

## 复方芩兰口服液的体内外成分分析和网络药理学研究

许雅婧<sup>1</sup>, 乐心逸<sup>1</sup>, 葛一蒙<sup>2</sup>, 沈龙海<sup>1</sup>, 吴彤<sup>1</sup>, 李默影<sup>1,3\*</sup>

1. 上海医药工业研究院 创新药物与制药工艺国家重点实验室, 上海 200437

2. 黑龙江珍宝岛药业股份有限公司, 黑龙江 虎林 158400

3. 江南大学 粮食发酵与食品生物制造国家工程研究中心, 江苏 无锡 214122

**摘要:** **目的** 采用液质联用技术对复方芩兰口服液的主要化学成分及其进入血液和组织中的成分进行鉴定, 并选择主要的体内成分开展网络药理学研究, 初步揭示其作用机制。 **方法** 采用 UPLC-Q-TOF-MS 结合 MS<sup>E</sup> 技术进行复方芩兰口服液、血液和组织样本分析, 结合精确相对分子质量、保留时间、碎片离子、中性丢失等信息进行复方芩兰口服液的化学成分和体内成分鉴定。利用 Cytoscape 软件分别构建复方芩兰口服液主要体内成分与其功能主治(感冒、发热、咳嗽、咽痛)之间的“化合物-靶点”作用网络, 开展核心靶点和作用通路分析, 并采用实时荧光定量 PCR 对核心靶点中的 3 个热休克蛋白(HSP90AA1、HSP90AB1、HSPA8)进行生物学验证。 **结果** 大鼠 ig 给药后在血液样本中检测到 3 个原型成分和 9 个代谢产物, 组织样本中检测到 3 个原型成分和 5 个代谢产物, 代谢产物主要为葡萄糖醛酸结合物。网络药理学研究结果提示复方芩兰口服液的作用通路主要与炎症和免疫相关, 且生物学验证结果表明上呼吸道感染大鼠肺脏组织中 HSP90AA1、HSP90AB1、HSPA8 的 mRNA 表达在给予复方芩兰口服液后显著上调 ( $P < 0.01$ )。 **结论** 利用 UPLC-Q-TOF-MS 分析复方芩兰口服液的体内外成分并进行网络药理学研究, 初步明确了复方芩兰口服液的作用靶点和通路, 并选择 3 个关键靶点进行生物学验证。研究结果为进一步揭示其药效物质基础和作用机制提供科学依据。

**关键词:** 复方芩兰口服液; UPLC-Q-TOF-MS; 体内成分; 网络药理学; “化合物-靶点”作用网络

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)09-2623-10

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.09.004

## *In vivo* and *in vitro* component analysis and network pharmacology study of Fufang Qinlan Oral Liquid

XU Ya-jing<sup>1</sup>, YUE Xin-yi<sup>1</sup>, GE Yi-meng<sup>2</sup>, SHEN Long-hai<sup>1</sup>, WU Tong<sup>1</sup>, LI Mo-ying<sup>1,3</sup>

1. State Key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China

2. Heilongjiang Zhenbaodao Pharmaceutical Co., Ltd., Hulin 158400, China

3. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

**Abstract: Objective** Liquid mass spectrometry was used to identify the chemical constituents of Fufang Qinlan Oral Liquid (复方芩兰口服液) and its metabolites in rat. The main *in vivo* components were selected for network pharmacological and the mechanism was initially revealed. **Methods** Fufang Qinlan Oral Liquid, serum and tissue samples were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS combined with MS<sup>E</sup> technique, and the identification of *in vivo* and *in vitro* components were carried out with the information of precise molecular weight, retention time, fragment ions and neutral loss. Cytoscape software was used to construct the “compound-target” network between the main *in vivo* components and the main clinical indications (cold, fever, cough and sore throat). Core targets and pathway analysis were also conducted, in which HSP90AA1, HSP90AB1 and HSPA8 were measured by realtime PCR. **Results** Three prototype components and nine metabolites were characterized in rat serum after ig administration, so as three prototype components and five metabolites in rat tissues. The metabolites were mainly glucuronide conjugates. The results of network pharmacology indicated that the pathways of Fufang Qinlan Oral Liquid were mainly related to inflammation and immunity. Compared with model rats, the expression of HSP90AA1, HSP90AB1, and HSPA8 was significantly increased after intragastric

收稿日期: 2021-11-12

作者简介: 许雅婧, 女, 硕士研究生, 研究方向为生药学专业。E-mail: 1796958002@qq.com

\*通信作者: 李默影, 女, 博士, 从事天然药物活性成分及作用机制研究。E-mail: wuweisong2009@126.com

administration of Fufang Qinlan Oral Liquid ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The *in vivo* components were preliminarily analyzed after oral administration of Fufang Qinlan Oral Liquid by UPLC-Q-TOF-MS and the network pharmacology study was then carried out, which initially clarified the targets and pathways. The studies provided scientific basis for pharmacodynamic material basis and mechanism of Fufang Qinlan Oral Liquid.

**Key words:** Fufang Qinlan Oral Liquid; UPLC-Q-TOF-MS; *in vivo* metabolite; network pharmacology; “compound-target” network

中药复方是中医药临床应用的主要形式，集中体现了“辨证论治，辅以补中”的治疗原则。由于复方的多成分、多靶点和协同效应，为其作用机制的科学阐述带来了较大困难。网络药理学作为近年来研究中药复方作用机制的新兴学科，使用多种分析工具从大量数据库中提取成分和靶点相关信息，通过建立复方中目标成分对于相关疾病的调控网络，从而揭示复方的作用机制。复方芩兰口服液由金银花、黄芩、连翘、板蓝根4味药材制成，辛凉解表，清热解毒，用于外感风热引起的发热、咳嗽、咽痛<sup>[1-2]</sup>。虽然前期分析表明复方芩兰口服液成分较为复杂，但只有经消化道直接吸收入血或者经消化道分解成为代谢产物吸收入血，到达靶器官或靶点才能发挥相应的药效。因此本研究首先采用UPLC-Q-TOF-MS对复方芩兰口服液进入正常大鼠的血液和器官组织（肝、心、脾、肺、肾）中的成分进行鉴定，以明确其潜在活性成分，再以此作为目标成分分别构建相对于感冒、发热、咳嗽和咽痛的“化合物-靶点”作用网络，筛选出核心靶点进行通路分析及生物学验证，初步揭示复方芩兰口服液的作用机制。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters Acquity™ 超高效液相色谱系统（美国 Waters 公司），配置二元泵，自动进样器和 PDA 检测器；Waters Xevo G2 单四级杆飞行时间质谱仪配置电喷雾电离源（美国 Waters 公司）；Merck Milli-Q 超纯水机（美国 Millipore 公司）；MS105DU 型微量天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）；H1850R 型台式高速冷冻离心机（长沙湘仪离心机仪器有限公司）；XH-D 型旋涡混合器（上海汗诺仪器有限公司）；DC-12 氮吹仪（上海安谱科学仪器有限公司）；SK250HP 型超声波清洗器（250 W、53 kHz，上海科导超声仪器有限公司）；T 10 basic ULTRA-TURRAX 组织匀浆器（德国 IKA 集团）；ABI Stepone plus 型荧光定量 PCR 仪（美国 Thermo 公司）。

