学成分以黄酮类和三萜类为主^[18]，甘草苷及甘草酸分别具有清热解毒、抗炎镇咳的功效^[19]；代赭石主要含有铁元素，是良好的补铁剂^[20]；半夏主含生物碱及氨基酸类^[21]；大枣的化学成分以多糖为主^[22]。药典标准项下 XDD 组方药味的质量控制指标为人参中的人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁，生姜中的 6-姜辣素，甘草中的甘草苷和甘草酸，另外，旋覆花、代赭石、半夏及大枣无质量控制指标，仅以药典项下的质量控制指标作为 XDD 的指标选择难以全面反映复方的整体特征及疗效。基于文献研究结合指纹图谱的可测性及可溯性，确定指纹图谱所指认的甘草苷、1,5-O-二咖啡酰奎宁酸、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、1-O-乙酰旋覆花内酯、人参皂苷 Rb₁、甘草酸、6-姜辣素等 8 个活性成分为候选化合物。通过 Pubchem Compound 化合物数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取 8 个候选化合物的 Canonical SMILES 编号，为后续 XDD “成分-靶点-通路”的网络构建做准备。

2.7.2 XDD 活性靶点预测 将 8 个成分的 Canonical SMILES 号分别导入 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 结合 Drug Bank (<https://www.drugbank.ca/>) 及 BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) 数据库，筛选 8 个成分的作用靶点，通过 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) 数据库进行靶点蛋白和基因信息校正，筛选出物种为 “homo sapiens” 的靶点，即为 8 个成分的潜在靶点，最终获得 8 个化合物共涉及 87 个作用靶点蛋白 (共计 120 次)。

将获得的 87 个靶点蛋白上传至 STRING 11.0

在线分析数据库 (<https://string-db.org>)，选择物种为 “homo sapiens”，选取最高置信度蛋白交互参数评分值 > 0.9 的蛋白互作数据，筛选到 49 个靶点，将结果以 TSV 文本格式导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络，见图 4，并利用 Cytoscape 3.7.1 软件中的 “Network Analyzer” 功能对 PPI 网络进行拓扑属性分析，计算选取介数中心性 (betweenness centrality)、接近中心性 (closeness centrality) 和度值 (degree) 3 个重要拓扑参数均大于中位数的靶点作为核心靶点，经筛选得到 11 个关键作用靶点，见表 4，其中度 (degree) 值最高的 STAT3 能与 16 个蛋白发生相互作用。

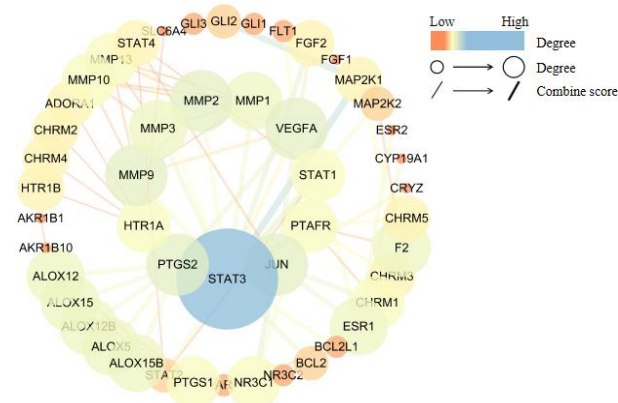


图 4 蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络

Fig. 4 PPI network

2.7.3 XDD 活性成分京都基因和基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析 采用 David v 6.7 数据库对 49 个作用靶点进行 KEGG 生物通路富集分析，根据 $P < 0.05$ 、 $FDR < 0.05$ 筛选出 22 条，见图 5，包含癌症通路、花生四烯酸代谢通路、环磷酸腺苷 (cyclic AMP, cAMP) 信号通路、磷脂酰肌醇-3-羟激酶-蛋白激酶 B (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase-protein kinase B, PI3K-Akt) 信号通路、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 信号通路及低氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1) 信号通路等，表明 49 个靶点可能通过调控这些通路发挥治疗疾病效果。

