

经典名方阳和汤指纹图谱及功效关联物质预测分析

张泽康, 张 晴, 窦敏航, 王昌海, 赵玥瑛, 席 铖, 张馨雨, 孙 萌, 董 爽, 杜守颖, 白 洁*, 陆 洋*
北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要:目的 基于指纹图谱及网络药理学, 建立阳和汤指纹图谱检测方法, 并对其功效关联物质进行预测分析, 为阳和汤质量控制提供参考依据。**方法** 采用 HPLC 建立阳和汤指纹图谱, 对共有峰进行归属和指认, 并运用网络药理学构建阳和汤“成分-靶点-通路”网络关系图, 进一步佐证阳和汤功效成分选择的合理性。**结果** 阳和汤的 HPLC 指纹图谱共标定 15 个共有峰, 通过对照品指认出 2 号峰 5-羟甲基糠醛、5 号峰芥子碱硫氰酸盐、8 号峰甘草苷、9 号峰毛蕊花糖苷、11 号峰肉桂酸、12 号峰桂皮醛、13 号峰甘草酸、15 号峰盐酸麻黄碱 8 个共有色谱峰, 相似度均 >0.83, 主要药效物质群可以从药材-饮片-基准样品逐级较为完整的传递, 且归属关系清晰明确; 采用网络药理学对筛选出的 8 个活性成分进行“成分-靶点-通路”网络构建与分析, 富集的通路中包括癌症信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路、鞘脂信号通路、甲状腺激素信号通路等。根据成分、靶点以及通路之间的连接度, 初步预测甘草酸、甘草苷、桂皮醛、肉桂酸、毛蕊花糖苷、芥子碱硫氰酸盐、盐酸麻黄碱 7 个活性成分可能通过调节这些信号通路达到温阳补血、散寒通滞的作用。**结论** 通过 HPLC 指纹图谱结合网络药理学分析预测阳和汤治疗疾病的潜在功效关联物质, 建立的方法操作便捷, 稳定性好, 可用于阳和汤的质量控制, 也为深入研究阳和汤的质量标准和作用机制提供参考。

关键词: 经典名方; 阳和汤; 指纹图谱; 网络药理学; 功效关联物质; 芥子碱硫氰酸盐; 5-羟甲基糠醛; 甘草苷; 毛蕊花糖苷; 肉桂酸; 桂皮醛; 甘草酸; 盐酸麻黄碱

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)04-1106-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.010

Fingerprints of classical prescription Yanghe Decoction and predictive analysis of its efficacy related substance

ZHANG Ze-kang, ZHANG Qing, DOU Min-hang, WANG Chang-hai, ZHAO Yue-ying, XI Cheng, ZHANG Xin-yu, SUN Meng, DONG Shuang, DU Shou-ying, BAI Jie, LU Yang
School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective Based on fingerprint and network pharmacology, a fingerprint detection method of Yanghe Decoction (阳和汤) was established, and its efficacy related substances were predicted and analyzed to provide a reference basis for Yanghe Decoction quality control. **Methods** The Yanghe Decoction fingerprint was established by HPLC, the common peaks were assigned and identified, and the “component-target-pathway” network diagram of Yanghe Decoction was constructed by network pharmacology to further prove the rationality of the selection of functional components of Yanghe Decoction. **Results** A total of 15 common peaks were calibrated by HPLC fingerprint of Yanghe Decoction. Eight common peaks of 5-hydroxymethylfurfural (peak 2), sinapine thiocyanate (peak 5), glycyrrhizin (peak 8), verbascoside (peak 9), cinnamic acid (peak 11), cinnamaldehyde (peak 12), glycyrrhizic acid (peak 13) and ephedrine hydrochloride (peak 15) were identified by the reference substance, and the similarity was more than 0.83. The main groups of pharmacodynamic substances can be transferred from raw materials, decoction pieces to benchmark samples step by step, with a clear affiliation relationship; The “component-target-pathway” network of eight selected active components was constructed and analyzed by network pharmacology, the enriched pathways included cancer signal pathway, lipid and atherosclerosis signal pathway, sphingolipid signal pathway, thyroid hormone signal pathway and so on. According to the

收稿日期: 2022-08-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82173989)

作者简介: 张泽康 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药新剂型、新技术。Tel: 18189512019 E-mail: 2557158263@qq.com

*通信作者: 白 洁, 女, 副教授, 硕士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。Tel: (010)84738657 E-mail: baijie22811@163.com

陆 洋, 男, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。Tel: (010)83912123 E-mail: landocean28@163.com

connectivity between compounds, targets and pathways, it was preliminarily predicted that glycyrrhizic acid, glycyrrhizin, cinnamaldehyde, cinnamic acid, verbascoside, sinapine thiocyanate and ephedrine hydrochloride may achieve the effects of warming yang and tonifying blood, dispelling cold and dredging stagnation by regulating these signal pathways. **Conclusion** HPLC fingerprint combined with network pharmacology analysis is used to predict the potential efficacy related substances of Yanghe Decoction in the treatment of diseases. The established method is convenient and stable, and can be used for the quality control of Yanghe Decoction. It also provides a reference for the further study of the quality standard and action mechanism of Yanghe Decoction.

