

基于UHPLC-Q-Orbitrap HRMS和生物信息学探讨瓜蒌薤白汤治疗冠心病的潜在药效物质基础和作用机制

孙志^{1,2}, 张媛媛^{1,2}, 周胜楠^{1,2}, 刘丽伟^{1,2}, 包晓悦^{1,2}, 程文播³, 李小强³, 王靖^{1,2}, 左莉华^{1,2}

1. 郑州大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450052
2. 河南省精准医学临床质谱工程研究中心, 河南 郑州 450052
3. 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所, 江苏 苏州 215163

摘要: 目的 系统分析并识别瓜蒌薤白汤主要化学成分和入血成分, 预测其防治冠心病的药效物质基础和作用机制。方法 采用超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 进行瓜蒌薤白汤体内外成分分析, 结合色谱峰保留时间、精确相对分子质量、碎片离子、中性丢失等信息进行化合物指认。使用生物信息学方法, 对潜在靶点进行GO和KEGG富集分析, 借助Cytoscape软件构建瓜蒌薤白汤“活性成分-核心靶点-通路”网络图, 对潜在活性成分和作用通路进行预测。利用AutoDock Tools 1.5.6软件对其活性成分与核心靶点进行分子对接验证。结果 瓜蒌薤白汤体外定性得到了68个化学成分, 大鼠ig给药后在血清样本中检测到23个入血成分。其中芹菜素、木犀草素、酒渣碱、亚油酸等化合物为瓜蒌薤白汤发挥治疗冠心病药效的关键成分, 前列腺素内过氧化物合成酶2 (prostaglandin-endoperoxidase synthase 2, PTGS2)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、半胱氨酸蛋白水解酶3 (cysteine-containing aspartate-specific protease 3, CASP3) 等为瓜蒌薤白汤治疗冠心病的主要靶点, 涉及到脂质与动脉粥样硬化、癌症的途径、TNF信号通路、NF- κ B信号通路、MAPK信号通路。结论 初步鉴定了瓜蒌薤白汤防治冠心病的潜在药效成分并预测其作用靶点, 为该方药效物质基础及作用机制的深入研究提供参考。

关键词: 瓜蒌薤白汤; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; 入血成分; 网络药理学; 分子对接; 芹菜素; 木犀草素; 酒渣碱

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)18-5613-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.18.004

Explore potential pharmacodynamic substances basis and mechanism of Gualouxiebai Decoction in treatment of coronary heart disease based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS and bioinformatics

SUN Zhi^{1,2}, ZHANG Yuan-yuan^{1,2}, ZHOU Sheng-nan^{1,2}, LIU Li-wei^{1,2}, BAO Xiao-yue^{1,2}, CHENG Wen-bo³, LI Xiao-qiang³, WANG Jing^{1,2}, ZUO Li-hua^{1,2}

1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China
2. Henan Engineering Research Center of Clinical Mass Spectrometry for Precision Medicine, Zhengzhou 450052, China
3. Suzhou Institute of Biomedical Engineering Technology, Chinese Academy of Sciences, Suzhou 215163, China

Abstract: Objective To systematically analyze and identify chemical constituents of Gualouxiebai Decoction, and predict the pharmacological basis and mechanism of its prevention and treatment of coronary heart disease. **Methods** Gualouxiebai Decoction and drug-containing serum were analyzed by UHPLC-Q-Orbitrap HRMS, and the identification of *in vivo* and *in vitro* components were carried out with retention time, precise molecular weight, fragment ions and neutral loss. Bioinformatics methods were used to enrich the GO and KEGG pathways of potential targets. The network diagram of "active component-key target-pathway" of Gualouxiebai Decoction was constructed with Cytoscape 3.7.2 to predict potential active ingredients and pathways. AutoDock Tools

收稿日期: 2022-05-11

基金项目: 河南省重点研发与推广专项 (科技攻关) (202102310187); 国家重点研发计划资助项目 (2021YFC2401105); 河南省中青年卫生健康科技创新优秀青年人才培养项目 (YXKC2020058); 国家自然科学基金资助项目 (82003921)

作者简介: 孙志, 博士, 研究方向为中药药物代谢。Tel: (0371)66862570 E-mail: sunzhi2013@163.com

1.5.6 was used to verify the molecular docking between active ingredients and core targets. **Results** A total of 68 chemical components were identified *in vitro*, and 23 components were detected in serum samples of rats after gaved Gualouxiebai Decoction. Among them, apigin, luteolin, leae alkaloid, linoleic acid and other compounds are the key components of Gualouxiebai Decoction in the treatment of coronary heart disease, and PTGS2, TNF, MMP9, EGFR, CASP3 are the main targets. It involves the pathways of lipid and atherosclerosis, pathways in cancer, TNF signaling pathway, NF- κ B signaling pathway and MAPK signaling pathway. **Conclusion** This study preliminarily identified the potential effective components of Gualouxiebai Decoction in the prevention and treatment of coronary heart disease, and predicted the target of action, providing a reference for the further study of the pharmacodynamic substance basis and action mechanism of this prescription.

Key words: Gualouxiebai Decoction; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; absorbed components in the blood; bioinformatics; molecular docking; apigin; luteolin; leae alkaloid

冠心病 (coronary heart disease, CHD) 是一种与人体多系统相关的慢性复杂疾病, 已成为世界范围内的主要死亡原因之一^[1], 寻求安全有效的治疗方法改善冠心病的症状十分必要。中药复方在我国临床实践了数千年, 体现了“辨证论治”的治疗原则, 对维持中国人民的健康起着至关重要的作用。瓜蒌薤白汤源自张仲景的《金匱要略·胸痹心痛短气病脉证治》^[2], 具有通心阳、散瘀滞、止痹痛的功效^[3], 与现代医学的冠心病心绞痛、冠脉痉挛、心律失常、心肌梗死等症状一致。瓜蒌薤白汤由瓜蒌、薤白、白酒煎煮而成, 现代药理学研究表明, 瓜蒌薤白汤具有多种生物活性, 如心肌保护^[4]、抗氧化^[5]、抗炎^[6]、干预慢性阻塞性肺病^[7]等。尽管瓜蒌薤白汤已有广泛的临床应用和大量的药理学研究, 但关于其有效化学成分的数据并不充足, 也尚未深入探索其治疗冠心病的具体作用机制。

超高效液相色谱-四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱技术具有高分离能力、高准确性、高分辨率、低基质效应等特点, 已逐步成为中药药效成分快速准确鉴定的重要手段^[8]。药物成分只有经消化道吸收入血到达靶器官或靶点才能在体内发挥相应的药效^[9], 因此挖掘药物入血成分对于明确药效成分、阐明药效物质基础具有重大的意义。生物信息学整体性、系统性的特点与中医药整体观、辩证论治原则相符, 已被广泛用于中药复方协同作用的研究中。基于此, 本研究采用 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术对瓜蒌薤白汤化学成分、入血成分进行鉴定, 选择入血成分进行网络药理学分析, 构建“活性成分-核心靶点-通路”网络图, 探讨其药效物质基础和潜在作用机制, 为其临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Ultimate 3000 超高效液相色谱仪 (美国 Dionex

公司); Q-Exactive 质谱仪 (美国 Thermo Scientific 公司); ACQUITY UPLC[®]HSS C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μ m); 万分之一分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); Heraeus Fresco 17 Centrifuge 型微量冷冻离心机 (美国 Thermo Scientific 公司); BX7200HP 型超声波清洗器 (上海 CIMO 医疗器械制造有限公司); N-1300 旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司)。

1.2 药材与试剂

瓜蒌、薤白购于张仲景大药房, 经河南中医药大学中药学教授李寒冰鉴定分别为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的成熟果实、百合科植物小根蒜 *Allium macrostemon* Bge. 的干燥鳞茎。