### 1.2 样品与试剂

复方芩兰口服液（批号 B14200301）由黑龙江

珍宝岛药业股份有限公司提供。孟鲁司特钠咀嚼片（鲁南贝特制药有限公司，批号 16201201）购自上海复美大药房；大前门香烟购自上海烟草集团有限责任公司；脂多糖（LPS）试剂（批号 13F-4020）购自 Sigma 公司；辣椒素（批号 93CHRUYK）购自安耐吉化学。对照品蔗糖（批号 111507-201704）、绿原酸（批号 110753-201716）、连翘苷（批号 110821-201615）购自中国食品药品检定研究院；黄芩苷（批号 4245）、汉黄芩苷（批号 5744）、连翘酯苷 E（批号 6982）、黄芩素（批号 3634）、毛蕊花糖苷（批号 3632）购自上海诗丹德生物技术有限公司；新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 均为实验室自制，所有对照品质量分数均大于 98.0%。

RNA 提取液（Servicebio, G3013）、荧光定量试剂盒（Roche, 04913914001）、反转录试剂盒（Thermo, #K1622）购自武汉塞维尔生物科技有限公司；乙腈（LC-MS 级）、甲酸（LC-MS 级）均购自赛默飞世尔科技公司；水为超纯水；其他试剂均为分析纯。

### 1.3 实验动物

雄性 SD 大鼠（SPF 级，体质量 180~200 g）购自上海斯莱克实验动物责任有限公司，生产许可证号：SCXK（沪）2012-2002，使用许可证号：SYXK（沪）2009-0068，饲养于上海医药工业研究院药理评价研究中心。实验前均适应性喂养 7 d [湿度（50±10）%；温度（25±2）℃；12 h 昼夜循环]，可自由获取食物和饮用水。动物实验由上海医药工业研究院药理评价研究中心实验动物伦理委员会审查并批准（批件号 FW2020-290）。

## 2 方法

### 2.1 体内外成分分析

**2.1.1 供试品溶液的制备** 精密吸取复方芩兰口服液 2 mL，加水稀释并定容至 10 mL 量瓶中，滤过，取续滤液，即得。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 取 13 种对照品适量，分别加入水或甲醇使溶解，分别配制成质量浓度为 0.1

mg/mL 的对照品溶液。

**2.1.3 动物试验分组、给药及样本处理** 12只大鼠随机分为对照组和复方芩兰口服液组,实验前12h禁食不禁水。按31.5 mL/kg (5倍人用临床剂量折算) ig 给药,对照组给予等体积的生理盐水。给药2h分别于眼底静脉丛取血后将动物处死,迅速取出心、肝、脾、肺、肾。血浆于4000 r/min离心10 min,取上清液;组织样本用生理盐水冲洗表面,吸干水分,加入3倍量冰生理盐水,用组织匀浆器匀浆,得组织匀浆液;样本均于-80℃冰箱保存。

分别精密移取大鼠血清和各组织匀浆液500 μL,加入1 mol/L 盐酸50 μL,涡旋60 s,再精密加入1.5 mL 甲醇-乙腈(1:1)的混合液,涡旋60 s,12 000 r/min于4℃离心15 min,取上清液氮气吹干,残渣加入100 μL 甲醇复溶,涡旋60 s,12 000 r/min于4℃离心10 min,取上清液,备用。

#### 2.1.4 液质联用条件

(1) 色谱条件: Waters ACQUITY T3 C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: 0.1% 甲酸水(A)-0.1% 甲酸乙腈(B); 柱温为35℃; 体积流量0.3 mL/min; 进样量: 5 μL; 梯度洗脱: 0~3 min, 100% A; 3~8 min, 100%→95% A; 8~12 min, 95%→85% A; 12~18 min, 85%→75% A; 18~25 min, 75%→50% A; 25~27 min, 50%→20% A; 27~28 min, 20%→100% A; 28~30 min, 100% A。

(2) 质谱条件: Xevo G2-XS Q-TOF-MS 系统, ESI 电离源, 正、负离子模式。MS 参数设置: 质量扫描范围为50~1500; 干燥气(N<sub>2</sub>) 体积流量为500 L/h, 温度400℃; 电离源温度120℃; 锥孔气体积流量为100 L/h, 电压为40 V; 毛细管电压为3.5 kV。在MS<sup>E</sup> 模式下, 低碰撞能为6 eV, 高碰撞能为25~60 eV。亮氨酸脑啡肽溶液(0.2 ng/mL) 作为外标溶液对质量进行实时校正, 体积流量为5 μL/min, 在负离子模式下  $m/z$  554.261 5 [M-H]<sup>-</sup>, 正离子模式下  $m/z$  556.277 1 [M+H]<sup>+</sup>。

**2.1.5 数据采集及分析** 采用 Masslynx 4.1 软件进行数据采集并提取各主要质谱峰的信息, 根据对照品比对或参考 MassBank (<http://www.massbank.jp/>) 数据库中检索得到的质谱图, 结合保留时间、准分子离子峰、碎片离子、中性丢失等综合分析, 进行复方芩兰口服液的化学成分鉴定。对给药组和对照组样本进行对比分析, 提取两组间差异性