Key words: classic prescription; Yanghe Decoction; fingerprint; network pharmacology; efficacy related substances; sinapine thiocyanate; 5-hydroxymethylfurfural; glycyrrhizin; verbascoside; cinnamic acid; cinnamaldehyde; glycyrrhizic acid; ephedrine hydrochloride

经典名方是我国历代医家智慧的结晶，为推动经典名方现代化，国家药品监督管理局于2020年发布了《中药注册分类及申报资料要求》^[1]通告，其中将中药注册分类中的第3类古代经典名方中药复方制剂细分为“3.1 按古代经典名方目录管理的中药复方制剂”及“3.2 其他来源于古代经典名方的中药复方制剂（以下简称‘3.2类’）”，3.2类包括未按古代经典名方目录管理的古代经典名方中药复方制剂和基于古代经典名方加减化裁的中药复方制剂，加强了对古典医籍精华的梳理和挖掘。为保证经典名方复方制剂质量疗效一致性，需构建药材、饮片、基准样品、制剂全过程的质量控制体系；为建立系统全面的质量检测方法，指纹图谱被列为质量评价的重要指标；为保障质量评价指标的科学性，需确认影响其品质的功效关联物质^[2]。阳和汤出自清代王洪绪所著《外科证治全生集》，由熟地黄、鹿角胶、肉桂、炒白芥子、麻黄、姜炭、甘草7味药组成，具有温阳补血、散寒通滞的功效，主治阴疽。在现代临床中，阳和汤及其加减方常用于治疗乳腺癌等恶性肿瘤。

近年来，对于阳和汤的研究主要集中在对乳腺癌、糖尿病足病、心血管系统疾病、骨关节疾病等患者临床疗效的研究以及治疗机制的探讨，而关于其质量控制方面的文献报道较少，仅有窦建卫等^[3-6]从成分定量分析、薄层色谱定性鉴别等方法对阳和汤全方中的部分单味药进行了质量研究，方法较为常规，且存在不足，如单味药基原、处方剂量等均缺乏考证，质量控制研究仅从单味药出发，缺乏对复方多成分、多靶点综合作用的观念等。基于此，本课题借鉴《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）》^[7]相关内容，从整体性出发建立了阳和汤药材、饮片及基准样品的HPLC指纹图谱，并整合多学科技术方法，基于

可测性、可追溯性、有效性综合预测，分析阳和汤治疗阳虚寒痰凝聚的功效关联物质，为后期阳和汤复方制剂全方位的质量控制及其作用机制研究奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo Fisher U3000 高效液相色谱仪，DAD检测器，CM7.2 色谱工作站，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；BSA 224S 万分之一电子分析天平，赛多利斯科学仪器北京有限公司；JM-B100002 十万分之一电子天平，余姚市纪铭称重校验设备有限公司；H22-X3 型九阳电陶炉，杭州九阳生活电器有限公司；SHB-III型循环水式多用真空泵，郑州长城科工贸有限公司；KQ5200DA 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；FD-2A 真空冷冻干燥机，北京博医康实验仪器有限公司；DZF-6051 型真空干燥器，北京利康达圣科技有限公司。

1.2 试药

对照品 5-羟甲基糠醛（批号 H12M9Z61023，质量分数≥98.0%），购自上海源叶生物科技有限公司；对照品毛蕊花糖苷（批号 111530-201914，质量分数 95.2%）、桂皮醛（批号 110710-202022，质量分数 98.7%）、肉桂酸（批号 110786-201604，质量分数 98.8%）、芥子碱硫氰酸盐（批号 111702-202006，质量分数 99.0%）、盐酸麻黄碱（批号 171241-201809，质量分数 100.0%）、甘草苷（批号 111610-201908，质量分数 95.0%）、甘草酸铵（批号 110731-202021，质量分数 96.2%），均购自中国食品药品检定研究院。乙腈、磷酸，色谱纯，美国 Fisher 公司；甲醇、三乙胺，分析纯，北京化工厂；纯净水，杭州娃哈哈集团有限公司；其他试剂均为分析纯。

阳和汤由熟地黄、鹿角胶、肉桂、炒白芥子、

麻黄、姜炭和甘草 7 味药组成, 其药材均购自道地产区或主产区。生地黄、肉桂、芥子、麻黄、干姜和甘草药材经北京中医药大学刘春生教授鉴定, 分别为玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根、樟科樟属植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮、十字花科白芥属植物白芥 *Sinapis alba* L. 的干燥成熟种子、麻黄科麻黄属植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎、姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。

本实验前期已按照《中国药典》2020 年版各单味药材项下的检测方法对药材进行检测, 含量均符合要求。按照《中国药典》2020 年版各单味药材项下的饮片炮制要求炮制成肉桂、炒白芥子、麻黄、姜炭及甘草饮片(熟地黄、鹿角胶饮片由健民药业集团股份有限公司提供)。经检测饮片均符合《中国药典》2020 年版项下相关规定。利用随机数表法将熟地黄、肉桂、炒白芥子、麻黄、姜炭、甘草 6 味饮片的不同批次随机组合, 阳和汤批次组合具体信息见表 1 (其中 15 批次阳和汤组合信息中鹿角胶的批号均为 20210901)。

表 1 阳和汤组合信息

Table 1 Combination information of Yanghe Decoction

编号	熟地黄	肉桂	炒白芥子	麻黄	姜炭	甘草
S1	191015	YL-165-2101004	20180301	201201	YL-014-2101003	YL-104-2103004
S2	191005	YL-165-2101003	200903	20220106	YL-014-2104003	YL-104-2106003
S3	191007	YL-165-2107004	20170301	20190701	YL-014-2106002	YL-104-2105004
S4	191014	YL-165-2101002	200901	201203	YL-014-2107002	YL-104-2107003
S5	191004	YL-165-2108002	200902	201205	20211208	YL-104-2108003
S6	191003	YL-165-2101005	20180303	20220107	YL-014-2104001	YL-104-2103002
S7	191006	YL-165-2108004	20170304	20220108	20211201	YL-104-2103004
S8	191008	YL-165-2107003	200905	20220110	20211202	YL-104-2105002
S9	191011	YL-165-2108005	20170302	20190702	20211203	YL-104-2107001
S10	191016	YL-165-2101001	20180304	201204	20211204	YL-104-2105004
S11	191013	YL-165-2107005	20170305	20190704	20211205	YL-104-2103003
S12	191012	YL-165-2108001	20170303	20190703	20211206	YL-104-2108003
S13	191010	YL-165-2107001	200904	201202	20211207	YL-104-2105003
S14	191009	YL-165-2107002	20180305	20220109	20211208	YL-104-2103002
S15	191017	YL-165-2108003	20180302	20190705	YL-014-2101003	YL-104-2105002