对照品芦丁 (批号 MUST-1603181)、木犀草苷 (批号 MUST-15012204)、木犀草素 (批号 MUST-21072311)、芹菜素 (批号 MUST-16061301)、5-羟甲基糠醛 (批号 MUST-16031202), 均购于成都曼思特生物有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$ 。精氨酸 (批号 11009, 质量分数 $\geq 99.5\%$), 缬氨酸 (批号 94619, 质量分数 $\geq 99.5\%$), 色氨酸 (T0254, 质量分数 $\geq 98\%$), 均购自美国 Sigma 公司。白酒购自张仲景大药房, 甲醇、乙腈均为质谱级, 购自美国 Thermo Fisher 公司。

1.3 动物

雄性 SD 大鼠 12 只, 体质量 (210~250 g) 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司, 生产许可证号 SCXK (鲁) 20190003。实验前在 12 h 昼夜循环的动物房内适应性喂养 7 d, 自由获取饲料和饮用水。动物实验由河南省实验动物中心实验动物伦理委员会审查并批准 (批件号 ZZU-LAC20220225[13])

1.4 数据库与软件

SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 人类基因数据库 (GeneCards, <https://www.genecards.org/>), 人类孟德尔遗传数据库

(OMIM, <https://www.omim.org/>), DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com/>), DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>), STRING 数据库 (<https://string-db.org/>), Metascape 数据库 (<http://metascape.org/>), 蛋白数据库 RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>), 微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>)。Thermo Xcalibur 3.0 软件, Mass Frontier 7.0 软件, Cytoscape 3.7.2 软件, AutoDock Tools 1.5.6 软件, PyMOL 2.4.1 软件。

2 方法

2.1 体内外成分分析

2.1.1 供试品溶液的制备 取瓜蒌 30 g、薤白 15 g 与 1400 mL 白酒共煎, 武火煎沸后转文火煎煮 90 min, 滤过药渣后得到约 450 mL (含生药量 0.1 g/mL) 瓜蒌薤白汤。取适量上述汤剂, 3500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得瓜蒌薤白汤体外定性供试品溶液。取适量上述所得瓜蒌薤白汤, 置于旋转蒸发器, 浓缩 20 倍, 得到生药量为 2 g/mL 大鼠 ig 液。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称定各对照品 1.0 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为 0.1 mg/mL 的单一对照品储备液; 分别精密移取上述储备液适量, 加甲醇稀释, 最终得到质量浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合对照品溶液。

2.1.3 动物分组、给药及样本处理 12 只大鼠随机分为对照组和瓜蒌薤白汤给药组, 适应性饲养 1 周。给药前 12 h 大鼠禁食不禁水。按 10 mL/kg ig 给药, 对照组给予等体积的生理盐水。于给药后 0.5、1、2、3、4 h, 采用眼眶取血的方式各取 1 mL 于含有肝素钠的 EP 管中, 静置约 1 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、3500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 空白组血浆处理方法与给药组一致。取不同采血点上清各 100 μL , 涡旋 30 s, 加 3 倍量乙腈, 涡旋 3 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、13 000 r/min 离心 10 min, 取 200 μL 进样。

2.1.4 液质联用条件 色谱条件: ACQUITY UPLC[®]HSS C₁₈ 柱 (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm), 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 体积流量 0.2 mL/min, 进样量 5 μL 。流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B), 瓜蒌薤白汤体外成分鉴定含药血清成分鉴定试验梯度洗脱程序为: 0~4.0 min, 5%B; 4.0~51.0 min, 5%~100%B; 51.0~56.0 min, 100%B; 56.0~56.2 min, 100%~5%B。

质谱条件: ESI 电离源, 正、负离子模式分开

扫描。离子传输管温度 320 $^{\circ}\text{C}$, 辅助气温度为 300 $^{\circ}\text{C}$, 鞘气、辅助气的体积流量分别为 45、15 $\mu\text{L}/\text{min}$; 碰撞能梯度为 20、40、60 eV, 质荷比窗口宽度设置为 2, 质量扫描范围 m/z 80~1200。

2.1.5 瓜蒌薤白汤体内外代谢产物鉴定 根据“2.1.4”项下的色谱、质谱条件进样, 结合色谱峰保留时间、精确相对分子质量、碎片离子、中性丢失等信息进行瓜蒌薤白汤化学成分体外定性。给药组和空白组样本进行对比分析, 提取 2 组间差异质谱峰, 并结合保留时间、加荷离子信息和离子碎片, 进行瓜蒌薤白汤体内入血成分鉴定。

2.2 生物信息学研究

2.2.1 入血成分靶点搜集 在 PubChem 数据库中下载 23 个入血成分的 2D 结构, 导入 SwissADME 网站进行筛选, 标准为 Pharmacokinetics 项目中 GI absorption 为“High”, Druglikeness 项中满足 2 个指标为“Yes”, 通过筛选的化合物在 SwissTarget Prediction 数据库进行靶点预测。

2.2.2 冠心病相关靶点的筛选 基于 GeneCards、OMIM、DrugBank 和 DisGeNET 数据库, 以“coronary heart disease, CHD”为关键词, 获取冠心病相关的疾病靶点。

2.2.3 “药物-活性成分-靶点-疾病”网络的构建 将上述得到的药物靶点和疾病靶点各自删除重复后, 求交集得到瓜蒌薤白汤和冠心病共同作用的靶点。将瓜蒌薤白汤的活性成分、冠心病, 交集基因分别归类于“Drug”“Disease”“Gene”, 建立 Network 和 Type 文件, 导入 Cytoscape 3.7.2 软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络。

2.2.4 蛋白质互作网络 (protein-protein interaction network, PPI) 的构建 将上述得到的共有靶点导入 STRING 数据库构建 PPI 网络, 蛋白种属为“homo sapiens”, 置信度为 0.4, 其他参数不变, 得到蛋白相互作用关系的网络图, 下载 TSV 格式。将该 TSV 文件导入到 Cytoscape 3.7.2 软件, 并使用 cytoHubba 插件进行拓扑分析, 获得瓜蒌薤白汤治疗冠心病的关键靶点。

2.2.5 基因本体论 (gene ontology, GO) 与京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析 将瓜蒌薤白汤治疗冠心病的相关靶点上传到 Metascape 平台中进行 GO 和 KEGG 富集分析, 设定参考值 $P < 0.05$ 、富集因子 > 1.5 、最小计数值为 3。最后在微生信网站

进行 GO 和 KEGG 富集分析可视化。

2.2.6 “成分-靶点-通路”网络的构建 将瓜蒌薤白汤活性成分、治疗冠心病的关键靶点、KEGG 富集通路分别归类为“Drug”“Gene”“Pathway”，建立 Network 和 Type 文件，导入 Cytoscape 3.7.2 软件，构建“成分-靶点-通路”网络。

2.3 分子对接验证

根据“成分-靶点-通路”网络图筛选 degree 值较高的靶点，从 PDB 数据库下载该蛋白靶点的 3D 晶体结构 pdb 文件。根据“药物-活性成分-靶点-疾

病”网络筛选关键活性成分，从 PubChem 数据库中下载活性成分对应的 SDF 文件。通过 Chem 3D 软件将 2D 结构优化并保存为 3D 结构的 mol2 格式。在 AutoDockTools 1.5.6 使用 Vina 软件进行分子对接，最后使用 Pymol 软件进行分子可视化。