2.7.4 “成分-靶点-通路”网络构建及分析 将筛选到的 XDD 8 个活性成分、87 个作用靶点、22 条信号通路运用 Cytoscape 3.7.1 软件构建 “成分-靶点-通路”网络，见图 6。由图 6 可知，XDD 中 8 个活性成分通过作用于多靶点在不同的信号通路中

表 4 PPI 网络中的关键节点及其拓扑学性质
Table 4 Topology characteristics of hub nodes from PPI network

靶点	名称	介数中心性	接近中心性	度值
STAT3	转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3)	0.623 5	0.563 4	16
PTGS2	前列腺素 G/H 合成酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2)	0.261 5	0.416 7	7
JUN	转录因子 AP-1 (transcription factor AP-1)	0.214 1	0.454 5	7
VEGFA	血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)	0.114 5	0.465 1	7
MMP2	基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase-2)	0.028 4	0.396 0	7
MMP9	基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9)	0.028 4	0.396 0	7
MMP1	基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase-1)	0.018 0	0.388 3	6
MMP3	基质金属蛋白酶 3 (matrix metalloproteinase-3)	0.018 0	0.388 3	6
HTR1A	5-羟色胺受体 1A (5-hydroxytryptamine receptor 1A)	0.400 0	1.000 0	5
PTAFR	血小板活化因子受体 (platelet-activating factor receptor)	0.074 5	0.392 2	5
STAT1	信号转导和转录激活因子 1- α/β (signal transducer and activator of transcription 1- α/β)	0.070 7	0.416 7	5

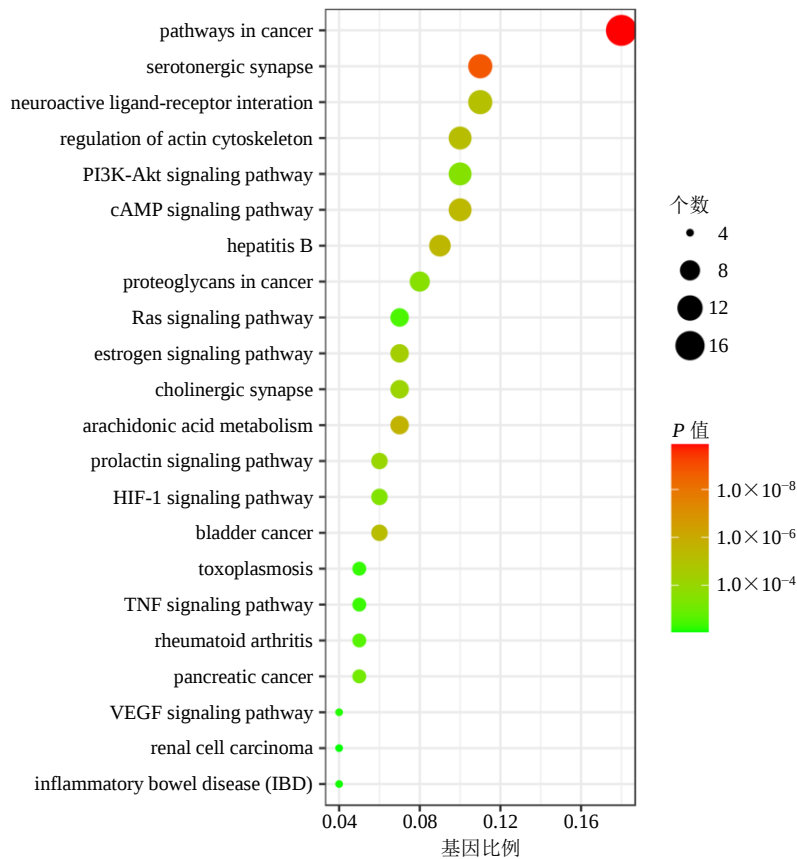


图 5 XDD KEGG 通路富集结果
Fig. 5 Enrichment results of KEGG pathway in XDD

发挥作用，且成分、靶点、通路间存在错综复杂的关系，显示了中药复方治疗疾病作用机制的复杂性。
2.7.5 整合分析 经典名方 XDD 主治胃虚痰阻气逆证，具有降逆化痰、益气和胃之功，现代药理研究表明其具有止呕及抗炎等功效，临床主要用于治疗反流性食管炎^[23-24]、胆汁反流性胃炎^[25]、顽固