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液 (含 0.05% 三乙胺溶液), 梯度洗脱: 0~5 min, 2%~3%乙腈; 5~15 min, 3%~5%乙腈; 15~65 min, 5%~30%乙腈; 65~90 min, 30%~70%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 210、260 nm; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备

取各对照品适量, 精密称定, 加 50%甲醇配制 成含 5-羟甲基糠醛 17.90 μg/mL、毛蕊花糖苷 17.72 μg/mL、桂皮醛 22.64 μg/mL、肉桂酸 13.47 μg/mL、芥子碱硫氰酸盐 19.88 μg/mL、盐酸麻黄碱 19.78

μg/mL、甘草苷 15.60 μg/mL、甘草酸 14.60 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

根据本课题组前期确定的处方比例^[8]称取 7 味饮片量: 熟地黄 37.3 g、鹿角胶 11.2 g、肉桂 3.7 g、炒白芥子 7.5 g、麻黄 1.9 g、姜炭 1.9 g、甘草 3.7 g。置陶瓷锅中, 加水 450 mL, 以武火 (600 W) 煮沸后, 调节火力至 200 W 煎煮 30 min, 趁热用 300 目无纺布滤过, 药渣再加水 336 mL, 同法煎煮 30 min, 合并 2 次滤液 (将鹿角胶烊化至滤液中), 放凉后加水调整体积至 600 mL, 精密移取煎液 5 mL 于 20 mL 西林瓶中, 置于冷冻干燥机中冷冻干燥 48 h, 冻干温度 -80 °C, 真空度 (5±1) Pa。取出压盖密塞, 即得阳和汤基准样品冻干粉。

取阳和汤基准样品冻干粉适量,置 10 mL 容量瓶中,加 50%甲醇至刻度,摇匀,室温放置 10 min,于 10 000 r/min 离心 5 min,滤过,取续滤液,即得阳和汤基准样品供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 参照峰选择 在本实验所建立的指纹图谱中,芥子碱硫氰酸盐化学性质稳定,峰面积居中且稳定、分离度佳、峰形对称、保留时间适中,因此,选择芥子碱硫氰酸盐为参照峰(s),以计算其余峰的相对峰面积和相对保留时间。

2.4.2 精密度试验 取阳和汤基准样品冻干粉适量,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,连续进样 6 次,按照“2.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。以芥子碱硫氰酸盐为参照峰,计算各个共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明,各共有峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.75%,相对峰面积 RSD 均 < 2.10%,表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取阳和汤基准样品冻干粉适量,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份,按照“2.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。以芥子碱硫氰酸盐为参照峰,计算各个共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明,各共有峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.23%,相对峰面积 RSD 均 < 3.05%,表明该方法的重复性良好,可用于阳和汤指纹图谱的检测。

2.4.4 稳定性试验 取阳和汤基准样品冻干粉适量,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别在

制备后 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进样,按照“2.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。以芥子碱硫氰酸盐为参照峰,计算各个共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果表明,各共有峰的相对保留时间 RSD 均 < 0.12%,相对峰面积 RSD 均 < 2.34%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 阳和汤基准样品指纹图谱的建立及相似度评价

取 15 批阳和汤基准样品供试品溶液与对照品溶液按色谱条件进行测定,记录色谱图。通过《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2012 版)软件,以 S1 为参照峰,采用中位数法,进行多点校正和色谱峰匹配,得到 15 批阳和汤基准样品指纹图谱叠加图、共有模式图和混合对照品图,共确认 15 个共有峰,指认 8 个色谱峰。结果见图 1、2。

与对照指纹图谱相比,11 批阳和汤基准样品指纹图谱的相似度均 > 0.90,表明阳和汤基准样品的相似度良好,主要物质群差异性小,制备工艺较为科学合理,形成的基准样品对照图谱能够作为衡量阳和汤基准样品的标准参照物,结果见表 2。其中 S1、S5、S6、S15 相似度较低,本课题组在前期研究中发现^[8],熟地黄饮片中 5-羟甲基糠醛的含量对相似度结果影响较大,因此,后期研究中需严格控制熟地黄饮片的质量,从而保证阳和汤基准样品的整体质量。