质谱峰的信息, 依据原型成分的裂解碎片及可能的代谢途径, 结合保留时间、精确相对分子质量和碎片离子等信息, 进行复方芩兰口服液的体内成分鉴定。

## 2.2 网络药理学研究

**2.2.1 靶点预测** 以复方芩兰口服液体内成分相关化合物黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、连翘酸、连翘酯苷 E、绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B 和异绿原酸 C 作为目标成分, 利用中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP, <http://ibts.hkbu.edu.hk/>)、Swiss (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、STITCH (<http://stitch.embl.de/>) 检索相关靶点。以感冒、发热、咳嗽、咽痛作为复方芩兰口服液的主要适应症, 应用 TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>) 和 OMIM (<https://omim.org/>) 检索相关靶点。分别去除各数据库重复靶点后在 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) 中逐一查询各靶点所对应的基因名称并汇总。

**2.2.2 蛋白-蛋白相互作用 (protein protein interaction, PPI) 网络构建** 将检索结果按照格式要求整理后导入 Cytoscape 3.8.0 软件, 利用 Bisogenet 插件分别构建各目标成分相关靶点和各适应症相关靶点的 PPI 图。由于该插件由多个蛋白质相互作用关系数据库构成, 可以在已知靶点的基础上进行广泛的拓展。PPI 网络中的节点 (node) 代表潜在靶点, 边 (edge) 则代表靶点间的相互作用。

**2.2.3 核心靶点筛选及网络构建** 分别对各目标成分 PPI 与各适应症 PPI 取交集, 采用 CytoNCA 插件计算交集靶点的节点连接度 (degree) 并以其中位数的 2 倍为卡值<sup>[3]</sup>, 从中筛选出核心靶点, 分别构建复方芩兰口服液各适应症的“化合物-靶点”作用网络。

**2.2.4 通路富集** 利用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) 分别对复方芩兰口服液作用于各适应症的主要靶点进行通路富集分析。

## 2.3 生物学验证

通过网络药理学分析, 选择与复方芩兰口服液 4 种适应症均密切相关的 HSP 系列蛋白 (HSP90AA1、HSP90AB1、HSPA8), 采用实时荧光定量 PCR 进行靶点验证。

**2.3.1 动物分组、造模及给药** 30只大鼠随机分组, 其中对照组、模型组各7只, 复方芩兰口服液组、

阳性药组各 8 只。除对照组外, 其余 3 组大鼠均置于烟熏室进行烟熏造模, 每次 10 只进行烟熏 20 min, 每日 2 次, 连续 10 d。分别于第 1、3、7、10 天采用 LPS 诱导上呼吸道感染, 方法为大鼠每次滴鼻吸入 1 mg/mL LPS 溶液, 每只大鼠 0.2 mL。之后于第 11~14 天采用辣椒素雾化对大鼠进行呼吸道刺激, 5 min/d。

造模后各组大鼠均正常饲养 1 周, 于第 8 天开始, 复方芩兰口服液组和阳性药组分别按照 6 mL/kg 和 0.5 mg/kg (按照临床人用剂量折算) ig 给予复方芩兰口服液和孟鲁司特钠, 1 次/d, 连续 7 d; 同时对照组和模型组每日给予相同体积的生理盐水。给药结束次日将所有大鼠以 7% 水合氯醛麻醉并处死, 取大鼠肺部组织样本, 处理同“2.1.3”项, 于 -80 °C 保存。

**2.3.2 PCR 检测** 引物设计交由武汉塞维尔生物科技有限公司完成, 以 GADPH (5'-CTGGAGAAA-CCTGCCAAGTATG-3', 5'-GGTGAAGAATGGGAGTTGCT-3') 作为内参基因, 目的序列分别为: HSP90AA1 (5'-GCAAGACCGAACCTCACTATT-3', 5'-CCATTGGTTCACCTGTGTCT-3'); HSP90AB1 (5'-TCAACTTCATCCGTGGTGTGG-3', 5'-GACTG-AGAGGTATGGTAGCGAAG-3'); HSPA8 (5'-AGG-ATTTGCTGCTCTTGGATGT-3'; 5'-AAGCAGGTTG-TTGTCTTGGTC-3')。

取 -80 °C 冻存的大鼠肺脏, 每 100 毫克加入 1 mL Trizol 提取 RNA, 反转录合成 cDNA, 以 cDNA 为模板进行实时荧光定量 PCR 检测。PCR 扩增条件为 95 °C、10 min 1 个循环; 95 °C、15 s, 60 °C、60 s, 40 个循环, PCR 仪采集荧光信号, 熔解曲线为从 60 °C 升至 95 °C 时, 每 15 秒升温 0.3 °C。以 GAPDH 为内参基因, 通过  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法对内参基因  $C_t$  值与待检基因  $C_t$  值进行计算, 得出样本间表达量差异倍数关系。

### 3 结果

#### 3.1 体内外成分鉴定结果

**3.1.1 化学成分鉴定结果** 复方芩兰口服液在正、负离子模式下的总离子流图如图 1 所示。共鉴定出 32 个主要化合物, 包括 9 个有机酸类 (奎宁酸、柠檬酸、咖啡酸、绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C)、5 个环烯醚萜类 (去乙酰车叶草苷酸、五福花苷酸、山梔子苷 B、梔子新苷、断氧化马钱苷)、6 个黄酮类 (山柰酚-3-O-芸香糖苷、黄芩苷、千层纸素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素)、2 个苯乙醇苷类 (3,4-二羟基苯乙醇苷、连翘酯苷 E)、2 个环己醇苷类 (连翘环己醇苷 B、连翘酸-1'-O-β-D-葡萄糖苷)、2 个苯丙素类 (毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷)、1 个木脂素类 (连翘苷) 和 5 个其他类 (精氨酸、蔗糖、氧化脯氨酸、腺苷、鸟苷)。具体见表 1。

**3.1.2 入血成分鉴定** 对照组和给药组大鼠血清在正、负离子模式下的总离子流图见图 2, 共鉴定 12 个入血成分 (表 2), 包括 3 个原型成分: 连翘酯苷 E (M2)、黄芩苷 (M8)、汉黄芩苷 (M11) 和 9 个代谢产物。推测连翘酸-1'-O-β-D 葡萄糖苷在大鼠体内经过 I 相反应中的水解代谢成为苷元连翘酸 (M1)。咖啡酰奎宁酸类化合物 (绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C) 经 I 相反应中的水解代谢成为咖啡酸, 再经过 II 相反应中的葡糖醛酸化形成咖啡酸葡萄糖醛酸结合物。结合参考文献中的保留时间, 鉴定 M3 和 M4 分别为咖啡酸-4-O-β-D-葡萄糖醛酸和咖啡酸-3-O-β-D-葡萄糖醛酸<sup>[4]</sup>。黄芩苷经 I 相反应中的水解形成黄芩素, 其 5-OH、6-OH 和 7-OH 为代谢活性位点, 再经 II 相反应中的葡糖醛酸化形成单葡萄糖醛酸和双葡萄糖醛酸代谢产物。结合参考文献, 鉴定黄芩素-5,7-二葡萄糖醛酸苷 (M5)、黄芩素-5,6-二葡萄糖醛酸苷 (M6)、黄芩素-6,7-二葡萄糖醛酸