3 结果与分析

3.1 体内外成分鉴定结果

3.1.1 体外化学成分鉴定 瓜蒌薤白汤正、负离子模式下的总离子流图如图 1 所示。共鉴定出 68 种化学成分，8 种成分经对照品比对，详见表 1。包括黄

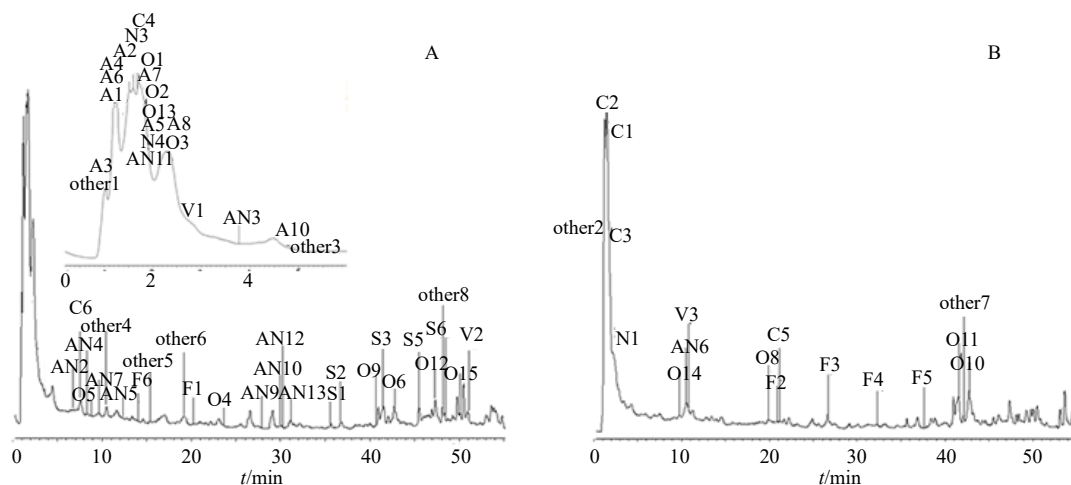


图 1 瓜蒌薤白汤在正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 下的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of Gualouxiebai Decoction in positive (A) and negative (B) ion mode

表 1 瓜蒌薤白汤 68 个化学成分质谱信息

Table 1 Mass spectrum information of 68 chemical components of Gualouxiebai Decoction

编号	成分名称	分子式	<i>t_R</i> /min	离子模式	理论值	实测值	误差 (×10 ⁻⁶)	二级离子碎片	来源
F1*	芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	20.27	[M+H] ⁺	611.160 66	611.159 85	-1.33	465.10, 303.05, 285.04, 153.01	GL
F2*	木犀草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	21.57	[M-H] ⁻	447.093 28	447.093 35	1.16	327.05, 285.04, 151.00	GL
F3	香叶木素-7-O-β-D-葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	26.60	[M-H] ⁻	461.108 93	461.109 07	2.67	298.05, 283.02, 269.04, 55.03	GL
F4*	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	32.16	[M+H] ⁻	285.040 46	285.040 47	3.88	267.03, 151.00, 133.03, 87.04	GL
F5*	芹菜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	37.45	[M-H] ⁻	269.045 54	269.045 65	4.46	225.06, 151.00, 107.01	GL
F6	香叶木素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	14.49	[M+H] ⁺	301.070 66	301.068 94	-5.73	151.00, 107.01	GL
A1*	精氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	1.50	[M+H] ⁺	175.118 95	175.118 90	-0.30	158.09, 130.10, 116.07, 112.09	GL、XB
A2*	缬氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	1.58	[M+H] ⁺	118.086 25	118.086 18	-0.64	72.08, 57.06, 55.05	GL、XB
A3	谷氨酰胺	C ₅ H ₉ NO ₄	1.21	[M+H] ⁺	148.060 43	148.060 10	-2.26	130.05, 120.08, 102.05, 84.04	GL、XB
A4	蒜氨酸	C ₆ H ₁₁ NO ₃ S	1.54	[M+H] ⁺	178.053 24	178.053 22	-0.12	160.04, 91.02, 88.04	XB
A5	L-亮氨酸-L-脯氨酸	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	1.65	[M+H] ⁺	229.154 66	229.154 60	-0.30	116.07, 86.10, 70.07	GL
A6	脯氨酸	C ₅ H ₉ NO ₂	1.53	[M+H] ⁺	116.070 60	116.070 48	-1.08	98.06, 74.02, 70.07	GL
A7	焦谷氨酸	C ₅ H ₇ NO ₃	1.66	[M+H] ⁺	130.049 86	130.049 93	0.46	112.05, 102.05, 84.04	GL
A8	亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1.78	[M+H] ⁺	132.101 90	132.101 85	-0.42	86.10, 69.07	GL

续表 1

编号	成分名称	分子式	t_R/min	离子模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级离子碎片	来源
A9	苯丙氨酸	$C_9H_{11}NO_2$	2.37	$[M+H]^+$	166.086 25	166.086 32	0.39	149.06, 131.05, 120.08, 79.05	GL
A10*	色氨酸	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	4.48	$[M+H]^+$	205.097 15	205.097 03	-0.61	188.07, 170.06, 118.06	XB
O1	烟酸	$C_6H_5NO_2$	1.63	$[M+H]^+$	124.039 30	124.039 31	0.04	80.05	GL
O2	4-羟基-烟酸	$C_6H_5NO_3$	1.67	$[M+H]^+$	140.034 21	140.034 18	-0.28	121.03, 94.03	GL
O3	肉桂酸	$C_9H_8O_2$	2.36	$[M+H]^+$	149.059 70	149.059 75	0.30	131.05, 103.05, 79.05	GL
O4	原儿茶酸	$C_7H_6O_4$	23.62	$[M+H]^+$	155.033 88	155.033 80	-0.06	135.01, 109.03, 91.09	GL
O5	香草酸	$C_8H_8O_4$	8.47	$[M+H]^+$	169.049 53	169.049 79	1.51	152.01, 123.04, 108.02	GL
O6	9-氧代壬酸	$C_9H_{16}O_3$	42.94	$[M+H]^+$	173.117 22	173.116 87	-2.21	153.09, 125.10	GL
O8	水杨酸	$C_7H_6O_3$	19.90	$[M-H]^-$	137.024 41	137.024 29	7.08	109.03, 93.03	GL
O9	9S,13R-12-oxophytodienoic acid	$C_{18}H_{28}O_3$	40.92	$[M+H]^+$	293.211 12	293.210 69	-1.47	275.20, 219.17, 205.16, 149.10	GL
O10	天师酸	$C_{18}H_{34}O_5$	42.71	$[M-H]^-$	329.233 34	329.233 37	3.40	311.22, 293.21, 229.14, 171.10	GL
O11	2-羟基-6-(4-羟基苯乙基)苯甲酸	$C_{15}H_{14}O_4$	41.50	$[M-H]^-$	257.081 93	257.081 94	4.30	213.09, 107.05, 93.03	XB
O12	十八碳三烯酸	$C_{18}H_{30}O_3$	47.35	$[M+H]^+$	295.226 77	295.226 26	-1.73	277.22, 259.20, 99.08	GL
O13	3-甲酰基-2-甲基苯甲酸	$C_9H_8O_3$	1.69	$[M+H]^+$	165.054 62	165.054 60	-0.13	150.03, 122.04, 79.05	XB
O14	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	9.62	$[M-H]^-$	279.232 95	279.232 57	2.55	279.23	GL, XB
O15	瓜蒌酸	$C_{18}H_{30}O_2$	50.06	$[M+H]^+$	279.231 85	279.231 35	-1.82	261.22, 137.13, 123.12, 109.10	GL
N1	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	1.63	$[M+H]^+$	268.104 03	268.103 91	-0.45	136.06, 119.03	GL, XB
N3	腺嘌呤	$C_5H_5N_5$	1.56	$[M+H]^+$	136.061 77	136.061 72	-0.38	119.03, 94.04, 67.03	GL, XB
N4	鸟嘌呤核苷	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	1.70	$[M+H]^+$	284.098 94	284.098 72	-0.79	152.06, 135.03, 110.03	GL, XB
N5	胸腺嘧啶核苷	$C_{10}H_{14}N_2O_5$	2.31	$[M-H]^-$	241.082 99	241.082 41	2.12	151.05, 125.04	GL
AN2	葫芦巴碱	$C_7H_7NO_2$	6.34	$[M+H]^+$	138.054 95	138.054 98	0.18	120.04, 110.06, 94.06	GL
AN3	1-羟甲基-2-吡咯醛	$C_6H_7NO_2$	3.74	$[M+H]^+$	126.054 95	126.054 67	-2.26	108.04, 98.06, 80.05	XB
AN4	2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉-3-甲酸	$C_{12}H_{12}N_2O_2$	8.40	$[M+H]^+$	217.097 15	217.097 43	1.27	171.09, 144.08, 130.07, 86.02	XB
AN5	9H-吡啶并[2,3-B]咪唑	$C_{11}H_8N_2$	12.23	$[M+H]^+$	169.076 02	169.075 96	-0.38	169.07, 93.03	XB
AN6	4-[2-甲酰基-5-(羟甲基)-1H-吡咯-1-基]丁酸	$C_{10}H_{13}NO_4$	10.54	$[M-H]^-$	210.077 18	210.077 01	4.41	124.04, 94.03, 66.03	GL
AN7	1-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉-羧酸	$C_{13}H_{14}N_2O_2$	9.52	$[M+H]^+$	231.112 80	231.112 69	-0.49	214.09, 144.08, 130.06, 102.06	XB
AN9	正香豆酰酰胺	$C_{17}H_{17}NO_3$	28.24	$[M+H]^+$	284.128 11	284.127 90	-0.77	164.07, 147.04, 121.06, 103.05	XB
AN10	顺式-N-阿魏酰酰胺	$C_{18}H_{19}NO_4$	30.03	$[M+H]^+$	314.138 68	314.138 61	-0.24	177.05, 149.06, 121.06, 93.07	GL
AN11	1-羧丙基-5-乙氧甲基-1H-吡咯-2-醛-吡咯	$C_{12}H_{17}NO_4$	1.89	$[M+H]^+$	240.123 03	240.122 96	-0.31	124.04, 94.03, 66.03	GL
AN12	4-氨基苯甲酸丁酯	$C_{11}H_{13}NO_2$	30.07	$[M+H]^+$	194.117 55	194.117 74	0.95	138.05, 110.06, 94.07	GL
AN13	酒渣碱	$C_{17}H_{12}N_2O_4$	31.59	$[M+H]^+$	309.086 98	309.086 70	-0.92	281.09, 263.08, 235.09, 206.08	GL
S1	知母皂苷 C	$C_{45}H_{74}O_{18}$	35.61	$[M+H]^+$	903.494 79	903.494 20	-0.66	741.44, 579.39, 435.28, 417.34	XB
S2	知母皂苷 A-III	$C_{39}H_{64}O_{13}$	36.61	$[M+H]^+$	741.441 96	741.440 43	-2.08	579.39, 435.27, 417.34, 273.22	XB
S3	薯蓣皂苷元-3-O- β -D-吡喃-葡萄糖苷	$C_{33}H_{52}O_8$	41.72	$[M+H]^+$	577.373 49	577.373 05	-0.77	415.32, 273.22, 255.21	XB
S4	7-羟基色原酮	$C_9H_6O_3$	14.76	$[M-H]^-$	161.024 41	161.024 32	6.21	161.02	
S5	gitogenin	$C_{27}H_{44}O_4$	45.50	$[M+H]^+$	433.331 23	433.330 57	-1.54	415.32, 397.31, 289.22, 271.20	XB