性呃逆^[26-27]、化疗后呕吐^[28]、慢性咽炎^[29]、美尼尔综合征^[30]等疾病，本研究基于可测性及可溯性筛选到甘草苷、1,5-O-二咖啡酰奎宁酸、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、1-O-乙酰旋覆花内酯、人参皂苷 Rb₁、甘草酸、6-姜辣素 8 个成分，在网络数据库中筛选到 87 个潜在靶点，其中置信度蛋白交互参数评分

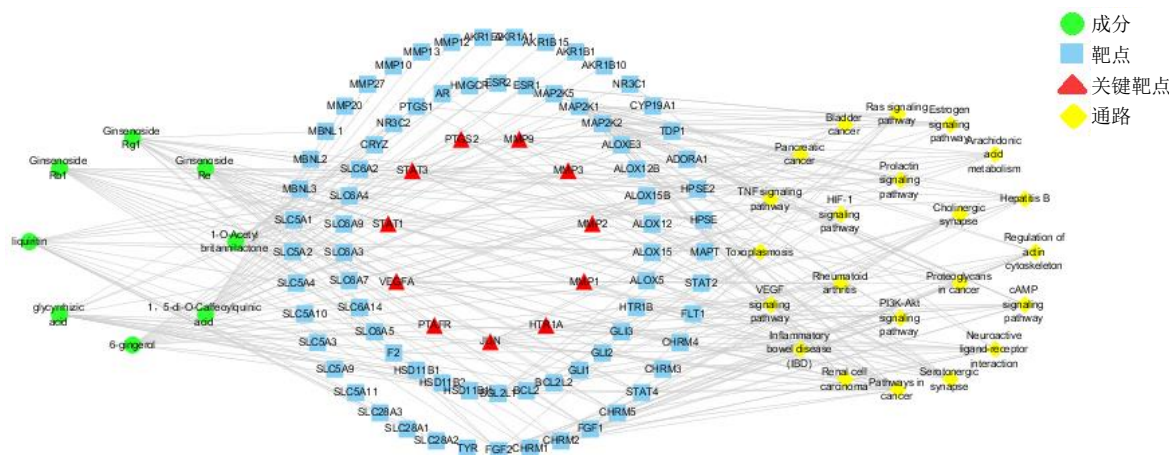


图 6 “成分-靶点-通路”网络

Fig. 6 “Component-target-pathway” network

值>0.9 的蛋白互作数据有 49 个靶点, STAT3、PTGS2、JUN、VEGFA、MMP2、MMP9、MMP1、MMP3、HTR1A、PTAFR、STAT1 共 11 个为关键靶点。其中药物可通过抑制 STAT3 靶点效应以缓解炎症肠病、胃癌等所导致的呕吐、腹泻现象^[31-32], PTGS2 靶点可作用于血管及神经系统进而缓解疼痛伴有呕吐、胃肠道消化不良等状况^[33], 基质金属蛋白酶(MMP)是一个蛋白酶家族, MMP1、MMP2、MMP3、MMP9 等被视为损伤修复、癌症侵袭、血管生成、正常组织重建的重要因子, 研究发现抑制该家族蛋白酶的表达可改善药物导致恶心、呕吐, 肝功能异常和血小板减少等副作用的产生^[31,34], 以上靶点均与 XDD 临床治疗的表型相一致。