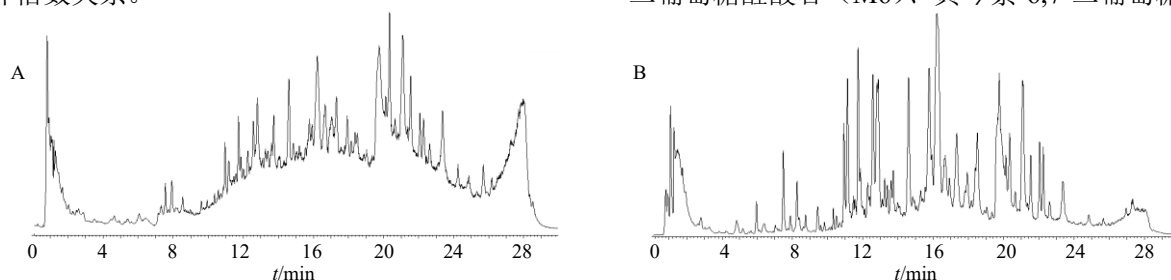


图 1 复方芩兰口服液在正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 下的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of Fufang Qinlan Oral Liquid in positive (A) and negative (B) ion mode

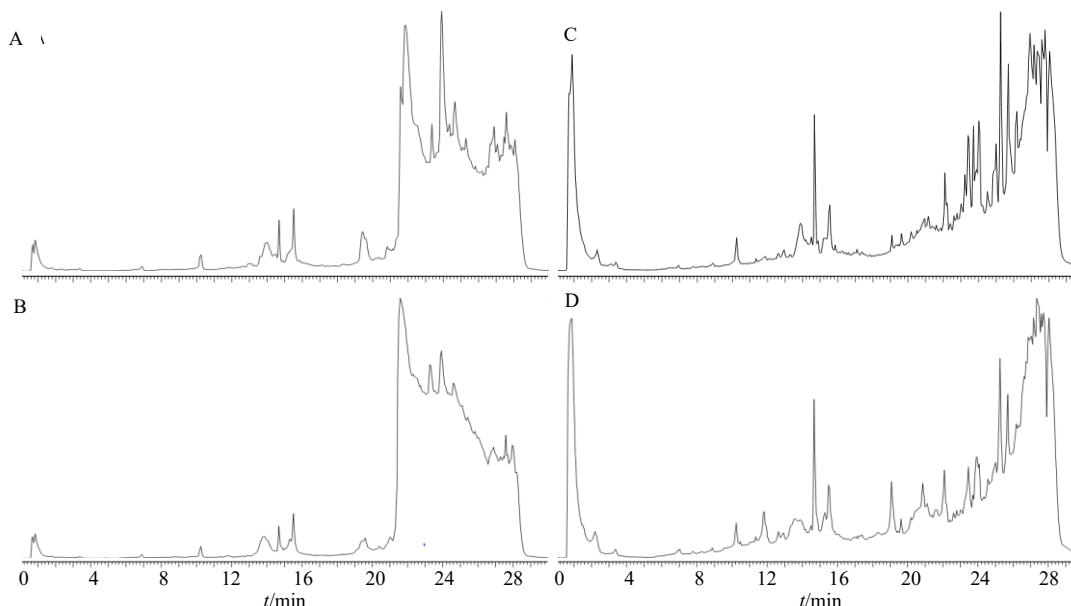
表 1 复方芩兰口服液中鉴定的化学成分

Table 1 Identification of the chemical constituents in Fufang Qinlan Oral Liquid

峰号	$t_R/min$	分子式	准分子离子	$m/z$		误差 ( $\times 10^{-6}$ )	碎片离子	鉴定结果
				实测值	理论值			
1	0.87	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	175.120 1	175.119 5	3.43	158 [M+H-OH] <sup>+</sup>	精氨酸
2	1.28	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	341.108 6	341.108 4	0.59	387 [M+COOH] <sup>-</sup>	蔗糖*
3	1.92	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	191.018 9	191.019 2	-1.57	173 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 111 [M-COOH-2H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	柠檬酸
4	2.15	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	130.050 1	130.050 4	-2.38	84 [M-COOH] <sup>+</sup>	氧化脯氨酸
5	6.41	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	191.055 4	191.055 6	-1.05	85 [M-H-CO-2H <sub>2</sub> O-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	奎宁酸
6	7.52	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	315.107 6	315.108 0	-1.27	361 [M+COOH] <sup>-</sup> , 135 [M-H-Glc-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	3,4-二羟基苯乙醇苷
7	7.92	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	268.103 9	268.104 6	-2.61	136 [M+H-Rib] <sup>+</sup>	腺苷
8	7.95	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	284.099 7	284.099 4	0.74	152 [M+H-Rib] <sup>+</sup>	鸟苷
9	8.24	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O <sub>8</sub>	[M+COOH] <sup>-</sup>	365.144 6	365.144 8	-0.47	319 [M-H] <sup>-</sup> , 161 [M-C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	连翘环己醇苷 B
10	8.74	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	335.134 3	335.134 2	0.30	155 [M-H-Glc-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	连翘酸-1'-O-β-D-葡萄糖苷
11	9.82	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	389.108 5	389.108 4	0.26	227 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 191 [M-H-Glc-2H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	去乙酰车叶草苷酸
12	10.93	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	375.129 2	375.129 1	0.21	213 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 151 [M-H-Glc-H <sub>2</sub> O-COO] <sup>-</sup>	五福花苷酸
13	11.13	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	353.087 5	353.087 3	0.57	191 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	新绿原酸*
14	11.73	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	461.166 3	461.165 9	0.87	315 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 205 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> -Rha] <sup>-</sup> , 163 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> -Glc] <sup>-</sup> , 135 [M-H-Glc-Rha-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	连翘酯苷 E*
15	12.59	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	353.086 4	353.087 3	-2.55	191 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	绿原酸*
16	12.79	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	373.113 7	373.113 5	0.62	193 [M-H-Glc-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	栀子新苷
17	12.89	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	353.087 7	353.087 3	1.27	173 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	隐绿原酸*
18	13.23	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	179.033 4	179.034 4	-5.59	135 [M-H-COO] <sup>-</sup>	咖啡酸
19	13.73	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	403.122 9	403.124 0	-2.73	241 [M-H-Glc] <sup>-</sup>	断氧化马钱子苷
20	14.61	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	403.124 0	403.124 0	0	223 [M-H-Glc-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	山栀子苷 B
21	15.76	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	623.198 2	623.197 6	0.98	477 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 461 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 443 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	异毛蕊花糖苷
22	16.23	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	623.198 2	623.197 6	0.98	477 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 461 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 443 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	毛蕊花糖苷*
23	16.60	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	593.151 3	593.150 6	1.11	447 [M-H-Rha] <sup>-</sup> , 285 [M-H-Rha-Glc] <sup>-</sup>	山柰酚-3-O-芸香糖苷
24	17.36	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	515.119 5	515.119 0	1.07	353 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 173 [M-H-2C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	异绿原酸 B*
25	17.95	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>13</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	515.119 5	515.119 0	1.07	353 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 173 [M-H-2C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	异绿原酸 A*
26	18.49	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>14</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	515.119 5	515.119 0	1.07	353 [M-H-C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> , 173 [M-H-2C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	异绿原酸 C*
27	19.75	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	445.077 4	445.077 1	0.72	269 [M-H-GluA] <sup>-</sup>	黄芩苷*
28	20.35	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>11</sub>	[M+COOH] <sup>-</sup>	579.208 2	579.207 8	0.76	371 [M-H-Glc] <sup>-</sup>	连翘苷*
29	20.63	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>12</sub>	[M+COOH] <sup>-</sup>	579.209 7	579.207 8	3.35	371 [M-H-Glc] <sup>-</sup> , 356 [M-H-Glc-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	千层纸素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷
30	21.07	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	459.093 1	459.092 7	0.81	283 [M-H-GluA] <sup>-</sup> , 268 [M-H-GluA-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	汉黄芩苷*
31	23.36	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	269.045 1	269.045 0	0.41	251 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup>	黄芩素*
32	24.96	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	283.059 5	283.060 6	-3.89	268 [M-H-CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	汉黄芩素