续表 1

编号	成分名称	分子式	t_R /min	离子模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	二级离子碎片	来源
V1*	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	2.67	[M+H] ⁺	127.038 97	127.039 18	1.65	109.03, 99.04, 81.03	GL
V2	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	50.99	[M+H] ⁺	279.159 08	279.158 87	-0.77	205.09, 167.03, 149.02, 121.03	GL、XB
V3	2,5-二羟甲基四氢呋喃	C ₆ H ₁₂ O ₃	10.73	[M-H] ⁻	131.071 36	131.071 11	6.04	85.07, 73.03, 59.01	GL
C1	葡萄糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	1.47	[M-H] ⁻	179.056 11	179.055 86	4.72	161.05, 143.03, 131.03	GL
C2	β -D-阿拉伯吡喃糖	C ₅ H ₁₀ O ₅	1.42	[M-H] ⁻	149.045 54	149.045 23	5.23	131.03, 113.02, 89.02, 77.01	GL
C3	半乳糖酸- γ -内酯	C ₆ H ₁₀ O ₆	1.54	[M-H] ⁻	177.040 46	177.040 19	4.66	159.03, 141.02, 129.02	GL
C4	L-甘露糖甲基糖	C ₆ H ₁₂ O ₅	1.59	[M+H] ⁺	163.061 19	165.075 70	-0.30	147.06, 129.05, 111.04, 83.05	GL
C5	2,7-dimethyl-2,4-dienedeca- diacid- α , ω -8-O- β -D-glu	C ₁₈ H ₂₈ O ₁₀	20.82	[M-H] ⁻	403.160 97	403.161 13	3.12	241.11, 223.10, 179.11	GL
C6	(1R,6R,9R)-6,9,11-trihydroxy- 4,7-megastigmadien-3-one 11-O-glucoside	C ₁₉ H ₃₀ O ₉	7.18	[M+H] ⁺	403.196 25	403.195 34	-2.28	263.13, 245.12, 227.11	GL
Other1	N ₆ ,N ₆ ,N ₆ -三甲基-L-赖氨酸	C ₉ H ₂₀ N ₂ O ₂	1.11	[M+H] ⁺	189.159 75	189.159 77	0.08	130.09, 116.07, 70.07	GL
Other2	D-甘露醇	C ₆ H ₁₄ O ₆	1.15	[M-H] ⁻	181.071 76	181.071 44	4.28	163.06, 119.03, 101.02, 59.01	GL
Other3	邻二羟基苯酚	C ₆ H ₆ O ₂	4.59	[M+H] ⁺	111.044 05	111.043 98	-0.69	93.03, 83.05	GL
Other4	香兰素	C ₈ H ₈ O ₃	12.36	[M+H] ⁺	153.054 62	153.054 63	-0.06	125.06, 93.03	GL
Other5	丹皮酚	C ₉ H ₁₀ O ₃	15.80	[M+H] ⁺	167.070 27	167.070 18	-0.54	149.06, 123.04, 119.05	GL
Other6	黑麦草内酯	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	19.33	[M+H] ⁺	197.117 22	197.117 16	-0.31	179.10, 151.11, 81.07	GL
Other7	异葫芦素 B	C ₃₂ H ₄₆ O ₈	42.12	[M-H] ⁻	557.311 99	557.312 44	2.77	497.29, 401.24, 357.211 65.09	GL
Other8	前列腺素 B ₁	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	48.12	[M+H] ⁺	337.237 33	337.233 98	-9.95	319.23, 235.17, 151.07, 123.08	XB

*由对照品比对确定 F-黄酮类 A-氨基酸类 O-有机酸类 N-核苷类 AN-生物碱及含氮类 S-皂苷类 V-挥发油类 C-糖类 Other-其他类 GL-瓜蒌药材 XB-薤白药材 GXD-瓜蒌薤白汤

*determined by reference substance F-flavonoids A-amino acids O-organic acids N-nucleoside AN-alkaloids and nitrogens S-saponins V-volatile oils C-carbohydrate Other-other classes GL-Trichosanthes Fructus XB-Allium macrostemon GXD-Gualouxiexiebai Decoction