XDD 的主要功效为止呕、抗炎。KEGG 富集分析发现, 包含癌症通路、花生四烯酸代谢通路、cAMP 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路及 HIF-1 信号通路等 22 条通路。通过对相关的通路进行整理分析发现, 其中 TNF, 又称为 TNF- α , 是一类具有多种生物效应的细胞因子, 有学者在大鼠急性反流性食管炎模型中证明了由于胃肠反流物的刺激, 食管黏膜中 TNF- α 含量增高, 并诱导中性粒细胞活化进而产生活性氧族及脂质过氧化作用, 导致食管炎症反应的发生^[35], 符小聪等^[36]研究发现癌症通路、癌症中蛋白多糖通路、PI3K-Akt 信号通路、TNF 及 HIF-1 信号通路在 XDD 治疗反流性食管炎中具有重要作用, 进一步预测 XDD 可通过以上通路治疗反流性食管炎疾病; 胆汁反流性胃炎的发生、发展与胃黏膜的炎症反应关系密切, 有研究表示胆汁反流性胃炎患者炎症因子 TNF- α 亦处于高水平^[37-38], 同时韩俊玲发现含旋覆花的中药复方一

方面直接作用于胃黏膜加强防御功能, 亦可通过调节胃黏膜 TNF- α 的表达而发挥胃黏膜保护作用, 对消除或减轻胃黏膜充血和水肿, 炎性细胞浸润、胃小凹增生以及肠上皮化生有良好的作用^[39], 另外, 花生四烯酸代谢通路是存在于血小板和胃黏膜上皮细胞的共同通路, 既往研究表明, 该通路脂质代谢物广泛参与血小板功能调控, 并与胃黏膜损伤与修复密切相关^[40], cAMP 与胆汁反流性胃炎的治疗效果呈正相关, 其可以促进细胞正常代谢, 抑制胃黏膜肠化, 增强胃黏膜屏障作用^[41], 表明 XDD 可能通过 TNF- α 、花生四烯酸、cAMP 等通路治疗胆汁反流性胃炎; HIF-1 信号通路是通过促进 HIF-1 激活与有氧糖酵解中涉及的血管生成, 红细胞生成和关键酶的调节, 参与调节平滑肌的收缩与舒张, 缓解呕吐症状的产生^[42], 预测其在顽固性呃逆的治疗中具有重要作用; PI3K-Akt 信号通路途径是人类癌症中最常见的活化异常途径, 病理激活可以通过多种机制沿着信号通路在多个水平上发生, 包括点突变, 扩增和肿瘤抑制基因的失活, 该途径也是已知的抗性途径, 因为它可以被受体酪氨酸激酶和其他癌症基因激活, PI3K-Akt 抑制剂可下调 PI3K-Akt 途径进而诱导癌细胞凋亡和衰老, 促进血小板的生成, 可以缓解化疗后呕吐等副作用症状的发生^[43-45], 可能是 XDD 治疗化疗后呕吐的关键通路。由此可见, XDD 中关键效应成分可作用于多靶点, 干预多个通路发挥止呕、抗炎的治疗效应, 进而治疗反流性食管炎、胆汁反流性胃炎、顽固性呃逆等疾病。

基于指纹图谱及网络药理学研究, 这 8 个成分具传递性及溯源性, 且与 XDD 主治功效相关, 初步预测其为 XDD 止呕及抗炎的潜在功效关联物质,

为 XDD 的质量控制指标成分选择的合理性提供参考依据。

3 讨论

本研究考察了波长、流动相组成、体积流量、柱温等 XDD 物质基准 HPLC 指纹图谱色谱条件。其中,波长的选择是本实验考虑的重点,XDD 的指纹图谱旨在同一检测波长体现全方的特征,并对其中的药味进行成分表征,且同一波长检测在单波长扫描的 HPLC 上均可方便检测,保证了分析方法建立的实用性,基于现行药典及文献梳理,对 XDD/MSCM 样品进行全波长扫描,着重考察了 203、237、254、280 nm 4 个条件下的波长,由于代赭石属于矿物药在紫外光谱中没有特征吸收峰^[46],半夏及大枣中含氨基酸及糖类等大极性分子较多^[21,47]、表征难度大,经各单味饮片煎液与 MSCM 样品对比,发现在 203 nm 下旋覆花、人参、生姜及甘草指纹轮廓均能得到表征,因此,选择 203 nm 作为 XDD 物质基准的波长。