\*由对照品确定; Glc-葡萄糖取代基 Rib-核糖取代基 Rha-鼠李糖取代基 GluA-葡萄糖醛酸取代基

\*The identification was confirmed with standards; Glc-glucoside Rib-ribosyl Rha-rhamnoside GluA-glucuronic acid



A-空白血清正离子模式 B-含药血清正离子模式 C-空白血清负离子模式 D-含药血清负离子模式  
 A-blank serum in positive ion mode B-administration serum in positive ion mode C-blank serum in negative ion mode D-administration serum in negative ion mode

图2 血清样本在正/负离子模式下的总离子流图

Fig. 2 Total ion current chromatograms of serum samples in positive/negative ion mode

表2 复方芩兰口服液在大鼠体内的入血成分鉴定结果

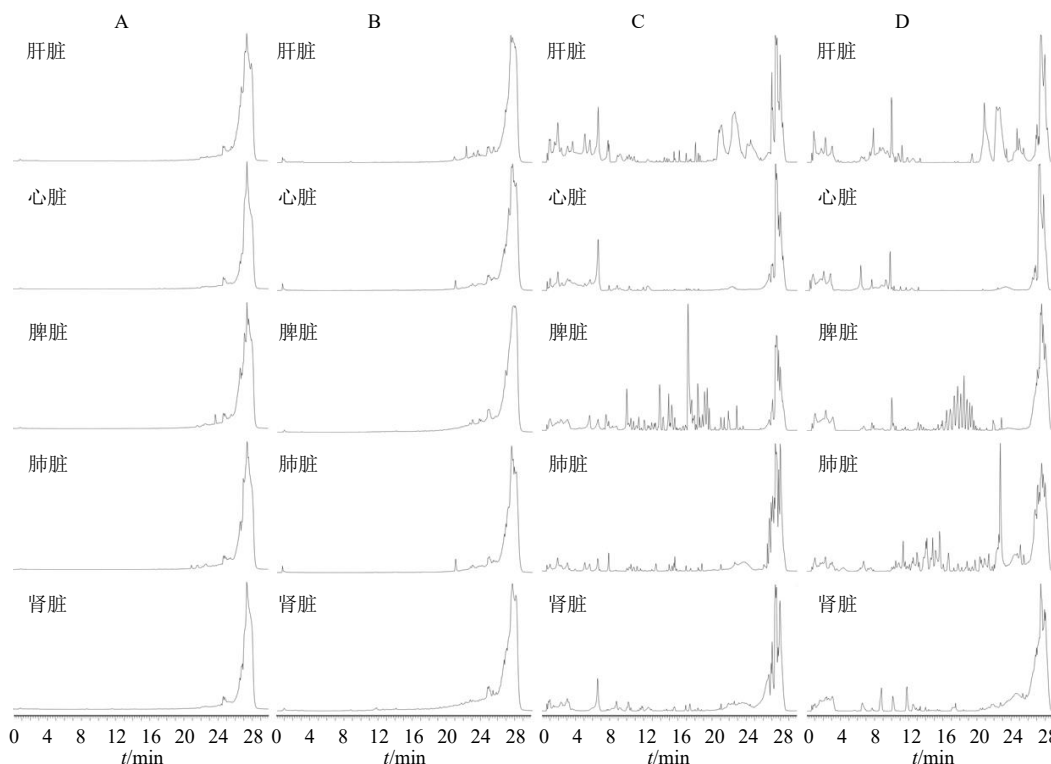
Table 2 Analysis of absorbed components of Fufang Qinlan Oral Liquid in rat plasma