酮类 6 个、氨基酸类 10 个、有机酸 14 个、核苷类 4 个、生物碱及含氮类 11 个、皂苷类 6 个、挥发油 3 个、糖类 6 个、其他类 8 个。

3.1.2 体内入血成分鉴定 给药组血清总离子流图如图 2 所示, 共鉴定出 23 个入血成分, 详见表 2。

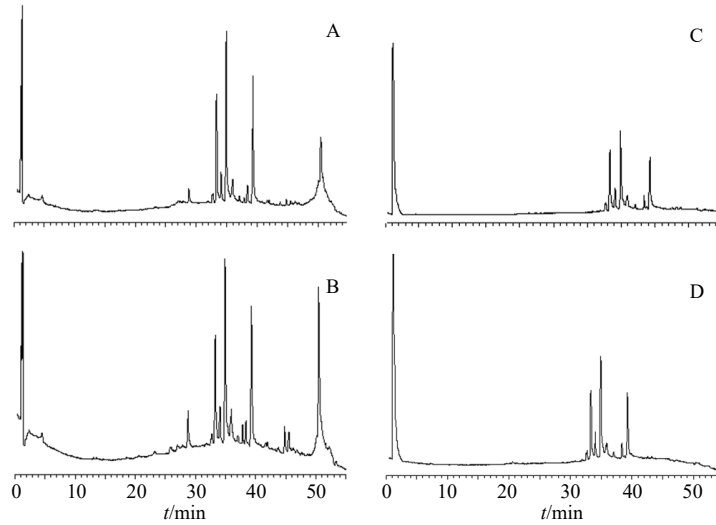
3.1.3 体内外成分鉴定 瓜蒌薤白汤中共鉴定出 68 个成分, 入血成分中鉴定出 23 个, 以黄酮类 F4 为例, 该化合物在正离子模式下分子离子峰为 287.05, 经 Xcalibur 软件拟合得到其对应分子式 C₁₅H₁₀O₆, 通过分析其二级并通过对照品比对, 鉴定 F4 为木犀草素, 裂解规律见图 3-A。以有机酸类 O5 在负离子模式下分子离子峰为 152.01, 经 Xcalibur 软件拟合得到其对应分子式为 C₈H₈O₄, 根据该化合物的精确相对分子质量、断裂方式, 分析其二级碎片离子信息, 最终确定 O5 为香草酸, 裂解规律见图 3-B。

3.2 生物信息学研究

3.2.1 瓜蒌薤白汤活性成分的筛选与靶点的预测 瓜蒌薤白汤入血成分均通过 SwissADME 筛选, 利用 SwissTargetPrediction 数据库, 下载活性成分的靶点表格, 规定 probability ≥ 1 倍中位数为筛选条件, 合并去重后得到 396 个瓜蒌薤白汤潜在作用靶点。

3.2.2 冠心病靶点的筛选 在 GenenCards 数据库中, 以“coronary heart disease”为关键词, 设置 relevance score ≥ 30 为筛选条件, 得到靶点 379 个。同样将以上关键词输入到 OMIM 和 DrugBank 数据库, 分别得到 553、35 靶点。在 DisGeNET 数据库中, 筛选出 score 值大于等于 2 倍中位数的靶点 415 个。最后将 4 个数据库得到的靶点求并集, 删去重复项后共得到 1185 个冠心病候选靶点。

3.2.3 核心靶点的筛选及 PPI 网络图的构建 将瓜蒌薤白汤活性成分对应的 396 个靶点与冠心病相关



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 and negative ion mode

表 2 瓜蒌薤白汤 23 个入血成分质谱信息

Table 2 Mass spectrum information of 23 absorbed components of Gualouxiebai Decoction in plasma

编号	鉴定成分	分子式	t_R /min	离子模式	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子
F4	木犀草素	$C_{15}H_{10}O_6$	6.91	$[M+H]^+$	287.055 01	287.054 32	-2.40	287.05, 269.04, 153.02, 135.04, 89.04
F5	芹菜素	$C_{15}H_{10}O_5$	31.44	$[M+H]^+$	271.060 09	271.058 41	-6.24	271.06, 153.02, 91.05
A2	缬氨酸	$C_5H_{11}NO_2$	1.24	$[M+H]^+$	118.086 25	118.086 15	-0.11	118.09, 57.06
A4	蒜氨酸	$C_6H_{11}NO_3S$	1.32	$[M+H]^+$	178.053 24	178.053 42	1.01	132.04, 91.02, 88.04
A7	焦谷氨酸	$C_5H_7NO_3$	1.17	$[M+H]^+$	130.049 86	130.049 93	0.46	130.05, 84.04
A9	苯丙氨酸	$C_9H_{11}NO_2$	1.37	$[M+H]^+$	166.086 25	166.086 14	-0.69	149.06, 131.05, 120.08, 79.05
A10	色氨酸	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	1.37	$[M+H]^+$	205.097 15	205.096 97	-0.90	205.10, 188.07, 170.06, 118.06
O3	肉桂酸	$C_9H_8O_2$	36.16	$[M+H]^+$	149.059 70	148.051 88	-0.98	149.06, 103.05, 79.05
O5	香草酸	$C_8H_8O_4$	1.35	$[M-H]^-$	167.03498	167.034 74	5.12	152.01, 123.04, 108.02
O8	水杨酸	$C_7H_6O_3$	14.89	$[M+H]^+$	139.038 97	139.038 97	0.86	109.03, 93.03
O10	天师酸	$C_{18}H_{34}O_5$	21.70	$[M-H]^-$	329.233 34	329.233 28	1.03	229.14, 211.13, 171.10
O12	十八碳三烯酸	$C_{18}H_{30}O_3$	37.82	$[M+H]^+$	295.226 77	295.227 17	0.40	259.20, 99.08, 81.07
O14	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	43.92	$[M-H]^-$	279.232 95	279.231 84	1.05	279.23, 261.22
O15	瓜蒌酸	$C_{18}H_{30}O_2$	28.88	$[M+H]^+$	279.231 85	279.231 41	-1.60	279.23, 149.02, 121.03
AN2	葫芦巴碱	$C_7H_7NO_2$	1.21	$[M+H]^+$	138.054 95	138.054 95	-0.04	110.06, 94.07
AN12	4-氨基苯甲酸丁酯	$C_{11}H_{15}NO_2$	8.41	$[M-H]^-$	192.103 00	192.102 39	2.52	138.05, 110.06, 94.07
AN13	酒渣碱	$C_{17}H_{12}N_2O_4$	18.61	$[M+H]^+$	309.086 98	309.086 00	-3.18	281.09, 263.08, 235.09, 206.08
S4	7-羟基色原酮	$C_9H_6O_3$	16.82	$[M-H]^-$	161.024 41	161.024 40	6.70	161.02
S5	gitogenin	$C_{27}H_{44}O_4$	33.74	$[M-H]^-$	431.316 68	431.317 38	4.16	431.32
V2	邻苯二甲酸二丁酯	$C_{16}H_{22}O_4$	37.66	$[M+H]^+$	279.159 08	279.159 00	-0.31	167.03, 149.02, 121.03, 93.03
C3	半乳糖酸- γ -内酯	$C_6H_{10}O_6$	1.16	$[M-H]^-$	177.040 46	177.040 45	6.13	177.04
Other6	黑麦草内酯	$C_{11}H_{16}O_3$	8.98	$[M+H]^+$	197.117 22	197.117 11	-0.56	197.12, 151.11
Other8	前列腺素 E ₁	$C_{20}H_{35}O_4$	24.47	$[M+H]^+$	355.247 90	355.245 18	-2.72	355.24