XDD/MSCM 提取液直接进样,方中人参及生姜色谱峰面积较小,难以达到检测线,若进行浓缩则易造成杂质残留,鉴于此原因,选择以正丁醇萃取,并进行 5 倍浓缩进行供试品溶液制备,同时经比对甲醇、乙醇、正丁醇 3 种溶剂,色谱峰仅在前 3 min 出现差异,且甲醇及乙醇制备得到的样品色谱峰基线不及正丁醇,且考虑到处方中人参占比较低,较低的峰面积在紫外检测中容易产生误差,使得检测结果不稳定,因此最终确定以正丁醇为溶剂,对样品进行浓缩为供试品制备方法。

通过建立 XDD/MSCMHPLC 指纹图谱,首次全面表征了经典名方旋覆代赭汤的整体样貌,同时对比 MSCM 样品与各饮片单煎液及缺单味饮片阴性煎液样品,明晰共有峰的归属,在归属分析中某些共有峰为多味饮片所共有,进一步表明中药化学成分及复方配伍的复杂性。

同时将网络药理学与指纹图谱相结合,运用网络数据库建立“成分-靶点-通路”网络拓扑结构,揭示 XDD 功效关联性的物质基础,同时,为 XDD 发挥止呕、抗炎作用机制的阐释提供了思路,为 XDD 质量控制指标成分选择的合理性进行了验证。

本研究所建立的 XDD/MSCM HPLC 指纹图谱分析方法,以普适性及科学性较高的液相色谱为技术手段,综合考虑各味饮片的特性,对复方整体化学轮廓进行表征,建立 XDD/MSCM 指纹图谱质量

控制方法,并结合网络药理学对其止呕及抗炎的功效关联物质进行了预测,为 XDD 整体质量控制及后续的制剂开发与研究奠定基础,保证制剂产品达到与原方发挥临床疗效的内在一致性,同时为经典名方的质量标准研究提供参考。

方中难以获得代赭石、姜半夏、大枣色谱峰信息,由于代赭石为矿物药,姜半夏和大枣分别含氨基酸及多糖类成分,分析难度大,且姜半夏及大枣饮片在中药复方的研究中均存在无法表征的难题,在研究中曾尝试运用薄层色谱进行表征,但阴性中均存在干扰,后续研究计划对代赭石运用原子吸收光谱测定铁元素,将尝试对姜半夏在大极性流动相比例中进行单独摸索以表征其中的氨基酸类成分,对大枣中的多糖水解及衍生化处理,以体现大枣在复方中的痕迹,同时,亦可选取优质代赭石、半夏、大枣药材,配合规范的制备过程管理,标准化的工艺参数控制其饮片质量,有助于控制 XDD 质量,为经典名方 XDD 的进一步研究提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方目录(第一批)》的通知 [EB/OL]. 2018-04-16. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [2] 国家药品监督管理局. 国家药监局综合司公开征求古代经典名方中药复方制剂及其物质基准申报资料要求(征求意见稿)意见 [Z]. 2019.
- [3] 张仲景. 伤寒论 [M]. 河南: 河南科学技术出版社, 2017: 29-30.
- [4] 崔亚, 姜礼双, 卜平. 旋覆代赭汤实验研究及临床应用进展 [J]. 江苏中医药, 2018, 50(1): 82-85.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 22-23.
- [6] 王玉梅. 欧亚旋覆花化学成分及其生物活性的研究进展 [J]. 西部中医药, 2020, 33(1): 147-151.
- [7] 李艳平, 许明亮, 田莲超, 等. 旋覆花化学成分研究 [J]. 云南民族大学学报: 自然科学版, 2017, 26(1): 1-4.
- [8] Wang F, Li H, Qiao J O. 1OAcetylbritannilactone combined with gemcitabine elicits growth inhibition and apoptosis in A549 human nonsmall cell lung cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(4): 5568-5572.
- [9] Kim K C, Kim D J, Lee M S, et al. Inhibition of human neutrophil elastase by sesquiterpene lactone dimers from the flowers of *Inula britannica* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2018, 28(11): 1806-1813.
- [10] Jang D K, Lee I S, Shin H S, et al. 2 α -Hydroxyeudesma-4,11(13)-dien-8 β ,12-olide isolated from *Inula britannica*