峰号	$t_R/min$	分子式	准分子离子	$m/z$		误差 ( $\times 10^{-6}$ )	碎片离子	鉴定结果
				实测值	理论值			
M1	7.04	$C_8H_{14}O_4$	$[M-H]^-$	173.080 1	173.081 4	-7.51		连翘酸
M2	11.37	$C_{20}H_{30}O_{12}$	$[M-H]^-$	461.164 5	461.165 9	-3.04	443, 163, 135	连翘酯苷 E
M3	11.98	$C_{15}H_{16}O_{10}$	$[M-H]^-$	355.067 5	355.066 5	2.81	179	咖啡酸-4-O-β-D-葡萄糖醛酸
M4	12.65	$C_{15}H_{16}O_{10}$	$[M-H]^-$	355.067 5	355.066 5	2.81	179	咖啡酸-3-O-β-D-葡萄糖醛酸
M5	15.25	$C_{27}H_{26}O_{17}$	$[M-H]^-$	621.109 0	621.109 2	-0.32	445, 269	黄芩素-5,7-二葡萄糖醛酸苷
M6	17.47	$C_{27}H_{26}O_{17}$	$[M-H]^-$	621.109 0	621.109 2	-0.32	445, 269	黄芩素-5,6-二葡萄糖醛酸苷
M7	17.65	$C_{27}H_{26}O_{17}$	$[M-H]^-$	621.109 0	621.109 2	-0.32	445, 269	黄芩素-6,7-二葡萄糖醛酸苷
M8	19.09	$C_{21}H_{18}O_{11}$	$[M-H]^-$	445.078 4	445.077 1	2.92	269, 891	黄芩苷
M9	19.68	$C_{21}H_{18}O_{11}$	$[M-H]^-$	445.074 1	445.077 1	-6.74	269	黄芩素-5-O-β-D-葡萄糖醛酸苷
M10	20.19	$C_{22}H_{20}O_{11}$	$[M+H]^+$	461.108 3	461.108 4	-0.22	285	汉黄芩素-5-O-β-D-葡萄糖醛酸苷
M11	20.86	$C_{22}H_{20}O_{11}$	$[M+H]^+$	461.108 3	461.108 4	-0.22	285	汉黄芩苷
M12	20.94	$C_{21}H_{18}O_{11}$	$[M-H]^-$	445.078 4	445.077 1	2.92	269, 891	黄芩素-6-O-β-D-葡萄糖醛酸苷

苷 (M7)、黄芩素-5-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 (M9) 和黄芩素-6-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 (M12) 5 个代谢产物<sup>[5]</sup>。汉黄芩苷与黄芩苷代谢途径类似, 结合参考文献, 鉴定其代谢产物汉黄芩素-5-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 (M10) <sup>[5]</sup>。黄芩素和汉黄芩素也可以直接发生相应的葡萄糖醛酸化反应。

**3.1.3 组织分布成分鉴定** 对照组和给药组大鼠各组织样本在正、负离子模式下的总离子流图见图 3,

共鉴定 3 个原型成分和 3 个代谢产物 (表 3)。发现肝脏、肺脏、肾脏是复方芩兰口服液的主要作用器官, 其中的代谢成分主要经 I 相代谢反应中的水解和 II 相代谢反应中的葡萄糖醛酸化形成。通过对复方芩兰口服液的化学成分和体内成分进行分析, 发现其中的多种咖啡酰奎宁酸类成分, 黄芩苷、汉黄芩苷及其相应的苷元、连翘酯苷 E 和连翘酸-1'-O-β-D-葡萄糖苷是其进入大鼠血液和组织的主要成



A-空白组织正离子模式 B-含药组织正离子模式 C-空白组织负离子模式 D-含药组织负离子模式  
 A-blank tissue in positive ion mode B-administration tissue in positive ion mode C-blank tissue in negative ion mode D-administration tissue in negative ion mode

图3 组织样本在正/负离子模式下的总离子流图

Fig. 3 Total ion current chromatograms of tissue samples in positive/negative ion mode

表3 复方芩兰口服液于大鼠各器官组织中吸收成分鉴定结果

Table 3 Analysis of absorbed components of Fufang Qinlan Oral Liquid in rat organ tissue

峰号	$t_R/min$	分子式	准分子离子	$m/z$		误差 ( $\times 10^{-6}$ )	碎片离子	鉴定结果	分布器官
				实测值	理论值				
M'1	11.37	$C_{20}H_{30}O_{12}$	$[M-H]^-$	461.166 2	461.165 9	0.65	315, 205	连翘脂苷 E	心、肺
M'2	12.35	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.084 7	353.087 3	-7.37	191, 179	绿原酸	肺
M'3	17.16	$C_{27}H_{26}O_{17}$	$[M-H]^-$	621.109 0	621.109 2	-0.32	445, 269	黄芩素-5,6-二葡萄糖醛酸苷	肝、肾
M'4	17.42	$C_{27}H_{26}O_{17}$	$[M-H]^-$	621.109 0	621.109 2	-0.32	445, 269	黄芩素-6,7-二葡萄糖醛酸苷	肝、肾
M'5	19.45	$C_{28}H_{28}O_{17}$	$[M-H]^-$	635.122 1	635.124 8	-4.25	459	汉黄芩素-5,7-二葡萄糖醛酸苷	肝、肾
M'6	20.92	$C_{22}H_{20}O_{11}$	$[M+H]^+$	459.093 5	459.092 7	1.74	445, 268	汉黄芩苷	心、肺、肾

分，可能是复方芩兰口服液的潜在活性成分。

### 3.2 网络药理学研究

**3.2.1 “化合物-靶点”网络构建** 以检索得到的已知靶点为基础分别构建各目标成分和各适应证的PPI网络，结果见表4。由于绿原酸和新绿原酸，异绿原酸B和异绿原酸C分别为对映异构体，检索结果和所构建的网络均相同。连翘酸-1'-O-β-D葡萄糖苷在数据库中无法检索到相关靶点，因此选择其在体内代谢得到的苷元进行靶点检索。