2.6 阳和汤基准样品指纹图谱共有峰的归属

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和阳和汤基准样品供试

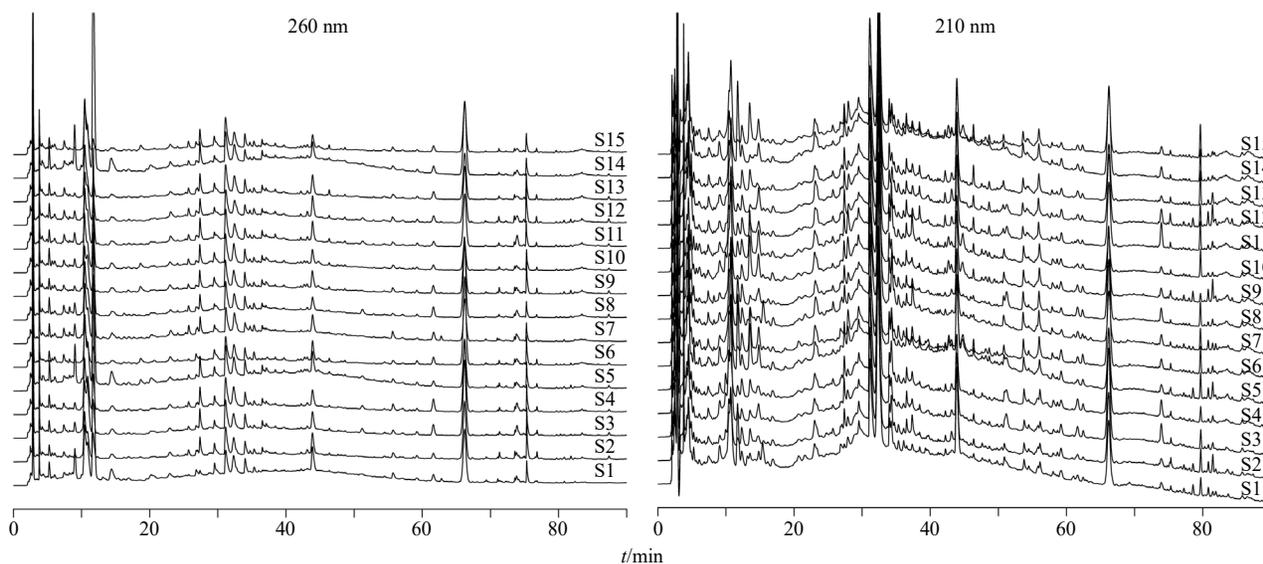


图 1 15 批阳和汤基准样品的指纹图谱叠加图

Fig. 1 Fingerprints of 15 batches of Yanghe Decoction benchmark sample

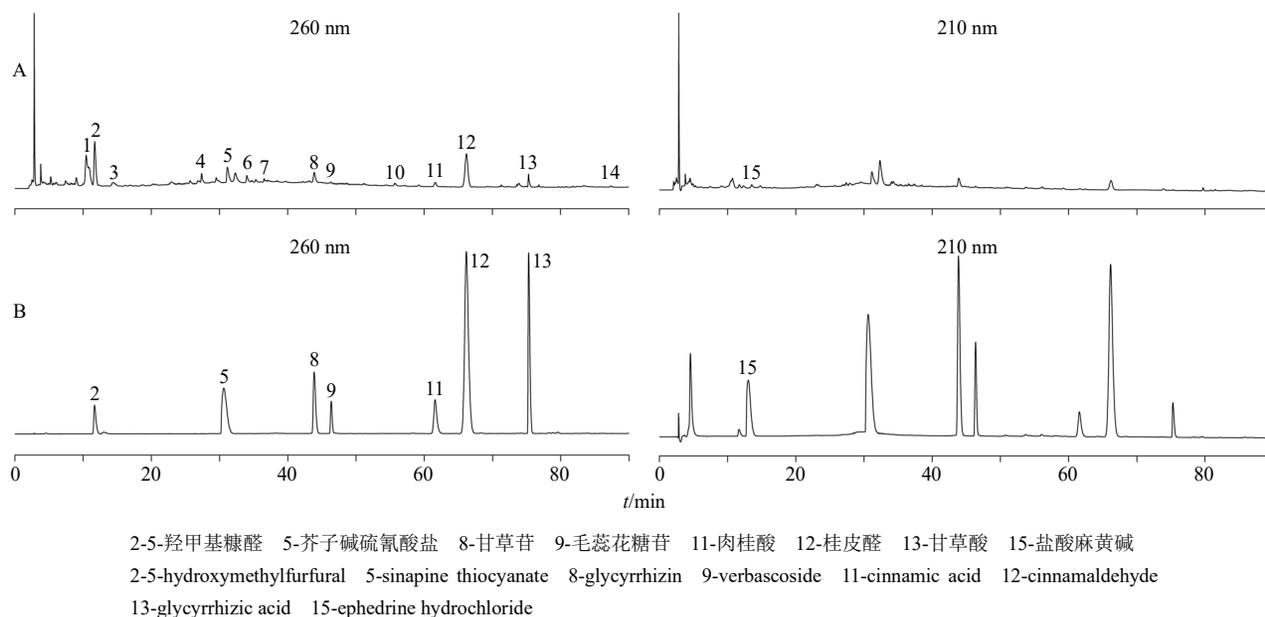


图2 阳和汤 (A) 及混合对照品 (B) 的 HPLC 图
 Fig. 2 HPLC of Yanghe Decoction (A) and mixed reference substances (B)

表2 15批阳和汤基准样品 HPLC 指纹图谱相似度
 Table 2 Similarity of HPLC fingerprints of 15 batches of Yanghe Decoction benchmark sample

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.860	S6	0.855	S11	0.946
S2	0.917	S7	0.958	S12	0.926
S3	0.918	S8	0.983	S13	0.912
S4	0.929	S9	0.908	S14	0.905
S5	0.838	S10	0.971	S15	0.879

品溶液。取阳和汤基准样品、单味饮片、缺单味饮片供试品溶液按“2.1”项色谱条件进行测定，记录色谱图。分别将阳和汤基准样品、单味饮片、缺单味饮片供试品溶液的色谱图进行叠加比较，对阳和汤基准样品指纹图谱的色谱峰进行归属分析，结果见图3和表3。