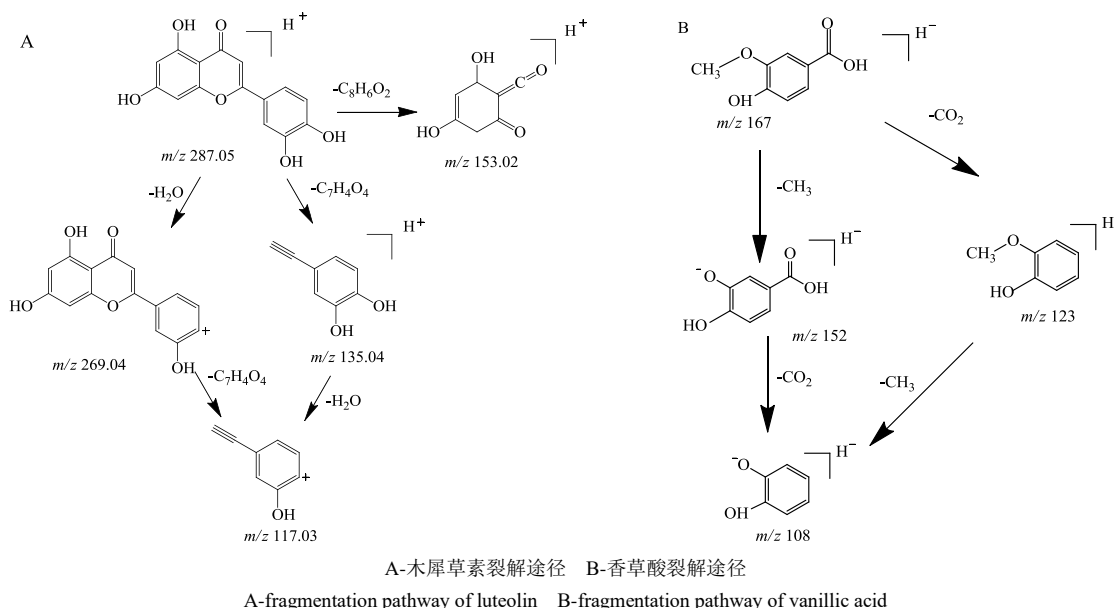


图3 裂解途径图

Fig. 3 Fragmentation pathway

的 1185 个疾病靶点取交集，得到 70 个瓜蒌薤白汤防治冠心病的潜在靶点（图 4）。将获得的 70 个核心靶点上传至 STRING 数据库，蛋白种属为“homo sapiens”，置信度为 0.4，删除游离靶点，得到 PPI 网络的 TSV 文件，将其导入 Cytoscape 3.7.2 构建 PPI 网络（图 5）。该网络共有 67 个节点，492 条边。

3.2.4 生物过程和通路富集分析 通过 Metascape 数据库对 70 个核心靶点进行 KEGG 富集分析，共获得 158 条结果 ($P < 0.01$)，根据 P 值排序结果，筛选出 10 条排名最高的富集通路（表 3），包括脂质与动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、癌症的途径 (pathways in cancer)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)、IL-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway)、核因子 κ B 信号通路 (NF- κ B signaling pathway)、丝裂原激活蛋白激酶信号通路 (MAPK signaling pathway)、PPAR 信号通路 (PPAR signaling pathway) 等，见图 6。GO 功能富集分析，主要包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组成 (cellular component, CC) 与分子功能 (molecular function, MF)。共获得 640 个 GO 富集分析结果 ($P < 0.01$)，根据 P 值简单排序后，选取前 15 个生物过程、前 10 个细胞组成和前 10 个分子功能组成 GO 富集分析柱形图，见图 7。GO-BP 分析可得到 447 个条目，发现瓜蒌薤白汤防治冠心病富集在循环系统进程、蛋白质磷酸化的正调控、激素水平调节、激素应答等 BP；GO-CC 分析得到 90

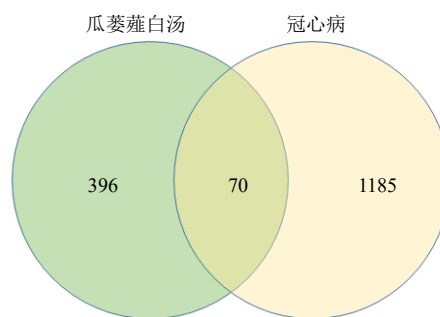


图4 瓜蒌薤白汤活性成分靶点与冠心病靶点韦恩图

Fig. 4 Venn diagram of GXD active ingredient targets and CHD targets

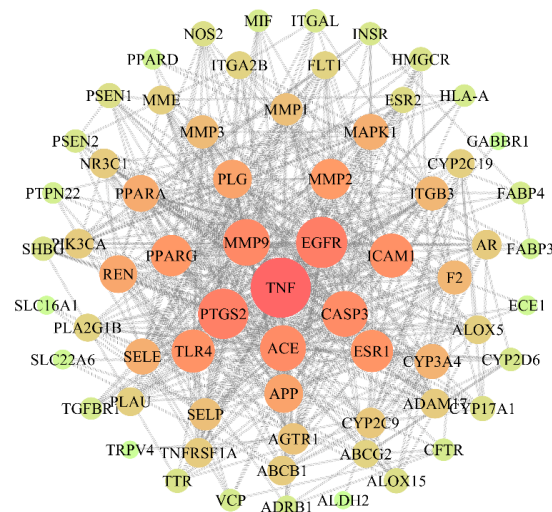


图5 瓜蒌薤白汤治疗冠心病的 PPI 网络

Fig. 5 PPI network of GXD in the treatment of CHD

表 3 瓜蒌薤白汤治疗冠心病的核心靶点拓扑参数

Table 3 Topological parameters of core target points of GXD in the treatment of CHD

靶点名称	节点连接度	中介中心度	接近中心度
TNF	48	0.154 478 82	0.295 212 77
EGFR	38	0.076 417 90	0.371 266 00
PTGS2	37	0.063 171 65	0.411 411 41
MMP9	33	0.023 187 93	0.492 424 24
ACE	32	0.064 436 54	0.425 403 23
CASP3	32	0.045 133 93	0.453 629 03
ICAM1	30	0.022 580 28	0.487 356 32
TLR4	29	0.026 208 55	0.482 758 62
ESR1	28	0.041 416 95	0.410 052 91
PPARG	27	0.041 175 00	0.424 501 42

个条目, 发现其富集在脂筏、膜侧、受体复合物、细胞质核周区等 CC; GO-MF 分析得到 103 个条目, 发现其富集在脂质结合、内太酶活力以及蛋白域特异结合等 MF。

3.2.5 “活性成分-核心靶点-通路”网络图的构建将瓜蒌薤白汤活性成分、信号通路、核心靶点导入 Cytoscape 3.7.2 软件, 得“活性成分-核心靶点-通路”网络图, 见图 8。网络图中包括 99 个节点 (包括 65 个核心靶点, 23 个活性成分, 10 个通路节点) 和 193 条边。成分-靶点-通路网络图靶点最大 degree 值为 25, 最小为 1。平均度值 4, 平均介数为 0.037, 平均接近值为 0.31, 其中有 5 个成分、10 个靶基因, 5 条通路在平均值以上。推测前列腺素 E1 (Other8)、芹菜素 (F5)、木犀草素 (F4)、亚油酸 (O14)、酒