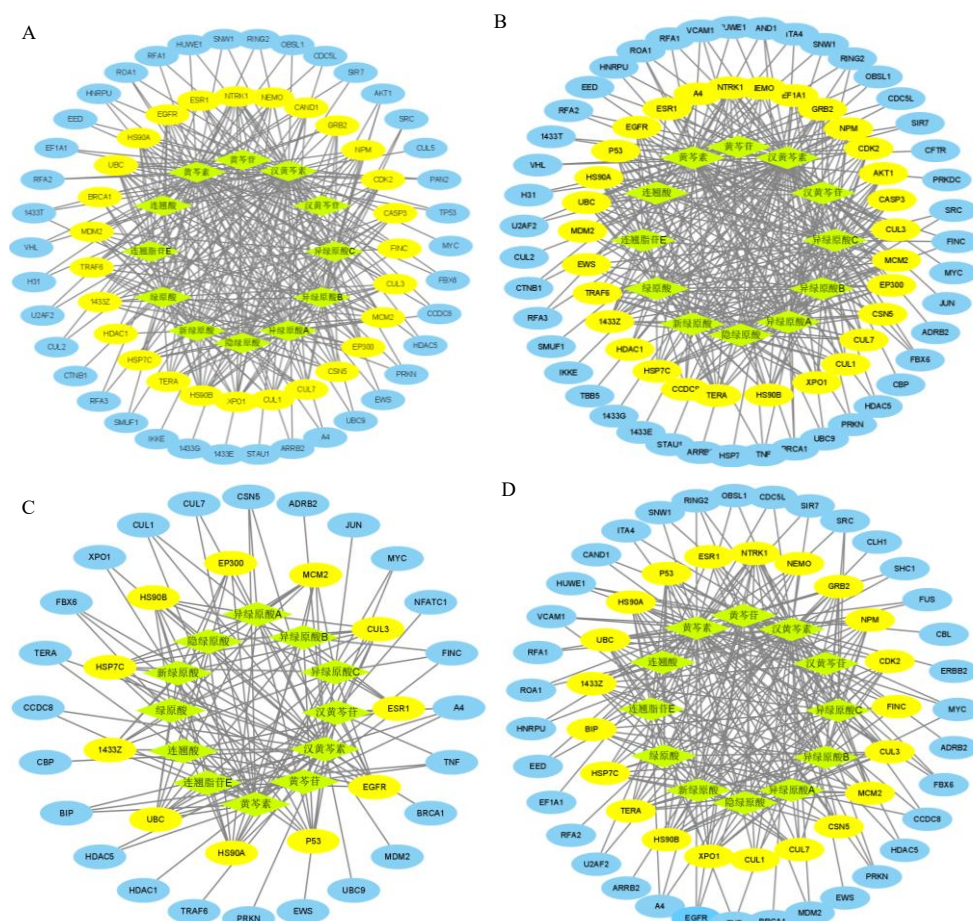
分别对各目标成分PPI与各适应证PPI取交集，以degree值中位数的2倍为卡值得到的单一化合物与适应证之间的核心靶点。由于核心靶点仍然数量众多，所构建的网络过于复杂，进行通路分析缺乏针对性。因此选择degree值排名前10%的靶点分别构建复方芩兰口服液各适应证的“化合物-靶点”作用网络。具体见图4。外圈蓝色靶点仅与少数化合物相关( $n \leq 3$ )，而内圈黄色靶点均受到多个目标成分调控( $n > 3$ )，为复方芩兰口服液的关键作用靶点。



表 4 各 PPI 网络所得靶点及相互作用数量

Table 4 Number of targets and interactions of each PPI network

PPI 网络	靶点数量	靶点间相互作用数量	PPI 网络	靶点数量	靶点间相互作用数量
黄芩苷	1765	27 112	隐绿原酸	2979	35 094
黄芩素	6386	136 250	异绿原酸 A	3725	53 688
汉黄芩苷	756	7473	异绿原酸 B (异绿原酸 C)	3336	42 575
汉黄芩素	6942	147 508	咳嗽	1148	18 440
连翘酸	1199	17 259	发热	3143	69 304
连翘酯苷 E	760	6546	感冒	2796	64 997
绿原酸 (新绿原酸)	3092	39 169	咽痛	2006	37 058



A-感冒 B-发热 C-咳嗽 D-咽痛, ◇代表化合物 ○代表靶点  
A-cold B-fever C-cough D-sore throat, ◇represents compounds, ○represents targets

图 4 复方芩兰口服液各适应证的“化合物-靶点”作用网络

Fig. 4 Compound-target network of indications of Fufang Qinlan Oral Liquid

**3.2.2 通路富集及分析** 对复方芩兰口服液调控感冒、发热、咳嗽、咽痛的关键靶点分别进行通路富集，并对 4 种适应证均相关的作用通路进行总结，结果见表 5。提示复方芩兰口服液的作用通路主要与炎症和免疫密切相关<sup>[6-10]</sup>。

**3.2.3 生物学验证** 各组大鼠肺脏中 3 个 HSP 系列

蛋白的表达水平见表 6。结果表明模型大鼠肺脏中 HSPA8 和 HSP90AB1 的 mRNA 表达水平较正常大鼠显著上升 ( $P < 0.05$ )，HSP90AA1 也有一定的上升趋势，提示了大鼠肺部出现了炎症反应，咳嗽和炎症的复合模型建模成功。给予复方芩兰口服液后，以上 3 个指标均出现了极显著上调 ( $P < 0.01$ )，且



表5 复方芩兰口服液主要作用靶点和通路

Table 5 Primary targets and pathways of Fufang Qinlan Oral Liquid

主要作用通路	主要作用靶点
estrogen signaling pathway	HSPA8, HSP90AA1, HSP90AB1, ESR1, EGFR, AKT1, GRB2
prostate cancer	HSP90AA1, HSP90AB1, EP300, CDK2, MDM2, AKT1, GRB2, IKBKG, EGFR
PI3K-Akt signaling pathway	HSP90AA1, HSP90AB1, CDK2, MDM2, AKT1, GRB2, IKBKG, YWHAZ, EGFR, FN1, BRCA1
pathways in cancer	NTRK1, HSP90AA1, HSP90AB1, HDAC1, EGFR, CASP3, TRAF6, CDK2, MDM2, AKT1, EP300, GRB2, IKBKG
cell cycle	HDAC1, CDK2, MDM2, CUL1, EP300, YWHAZ, MCM2
NOD-like receptor signaling pathway	HSP90AA1, HSP90AB1, TRAF6, IKBKG

表6 各组大鼠肺脏中 HSPA8、HSP90AA1 和 HSP90AB1 的 mRNA 表达水平

Table 6 mRNA Expression of HSPA8, HSP90AA1 and HSP90AB1 levels in rats lung of each group

组别	相对表达量		
	HSPA8	HSP90AA1	HSP90AB1
对照	1.11 ± 0.26	1.49 ± 0.45	1.04 ± 0.41
模型	1.19 ± 0.18 <sup>#</sup>	1.58 ± 0.41	1.13 ± 0.38 <sup>#</sup>
复方芩兰口服液	1.50 ± 0.35 <sup>**</sup>	2.20 ± 0.50 <sup>***</sup>	1.34 ± 0.25 <sup>***</sup>
阳性对照	1.43 ± 0.53 <sup>*</sup>	1.61 ± 0.63	1.13 ± 0.38 <sup>*</sup>