根据图3和表3对阳和汤基准样品指纹图谱中各共有峰进行归属分析，阳和汤基准样品指纹图谱共确认15个色谱峰，均可以在原料饮片中找到明确归属。具体归属情况为1、2、9号峰归属于熟地黄饮片；11、12号峰归属于肉桂饮片；3~7号峰归属于炒白芥子饮片；15号峰归属于麻黄饮片；8、10、13、14号峰归属于甘草饮片。经对照品比对指认8个色谱峰，分别为2号峰5-羟甲基糠醛、5号峰芥子碱硫氰酸盐、8号峰甘草苷、9号峰毛蕊花糖苷、11号峰肉桂酸、12号峰桂皮醛、13号峰甘草酸和15号峰盐酸麻黄碱，主要药效成分的指认率为

53.3%。综上所述，阳和汤基准样品的物质群可清晰的追溯到饮片，且色谱峰归属明确，指认率较高。

从色谱峰个数与峰强度看，炒白芥子对指纹图谱的贡献最大，甘草、熟地黄、肉桂和麻黄对指纹图谱的贡献度依次递减，姜炭对指纹图谱的贡献最低。姜炭主要含挥发油类，其指标性成分6-姜辣素在饮片炮制过程中损失严重，导致含量大幅度下降，在阳和汤煎煮过程中由饮片转移至冻干粉的量极少，在此色谱条件下未检测出色谱峰。因此，姜炭饮片在本实验色谱条件下难以获得指纹图谱信息。

2.7 基于网络药理学的阳和汤功效关联物质预测分析

2.7.1 基于可测性及可追溯性的活性成分筛选 根据文献研究，熟地黄为阳和汤君药，其主要活性成分为环烯醚萜类和苯乙醇类化合物，包括梓醇、毛蕊花糖苷、地黄苷D、5-羟甲基糠醛、地黄多糖等，具有抗肿瘤、调节血糖血脂、提高免疫、抗心肌缺血及保护中枢神经等药理作用^[9]；鹿角胶的主要活性成分为动物蛋白、氨基酸和微量元素（钙、镁、锌、铁、铜、锰等）等，具有补血活血、抗骨质疏松等药理作用^[10]；肉桂的主要活性成分为挥发油类，具有抗菌抗炎、抗病毒等药理作用^[11]；炒白芥子的主要活性成分为白芥子苷及其衍生物和脂肪酸类等，具有镇咳、祛痰、平喘、抗炎镇痛等药理作用^[12]；麻黄的主要活性成分为生物碱类，具有发汗、镇咳平喘、抗菌等药理作用^[13]；姜炭的主要活性成

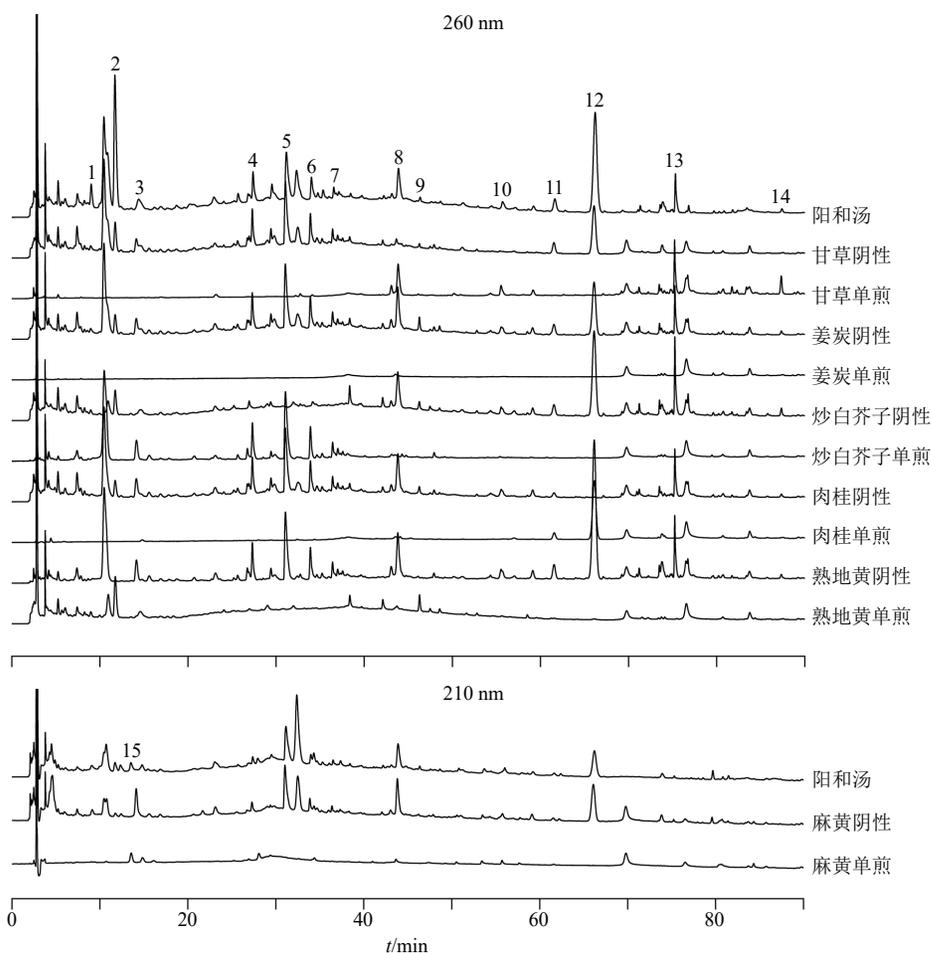


图3 阳和汤专属性色谱图

Fig. 3 Yanghe Decoction specific chromatogram

表3 阳和汤共有峰归属

Table 3 Yanghe Decoction common peak attribution

峰号	来源	化合物	峰号	来源	化合物
1	熟地黄	未指认	9	熟地黄	毛蕊花糖苷
2	熟地黄	5-羟甲基糠醛	10	甘草	未指认
3	炒白芥子	未指认	11	肉桂	肉桂酸
4	炒白芥子	未指认	12	肉桂	桂皮醛
5	炒白芥子	芥子碱硫氰酸盐	13	甘草	甘草酸
6	炒白芥子	未指认	14	甘草	未指认
7	炒白芥子	未指认	15	麻黄	盐酸麻黄碱
8	甘草	甘草苷			