- induces apoptosis in diffuse large B-cell lymphoma cells [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): E324.
- [11] 王世伦, 金键. 人参主要化学成分及皂苷提取方法研究进展 [J]. 人参研究, 2019, 31(3): 54-57.
- [12] 高健, 吕邵娃. 人参化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药导报, 2021, 27(1): 127-130.
- [13] Jang M, Choi J H, Chang Y, et al. Gintonin, a ginseng-derived ingredient, as a novel therapeutic strategy for Huntington's disease: Activation of the Nrf2 pathway through lysophosphatidic acid receptors [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 80: 146-162.
- [14] Jin S, Jeon J H, Lee S, et al. Detection of 13 ginsenosides (Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₃, Rh₂, F₁, compound K, 20(S)-protopanaxadiol, and 20(S)-protopanaxatriol) in human plasma and application of the analytical method to human pharmacokinetic studies following two week-repeated administration of red ginseng extract [J]. *Molecules*, 2019, 24(14): E2618.
- [15] 赵文竹, 张瑞雪, 于志鹏, 等. 生姜的化学成分及生物活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(11): 383-389.
- [16] Choi J G, Kim S Y, Jeong M, et al. Pharmacotherapeutic potential of ginger and its compounds in age-related neurological disorders [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 182: 56-69.
- [17] Kiyama R. Nutritional implications of ginger: Chemistry, biological activities and signaling pathways [J]. *J Nutr Biochem*, 2020, 86: 108486.
- [18] 孙琛. 甘草的化学成分研究进展 [J]. 科技资讯, 2020, 18(2): 64-65.
- [19] 许金国, 黄紫炎, 沈钱能, 等. 经典名方竹茹汤的指纹图谱及功效关联物质预测分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5599-5606.
- [20] 姚鹏宇, 程广清, 刘博一, 等. 代赭石在五官科中的应用 [J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(3): 65-67.
- [21] 王依明, 王秋红. 半夏的化学成分、药理作用及毒性研究进展 [J]. 中国药房, 2020, 31(21): 2676-2682.
- [22] 曾杉, 甘伟发, 史紫娟. 不同产地的大枣药材 UPLC 指纹图谱及含量测定方法研究 [J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(4): 458-462.
- [23] 刘亚婷, 刘菊, 苗嘉萌, 等. 旋覆代赭汤对反流性食管炎大鼠模型 TLR4/NF- κ B 的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(1): 80-84.
- [24] 田晶晶, 杨幼新, 袁红霞, 等. 基于气机升降理论观察旋覆代赭汤及其拆方对反流性食管炎模型大鼠食管线粒体 ANT 转运活性的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(8): 1758-1761.
- [25] 秦伟. 旋覆代赭汤合左金丸加减治疗胆汁反流性胃炎疗效观察 [J]. 实用中医药杂志, 2018, 34(8): 913-914.
- [26] 周学文, 王丹, 苑方方, 等. 针灸结合旋覆代赭汤治疗顽固性呃逆疗效观察 [J]. 实用中医药杂志, 2020, 36(1): 15-16.
- [27] 赖立贵. 盐酸山莨菪碱联合旋覆代赭汤治疗顽固性呃逆的效果分析 [J]. 当代医药论丛, 2020, 18(5): 161-162.
- [28] 林霜. 耳穴压豆联合旋覆代赭汤口服防治乳腺癌化疗后恶心呕吐的临床观察 [J]. 中医临床研究, 2019, 11(2): 114-115.
- [29] 张彦, 张林, 秦雯. 旋覆代赭汤加减治疗慢性咽炎 97 例 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 264-265.
- [30] 管寿明, 徐安姝. 旋覆代赭汤加减治疗美尼尔综合征 32 例 [J]. 浙江中医杂志, 2012, 47(9): 633.
- [31] Kim A, Im M, Yim N H, et al. Aqueous extract of *Bambusae Caulis* in Taeniam inhibits PMA-induced tumor cell invasion and pulmonary metastasis: Suppression of NF- κ B activation through ROS signaling [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e78061. DOI: 10.1371/journal.pone.0078061.
- [32] Oh D Y, Lee S H, Han S W, et al. Phase I study of OPB-31121, an oral STAT3 inhibitor, in patients with advanced solid tumors [J]. *Cancer Res Treat*, 2015, 47(4): 607-615.
- [33] Li Y, Zhang J X, Zhang L L, et al. Systems pharmacology to decipher the combinational anti-migraine effects of Tianshu formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 174: 45-56.
- [34] Guo J C, Li W J, Wu Y X, et al. Meclizine prevents ovariectomy-induced bone loss and inhibits osteoclastogenesis partially by upregulating PXR [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 693.
- [35] Yamaguchi T, Yoshida N, Tomatsuri N, et al. Cytokine-induced neutrophil accumulation in the pathogenesis of acute reflux esophagitis in rats [J]. *Int J Mol Med*, 2005, 16(1): 71-77.
- [36] 符小聪, 张涛, 赖冬萍, 等. 基于数据挖掘和网络药理学分析旋覆代赭汤治疗反流性食管炎的效用机制 [J]. 江西中医药, 2021, 52(4): 69-74.
- [37] Guan Yj T H W S. Clinical effect of Chaihu Guizhi Ganjiang decoction combined with Lizhong Pill plus acupuncture on bile reflux gastritis and its influence on serum inflammatory factors [J]. *Clin Med Res*, 2020, 38(2): 231-233.
- [38] 贾国昌. 老年腹腔镜胆囊切除术后患者血清 CCK、GAS 及 TNF- α 水平与胆汁反流性胃炎的关系 [J]. 实验与检验医学, 2021, 39(1): 198-201.
- [39] 韩俊岭, 姚树坤, 殷飞. 清热理气冲剂对实验性胆汁反