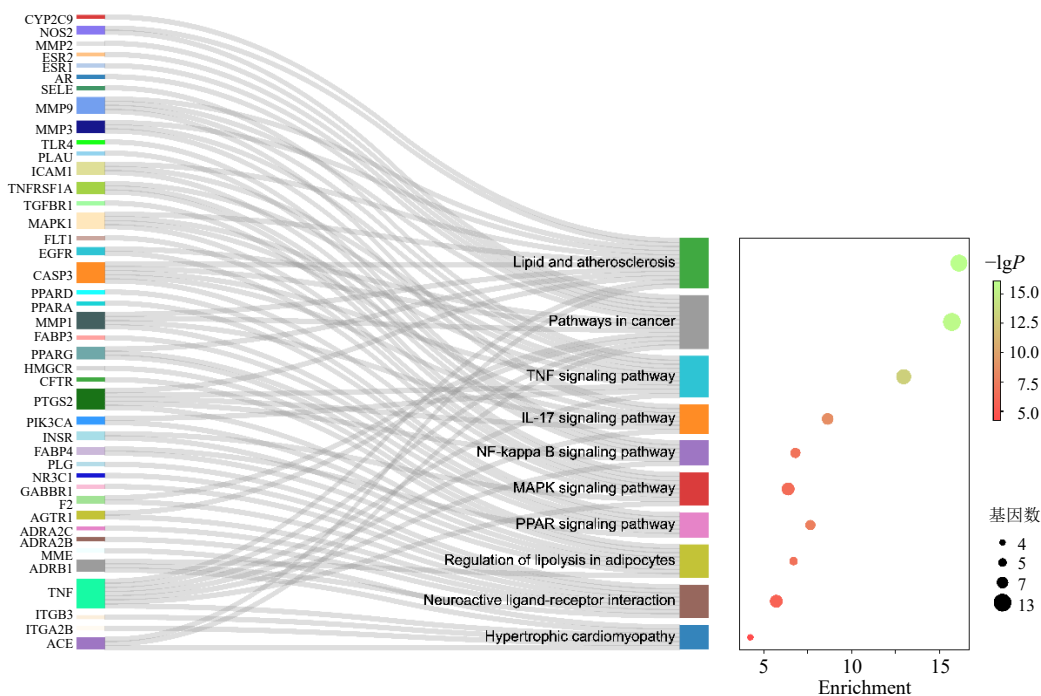


图 6 瓜蒌薤白汤防治冠心病核心靶点 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of key targets from Gualouxiebai Decoction for treatment of CHD

渣碱 (AN13) 为瓜蒌薤白汤治疗冠心病的关键成分。PTGS2、TNF、MMP9、EGFR、CASP3、AR、ACE、ESR2、MMP2、F2 为瓜蒌薤白汤治疗冠心病的主要靶点。通路方面则集中在脂质与动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、癌症的途径 (pathways in cancer)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)、核因子 κ B 信号通路 (NF- κ B signaling pathway)、丝裂原激活蛋白激酶信号通路 (MAPK signaling pathway)。

3.3 分子对接验证

以前列腺素 E₁、芹菜素、木犀草素、酒渣碱为配体, PTGS2、TNF、MMP9、EGFR 为受体进行结合能力预测, 见图 9。对接结果只保留每对分子对接的 predicted binding affinity 绝对值最高的。一般认为结合能小于 -4.25 kJ/mol 提示配体与受体有一定的结合活性, 小于 -5.0 kJ/mol 有较好的结合活性, 小于 -7.0 kJ/mol 有强烈的结合活性^[10]。本实验对接得分均 \leq -4.25 kJ/mol, 其中对接得分 \leq -9.0 kJ/mol

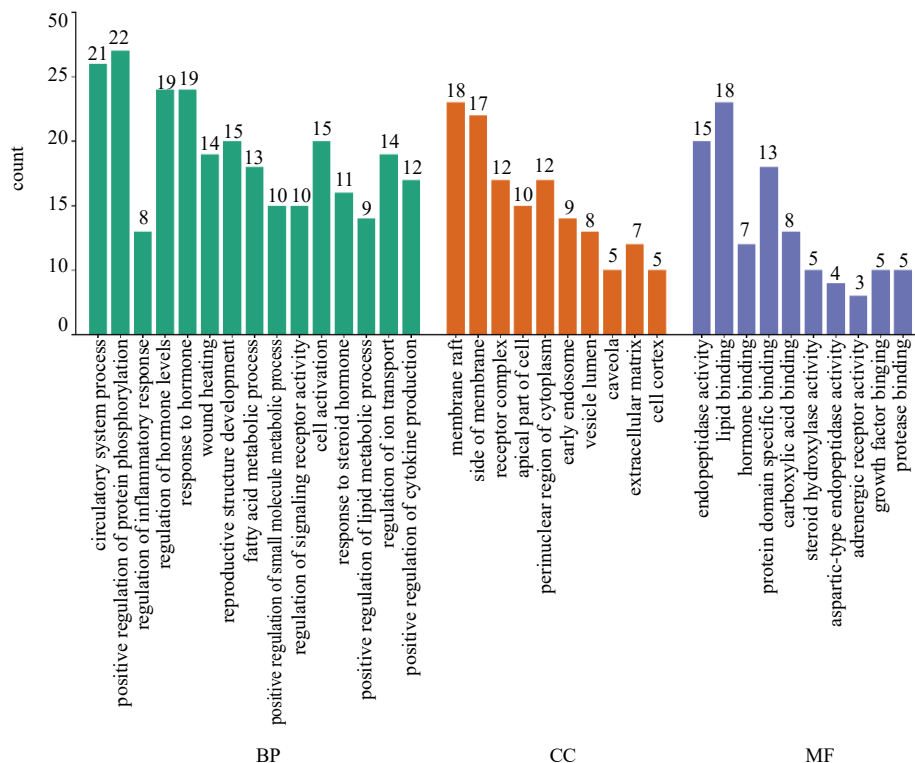
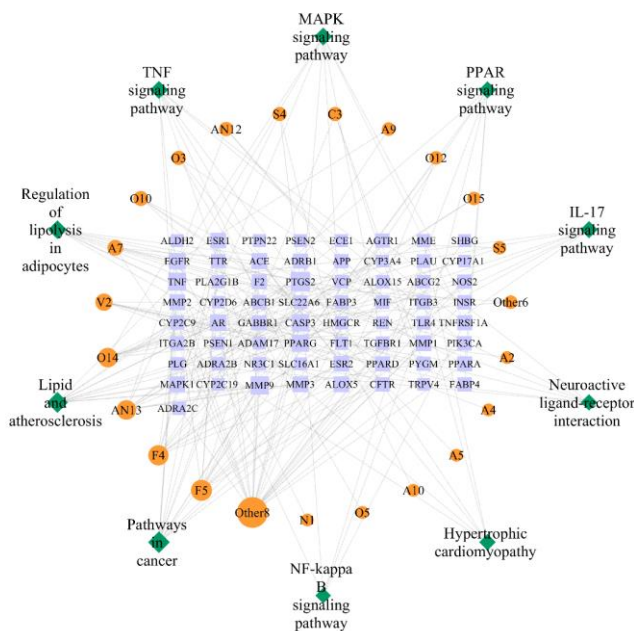


图 7 瓜蒌薤白汤防治冠心病核心靶点的 GO 富集分析

Fig. 7 GO enrichment analysis of key targets from Gualouxiebai Decoction for treatment of CHD



圆形节点为活性成分 矩形为靶点 菱形为通路

Round nodes represent active ingredients, rectangle represents target, the diamond represents the pathway

图 8 “活性成分-核心靶点-通路” 互作网络

Fig. 8 Active component-key target-pathway interaction network

的成分占 37.5%，对接得分在 -9.0~-7.0 kJ/mol 的成分也占 37.5%。木犀草素和 PTGS2、EGFR 对接得分最高，可视化结果见图 10。