分为姜辣素类，具有止呕等药理作用^[14]；甘草的主要活性成分为三萜类和黄酮类，具有抗肿瘤、抗炎、抗动脉粥样硬化等药理作用^[15]。

《中国药典》2020年版对于组方药的控制主要为熟地黄的地黄苷D，鹿角胶的L-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、L-脯氨酸，肉桂的桂皮醛，炒白芥子

的芥子碱硫氰酸盐，麻黄的盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱，姜炭的6-姜辣素，甘草的甘草苷、甘草酸。基于文献研究及指纹图谱的可测性和可追溯性，确定指纹图谱中辨认出的5-羟甲基糠醛、毛蕊花糖苷、桂皮醛、肉桂酸、芥子碱硫氰酸盐、盐酸麻黄碱、甘草苷、甘草酸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，为后续阳和汤“成分-靶点-通路”网络的构建做准备。

2.7.2 蛋白-蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建 将8个候选化合物的 Canonical SMILES 编号导入 swiss target prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行对应的靶点预测，去除重复靶点，获得8个候选化合物共涉及469个作用靶点。将筛选出的469个作用靶点，导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，选择物种为“Homo sapiens”，选择最高置信度蛋白交

互参数评分值>0.9 的蛋白互作数据,获得 PPI 网络图,见图 4。

将 PPI 网络图以 TSV 格式导入 Cytoscape 3.8.0 软件,并利用此软件筛选出度值≥24,介数中心性和接近中心性均大于中位数的靶点作为核心靶点,经筛选得到 88 个核心靶点,结果见表 4。

2.7.3 基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析和京都基因和基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路分析 将筛选得到的 88 个核心靶点利用 Metascape 数据库 (<https://metascape.org/gp/index.html>) 对其进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。选择物