与对照组比较: <sup>#</sup>*P*<0.05; 与模型组比较: <sup>\*</sup>*P*<0.05 <sup>\*\*</sup>*P*<0.01 <sup>\*\*\*</sup>*P*<0.001

<sup>#</sup>*P* < 0.05 vs control group; <sup>\*</sup>*P* < 0.05 <sup>\*\*</sup>*P* < 0.01 <sup>\*\*\*</sup>*P* < 0.001 vs.model group

程度均优于临床常用止咳药孟鲁司特钠咀嚼片。说明 HSP 系列蛋白可能是复方芩兰口服液发挥消炎止咳作用的关键靶点。

#### 4 讨论

本实验采用液质联用对复方芩兰口服液的体内成分进行研究。取样时间点上考察了 0.5、1、2、4、6 h 多个时间点,发现给药后 2 h 在大鼠的血清和组织样本中可检测到的移行成分最多,故将其作为最佳的采样时间点。样本处理方法比较了甲醇沉淀蛋白、乙腈沉淀蛋白及沉淀蛋白后采用醋酸乙酯进行萃取等处理方式,结果均不理想,最终采用本实验的处理方法。样本分析所采用的 UPLC-Q-TOF-MS 结合 MS<sup>E</sup> 技术能够通过一次数据采集获得高精确度和高分辨率的全部母离子与碎片离子信息,从而较为全面、真实、快速的定性大鼠血液和组织样本中的移行成分。

给药后在大鼠的血清中共鉴定 3 个原型成分和 9 个代谢产物,组织样本中共鉴定 3 个原型成分和 3 个代谢产物。通过与单味药材图谱进行对比,其中咖啡酸葡萄糖醛酸由多种咖啡酰奎宁酸类成分代谢得到,和绿原酸一起主要来自金银花。连翘酸和连翘酯苷 E 来自连翘。黄芩苷、汉黄芩苷及其苷元的多种葡萄糖醛酸产物来自黄芩。多项药理研究表明这些成分具有广泛的抗炎、抗菌、抗氧化和免疫调节等药理作用<sup>[11-18]</sup>,可能是复方芩兰口服液辛凉解表、清热解毒的潜在活性成分。

网络药理学研究结果表明复方芩兰口服液可以通过多通路多靶点发挥疗效,通过富集分析发现主要的作用通路多包含 HSP 系列蛋白。在热休克蛋白家族中,HSP90 具有特殊的分子伴侣功能。其广泛参与了众多细胞增殖和调亡的信号调控,在炎症反应中起着重要作用。HSP90 可以和受体相互作用蛋白激酶(receptor-interacting protein kinase, RIP)相互作用并使其稳定。RIP 在肿瘤坏死因子 α 的刺激下结合到肿瘤坏死因子受体上,从而激活核转录因子<sup>[19]</sup>。因此推测 HSPA8、HSP90AA1 和 HSP90AB1 可能是复方芩兰口服液发挥抗炎作用的重要靶点,并且在鼠咳嗽和炎症的复合模型中得到证实。

本研究首次对复方芩兰口服液的体内成分进行分析,并在明确潜在活性成分的基础上首次构建了相关适应证的“化合物-靶点”作用网络,初步揭示其主要作用靶点及通路。研究结果为揭示复方芩兰口服液的药效物质基础和作用机制提供了一定基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

[1] 王东升,吴力群,张维,等. 复方芩兰口服液治疗儿童

- 急性上呼吸道感染（风热感冒证）多中心随机对照临床研究 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(4): 774-779.
- [2] 鲍岩岩, 高英杰, 周利润, 等. 复方芩兰口服液对呼吸道病毒感染的药效作用 [J]. 世界中医药, 2021, 16(12): 1809-1817.
- [3] 徐海玉, 刘振明, 付岩, 等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3633-3638.
- [4] 魏玲, 周茂金, 张铁军, 等. 咖啡酸在大鼠体内两个葡萄糖醛酸结合物的分离与鉴定 [J]. 中草药, 2010, 41(6): 949-952.
- [5] 杜占权. 黄芩化学成分及其提取物大鼠体内代谢的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2012.
- [6] Keselman A, Heller N. Estrogen signaling modulates allergic inflammation and contributes to sex differences in asthma [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 568.
- [7] Liu X Q, Cohen J I. The role of PI3K/Akt in human herpesvirus infection: From the bench to the bedside [J]. *Virology*, 2015, 479/480: 568-577.
- [8] Liu P, Lu Z W, Liu L L, et al. NOD-like receptor signaling in inflammation-associated cancers: From functions to targeted therapies [J]. *Phytomedicine*, 2019, 64: 152925.
- [9] Tan T T, Coussens L M. Humoral immunity, inflammation and cancer [J]. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(2): 209-216.
- [10] Mantovani A, Garlanda C, Allavena P. Molecular pathways and targets in cancer-related inflammation [J]. *Ann Med*, 2010, 42(3): 161-170.
- [11] 余盼, 李冬冬, 萧伟, 等. 绿原酸衍生物构效关系的研究进展 [J]. 中国药物化学杂志, 2018, 28(2): 144-156.
- [12] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展 [J]. 药学学报, 2020, 55(10): 2273-2280.
- [13] 曲欢欢. 连翘化学成分和生物活性研究 [D]. 西安: 西北大学, 2008.
- [14] 付鹏亮, 王东强, 李志军. 连翘酯苷药理作用研究进展 [J]. 长春中医药大学学报, 2011, 27(6): 1062-1063.
- [15] 陈涛. 中药黄芩及其主要成分抗炎活性的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [16] 申云富, 范小青. 汉黄芩苷的药理活性研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2016, 30(4): 98-101.
- [17] 张沂, 穆杰, 高伟华, 等. 基于网络药理学从系统层面探讨黄芩苷治疗肺纤维化的效应机制研究 [J]. 世界中医药, 2020, 15(10): 1373-1380.
- [18] 张艳. 黄芩苷和黄芩素的抗炎和免疫调控作用研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2012.
- [19] Sevin M, Girodon F, Garrido C. HSP90 and HSP70: Implication in inflammation processes and therapeutic approaches for myeloproliferative neoplasms [J]. *Mediat Inflamm*, 2015, 970242: 1-9.

[责任编辑 王文倩]