4 讨论

瓜蒌薤白汤具有振奋胸阳，行气散结的功效，是治疗冠心病的经典方剂，临床应用广泛且疗效显



图9 靶蛋白-活性成分分子对接得分热图

Fig. 9 Heat maps of molecular docking scores of target protein-active ingredient

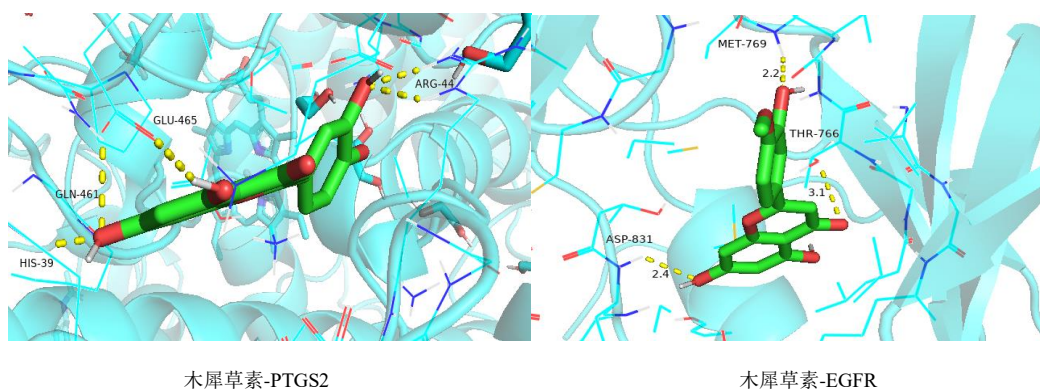


图10 靶蛋白-活性成分分子对接模式图

Fig. 10 Molecular docking pattern of target protein-active ingredient

血管活性药物，可以抑制血小板活化，改善红细胞变形能力^[11]；同时可以抑制血管平滑肌细胞内钙离子内流，使血管平滑肌舒张^[12]；此外临床研究表明前列腺素 E₁ 能抑制动脉粥样硬化斑块的形成^[13]。黄酮类成分在瓜蒌薤白半夏汤治疗冠心病中起到了较为重要的作用，芹菜素、木犀草素是2种天然的类黄酮化合物。有研究发现^[14]，芹菜素通过抑制 NF-κB 信号通路，显著降低 NF-κB、COX-2、TNF-α 的水平，提高 IL-10 的水平，发挥抗动脉粥样硬化的效果。木犀草素具有抗动脉粥样硬化^[15]、维持 Ca²⁺ 的平衡^[16]、心肌细胞保护^[17]等作用。由此可知 PTGS2、TNF、MMP9、EGFR、CASP3、AR、ACE、ESR2、MMP2、F2 可能为瓜蒌薤白汤治疗冠心病的主要靶点。PTGS2 也被称为环氧化酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2)，可以引起前列腺素 (prostaglandin E₁, PGE₁)、PEG₂ 和 PGI₂ 等含量升高，导致炎症反应，研究发现 COX-2 抑制药可减轻炎症，舒张血管平滑肌^[18]。TNF 能诱导白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6)

著。本研究采用液质联用技术对瓜蒌薤白汤体内外成分进行全面鉴定，并基于多成分、多靶点的研究思路，应用网络药理学技术，分析瓜蒌薤白汤治疗冠心病的关键靶点，阐述其作用机制，为瓜蒌薤白汤的临床应用提供科学依据。

本实验体外共识别出包括黄酮类、氨基酸类、有机酸类等 68 个化学成分，随后在大鼠给药血清样本中捕捉到了 23 个入血成分。网络药理学研究结果表明瓜蒌薤白汤可以通过多通路多靶点发挥疗效，“活性成分-核心靶点-通路”网络图提示，前列腺素 E₁ (Other8)、芹菜素 (F5)、木犀草素 (F4)、酒渣碱 (AN13)、亚油酸 (O14) 可能是瓜蒌薤白汤治疗冠心病的关键成分。前列腺素 E₁ (Other8) 属于

的产生，导致血管内粥样硬化斑块的形成^[19]。有研究发现^[20-21]，冠心病患者的平滑肌细胞中 MMP2 和 MMP9 的表达显著增加，提示 MMP2/MMP9 在冠心病的发病过程中起着重要的作用。

综上所述，瓜蒌薤白汤中芹菜素、木犀草素、酒渣碱、亚油酸等核心功效成分作用于 PTGS2、TNF、MMP9 等靶点，通过脂质与动脉粥样硬化、癌症的途径、肿瘤坏死因子信号通路、NF-κB 信号通路、MAPK 等信号通路发挥治疗冠心病的功效。该研究体现了中药复方多成分、多靶点、多途径的特点，可为临床上的合理应用提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Widimsky P, Crea F, Binder R K, *et al.* The year in cardiology 2018: Acute coronary syndromes [J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(3): 271-282.
 [2] Lin P, Wang Q, Liu Y H, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of the chemical profile for

- Gualou-Xiebai-Banxia Decoction, a classical traditional Chinese medicine formula for the treatment of coronary heart disease, by UPLC-Q/TOF-MS combined with chemometric analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 197: 113950.
- [3] 张恒勋, 李海龙, 刘小锋. 瓜蒌薤白桂枝汤对老年冠心病患者的临床观察 [J]. *世界中医药*, 2020, 15(8): 1157-1161.
- [4] 李明明, 黄芳, 韩林涛, 等. 瓜蒌薤白酒汤对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(16): 188-192.
- [5] 周波, 陈飞, 仲维娜, 等. 从 NO、NOS 变化探讨瓜蒌薤白酒汤对心肌缺血再灌注损伤的防治作用 [J]. *中医药学报*, 2010, 38(3): 36-38.
- [6] 卞海, 宋燕, 王雅娟, 等. 瓜蒌薤白酒汤对硬膜下血肿模型大鼠血清炎症因子影响的实验研究 [J]. *中成药*, 2014, 36(5): 1051-1053.
- [7] 谈晓莹, 李丹, 刘培, 等. 基于网络药理学及斑马鱼模型的瓜蒌薤白半夏汤干预慢性阻塞性肺疾病的作用机制研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(17): 5233-5243.
- [8] 于燕乔, 史大卓, 曲华, 等. 定性研究方法在中医药领域的应用与思考 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(13): 2058-2060.
- [9] 许雅婧, 乐心逸, 葛一蒙, 等. 复方芩兰口服液的体外成分分析和网络药理学研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(9): 2623-2632.
- [10] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [11] 汪毓君, 喻莉. 前列腺素 E₁ 联合血必净对脓毒症患者炎症反应进程及靶器官功能的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2018, 24(4): 537-540.
- [12] 吴可光, 刘洪琴. 前列腺素 E₁ 在心血管疾病中的应用及评价 [J]. *实用内科杂志*, 1993, 13(5): 60-61.
- [13] 王淼, 荣阳, 荣根满. 前列腺素 E₁ 治疗脑梗死合并冠心病的疗效分析与临床研究 [J]. *中国医药指南*, 2016, 14(15): 79-80.
- [14] Kumar K S, Sabu V, Sindhu G, *et al.* Isolation, identification and characterization of apigenin from *Justicia gendarussa* and its anti-inflammatory activity [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 59: 157-167.
- [15] Jia Z Q, Nallasamy P, Liu D M, *et al.* Luteolin protects against vascular inflammation in mice and TNF-alpha-induced monocyte adhesion to endothelial cells via suppressing IKB α /NF- κ B signaling pathway [J]. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(3): 293-302.
- [16] Hu W J, Xu T D, Wu P, *et al.* Luteolin improves cardiac dysfunction in heart failure rats by regulating sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase 2a [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41017.
- [17] 王清岑, 殷新, 周罗慧, 等. 木犀草素心血管保护作用研究进展 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(11): 57-60.
- [18] Chenevard R, Hürlimann D, Béchir M, *et al.* Selective COX-2 inhibition improves endothelial function in coronary artery disease [J]. *Circulation*, 2003, 107(3): 405-409.
- [19] Ghosh C, Bishayi B. Toll-like receptor 2 and 6 interdependency in the erosive stage of *Staphylococcus aureus* induced septic arthritis mediated by IFN- γ and IL-6: A possible involvement of IL-17 in the progression of the disease [J]. *Immunobiology*, 2015, 220(7): 910-923.
- [20] Manginas A, Bei E, Chaidaroglou A, *et al.* Peripheral levels of matrix metalloproteinase-9, interleukin-6, and C-reactive protein are elevated in patients with acute coronary syndromes: Correlations with serum troponin I [J]. *Clin Cardiol*, 2005, 28(4): 182-186.
- [21] 张驰, 李晓怡, 杨蓓, 等. 联合检测 MMP2 和 MMP9 在冠状动脉粥样硬化性心脏病患者中的临床意义 [J]. *东南大学学报: 医学版*, 2019, 38(1): 51-56.

[责任编辑 王文倩]