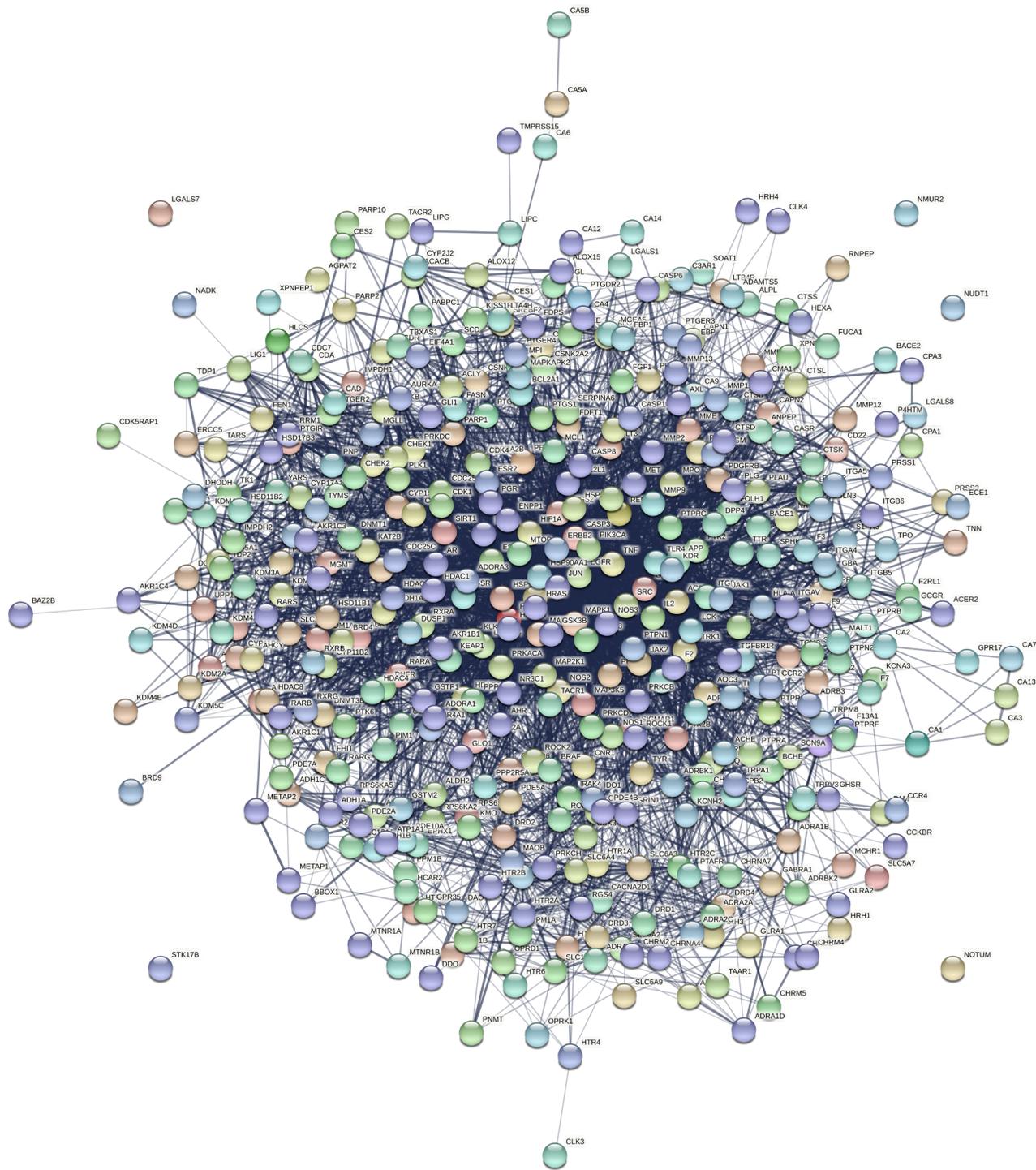


图 4 靶点 PPI 网络图
Fig. 4 Target PPI network

表4 核心靶点性质
Table 4 Core target properties

靶点	名称	度值	介数中心性	接近中心性
SIRT1	NAD 依赖性脱乙酰酶 sirtuin 1 (NAD-dependent deacetylase sirtuin 1)	82	3 942.410 568	0.001 167
MAPK1	MAP 激酶 ERK2 (MAP kinase ERK2)	102	3 898.004 404	0.001 192
MPO	髓过氧化物酶 (myeloperoxidase)	40	1 059.441 171	0.001 036
MAPK14	MAP 激酶 p38 α (MAP kinase p38 α)	79	3 058.900 421	0.001 147
CDK4	细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4)	59	918.452 526	0.001 071
PIK3CA	磷脂酰肌醇 3-激酶 p110- α 亚基 (PI3-kinase p110- α subunit)	74	988.611 634	0.001 117
STAT3	信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3)	111	3 397.198 080	0.001 209
CDK2	细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase 2)	58	1 011.322 925	0.001 070
ERBB2	受体蛋白-酪氨酸激酶 erbB-2 (receptor protein-tyrosine kinase erbB-2)	93	2 643.468 460	0.001 172
EGFR	表皮生长因子受体 erbB1 (epidermal growth factor receptor erbB1)	133	9 311.889 803	0.001 259
APP	β 淀粉样蛋白 A4 (β amyloid A4 protein)	67	5 392.578 900	0.001 140
BCL2L1	细胞凋亡调节因子 Bcl-X (apoptosis regulator Bcl-X)	76	868.548 384	0.001 133
CASP3	半胱氨酸蛋白酶 3 (caspase-3)	117	4 383.238 453	0.001 242
PRKDC	DNA 依赖性蛋白激酶 (DNA-dependent protein kinase)	42	740.175 380	0.001 025
HSP90AA1	热休克蛋白 HSP 90- α (heat shock protein HSP 90- α)	125	8 019.423 377	0.001 261
FYN	酪氨酸蛋白激酶 FYN (tyrosine-protein kinase FYN)	65	1 774.433 615	0.001 109
mTOR	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 mTOR (serine/threonine-protein kinase mTOR)	93	2 906.404 607	0.001 170
PARP1	聚[ADP-核糖]聚合酶-1 (poly[ADP-ribose] polymerase-1)	56	1 692.172 585	0.001 057
JUN	原癌基因 c-JUN (proto-oncogene c-JUN)	119	4 467.414 372	0.001 238
PTPN1	蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (protein-tyrosine phosphatase 1B)	43	914.678 363	0.001 057
HIF1A	缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α)	106	4 841.659 055	0.001 208
ITGB3	整合素 β -3 (integrin β -3)	52	1 124.005 963	0.001 088
AR	雄激素受体 (同源) [androgen receptor (by homology)]	68	2 129.191 804	0.001 122
JAK2	酪氨酸蛋白激酶 JAK2 (tyrosine-protein kinase JAK2)	62	1 496.327 418	0.001 107
ESR1	雌激素受体 α (estrogen receptor α)	111	6 070.420 712	0.001 236
MME	脑啡肽酶 (neprilysin)	33	1 208.940 494	0.000 998
PTPRC	白细胞共同抗原 (leukocyte common antigen)	72	2 730.153 621	0.001 121
PRKCD	蛋白激酶 C δ (protein kinase C δ)	43	721.311 950	0.001 052
HRAS	转化蛋白 p21/H-Ras-1 (transforming protein p21/H-Ras-1)	112	4 384.856 390	0.001 212
HDAC1	组蛋白脱乙酰基酶 1 (histone deacetylase 1)	71	2 085.279 031	0.001 125
NTRK1	神经生长因子受体 Trk-A (nerve growth factor receptor Trk-A)	35	888.133 298	0.001 044
SRC	酪氨酸蛋白激酶 SRC (tyrosine-protein kinase SRC)	128	7 752.305 277	0.001 261
GRB2	生长因子受体结合蛋白 2 (growth factor receptor-bound protein 2)	60	1 297.678 278	0.001 106
FASN	脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase)	30	1 336.023 597	0.001 018
PPARA	过氧化物酶体增殖物激活受体 α (同源) [peroxisome proliferator-activated receptor α (by homology)]	62	4 629.982 122	0.001 139
ACE	血管紧张素转换酶 (angiotensin-converting enzyme)	48	1 760.743 212	0.001 091
SLC6A4	5 羟色胺转运体 (serotonin transporter)	44	2 831.227 559	0.001 012
KDR	血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2)	63	1 541.089 082	0.001 111
REN	肾素 (renin)	46	1 788.328 421	0.001 064
AKR1B1	醛糖还原酶 (aldose reductase)	25	1 160.516 268	0.001 031
CYP2D6	细胞色素 P450 2D6 (cytochrome P450 2D6)	28	1 392.275 680	0.000 988
TLR4	Toll 样受体 4 (同源) [Toll-like receptor 4 (by homology)]	73	2 046.950 764	0.001 133
NOS1	一氧化氮合酶, 脑 (nitric-oxide synthase, brain)	28	717.441 985	0.001 024