- 流性胃炎大鼠细胞因子的影响 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2006, 15(1): 77-81.
- [40] 王文婷. 三七总皂苷和阿司匹林基于花生四烯酸通路相互作用的机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [41] 孟静岩, 徐东琴, 张斌, 等. 脾虚型慢性胃炎动物模型环核苷酸含量变化的观察 [J]. 天津中医, 1994, 11(2): 27-28.
- [42] Courtney R, Ngo D C, Malik N, *et al.* Cancer metabolism and the Warburg effect: The role of HIF-1 and PI3K [J]. *Mol Biol Rep*, 2015, 42(4): 841-851.
- [43] Khan K H, Yap T A, Yan L, *et al.* Targeting the PI3K-AKT-mTOR signaling network in cancer [J]. *Chin J Cancer*, 2013, 32(5): 253-265.
- [44] Lien E C, Dibble C C, Toker A. PI3K signaling in cancer: Beyond AKT [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 45: 62-71.
- [45] Kashafi E, Moradzadeh M, Mohamadkhani A, *et al.* Kaempferol increases apoptosis in human cervical cancer HeLa cells via PI3K/AKT and telomerase pathways [J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2017, 89: 573-577.
- [46] 陈虹, 夏晶, 杨新华, 等. 赭石质量标准研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(6): 851-855.
- [47] 郭盛, 唐于平, 段金廛, 等. 大枣的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2009, 7(2): 115-118.

[责任编辑 郑礼胜]