续表 4

靶点	名称	度值	介数中心性	接近中心性
ADRB2	肾上腺素能受体 β (adrenergic receptor β)	35	1 664.133 633	0.001 034
PTGS2	环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2)	90	4 509.877 062	0.001 176
F2	凝血酶 (thrombin)	44	2 012.113 839	0.001 068
MMP9	基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9)	90	3 864.770 927	0.001 160
ACHE	乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase)	29	1 653.416 671	0.001 024
PLG	胞浆素原 (plasminogen)	41	727.411 140	0.001 035
TNF	肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)	161	16 589.169 823	0.001 333
DPP4	二肽基肽酶 IV (dipeptidyl peptidase IV)	29	1 620.029 371	0.001 009
NOS3	内皮型一氧化氮合酶 (nitric-oxide synthase, endothelial)	71	2 279.959 335	0.001 144
GSR	谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase)	27	1 093.391 505	0.001 038
SLC6A3	多巴胺转运蛋白 (dopamine transporter)	39	2 028.972 115	0.000 995
HPGDS	造血型前列腺素 D 合成酶 (hematopoietic prostaglandin D synthase)	68	4 227.105 127	0.001 140
DRD2	多巴胺 D2 受体 (dopamine D2 receptor)	38	1 902.568 933	0.001 036
GRIN1	谷氨酸 [NMDA] 受体蛋白 (glutamate [NMDA] receptor protein)	34	1 710.135 030	0.001 019
CNR1	大麻素受体 1 (cannabinoid receptor 1)	42	4 116.451 940	0.001 049
CHRM1	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1 (muscarinic acetylcholine receptor M1)	26	1 574.821 337	0.000 969
MAOA	单胺氧化酶 A (monoamine oxidase A)	36	1 134.263 930	0.000 962
MAOB	单胺氧化酶 B (monoamine oxidase B)	38	1 580.851 177	0.000 978
GART	GAR 转甲酰酶 (同源) [GAR transformylase (by homology)]	31	1 244.991 923	0.000 950
IL2	白介素 2 (interleukin-2)	69	1 567.120 035	0.001 121
TYMS	胸苷酸合酶 (同源) [thymidylate synthase (by homology)]	38	930.104 659	0.000 976
DHFR	二氢叶酸还原酶 (同源) [dihydrofolate reductase (by homology)]	34	2 019.182 512	0.001 004
LGALS4	半乳糖凝集素 4 (galectin-4)	28	1 557.122 802	0.001 025
GSTP1	谷胱甘肽 S-转移酶 P1 (glutathione S-transferase P1)	42	1 555.662 202	0.001 046
OPRM1	μ 阿片受体 (μ opioid receptor)	27	1 075.336 798	0.000 995
PRKCB	蛋白激酶 C β (protein kinase C β)	45	1 345.542 847	0.001 050
PRKCA	蛋白激酶 C α (protein kinase C α)	58	1 973.421 331	0.001 109
CFTR	囊性纤维化跨膜电导调节剂 (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)	27	3 077.063 534	0.001 012
NR3C1	糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor)	64	3 390.862 238	0.001 129
DNMT1	DNA (胞嘧啶-5)-甲基转移酶 1 [DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1]	52	1 451.665 961	0.001 066
AHR	芳烃受体 (aryl hydrocarbon receptor)	34	1 302.863 047	0.001 059
PGR	孕激素受体 (progesterone receptor)	54	992.412 135	0.001 105
CYP19A1	细胞色素 P450 19A1 (cytochrome P450 19A1)	31	756.166 235	0.001 024
RELA	核因子 NF- κ B p65 亚基 (nuclear factor NF- κ B p65 subunit)	72	2 203.598 270	0.001 139
RXRA	维甲酸 X 受体 α (retinoid X receptor α)	33	1 019.046 786	0.001 020
PTK2	黏着斑激酶 1 (focal adhesion kinase 1)	54	962.624 680	0.001 068
CTSB	组织蛋白 (B 和 K) [cathepsin (B and K)]	38	1 132.288 960	0.001 021
BRD4	含溴结构域蛋白 4 (bromodomain-containing protein 4)	33	1 076.992 086	0.001 003
PRKACA	cAMP 依赖性蛋白激酶 α 催化亚基 (cAMP-dependent protein kinase α -catalytic subunit)	49	1 996.515 863	0.001 062
HDAC2	组蛋白脱乙酰基酶 2 (histone deacetylase 2)	48	955.463 807	0.001 044
HSPA1A	热休克 70 kDa 蛋白 1 (heat shock 70 kDa protein 1)	41	1 108.427 322	0.001 074
KDM1A	赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1 (lysine-specific histone demethylase 1)	38	1 360.475 426	0.000 993
PPP2CA	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 2A, 催化亚基, α 亚型 (serine/threonine protein phosphatase 2A, catalytic subunit, α isoform)	43	1 016.475 195	0.001 034
KDM6B	赖氨酸专一性脱甲基酶 6B (lysine-specific demethylase 6B)	28	1 451.180 614	0.000 949
NOS2	诱导型一氧化氮合酶 (同源) [nitric oxide synthase, inducible (by homology)]	36	987.414 794	0.001 048

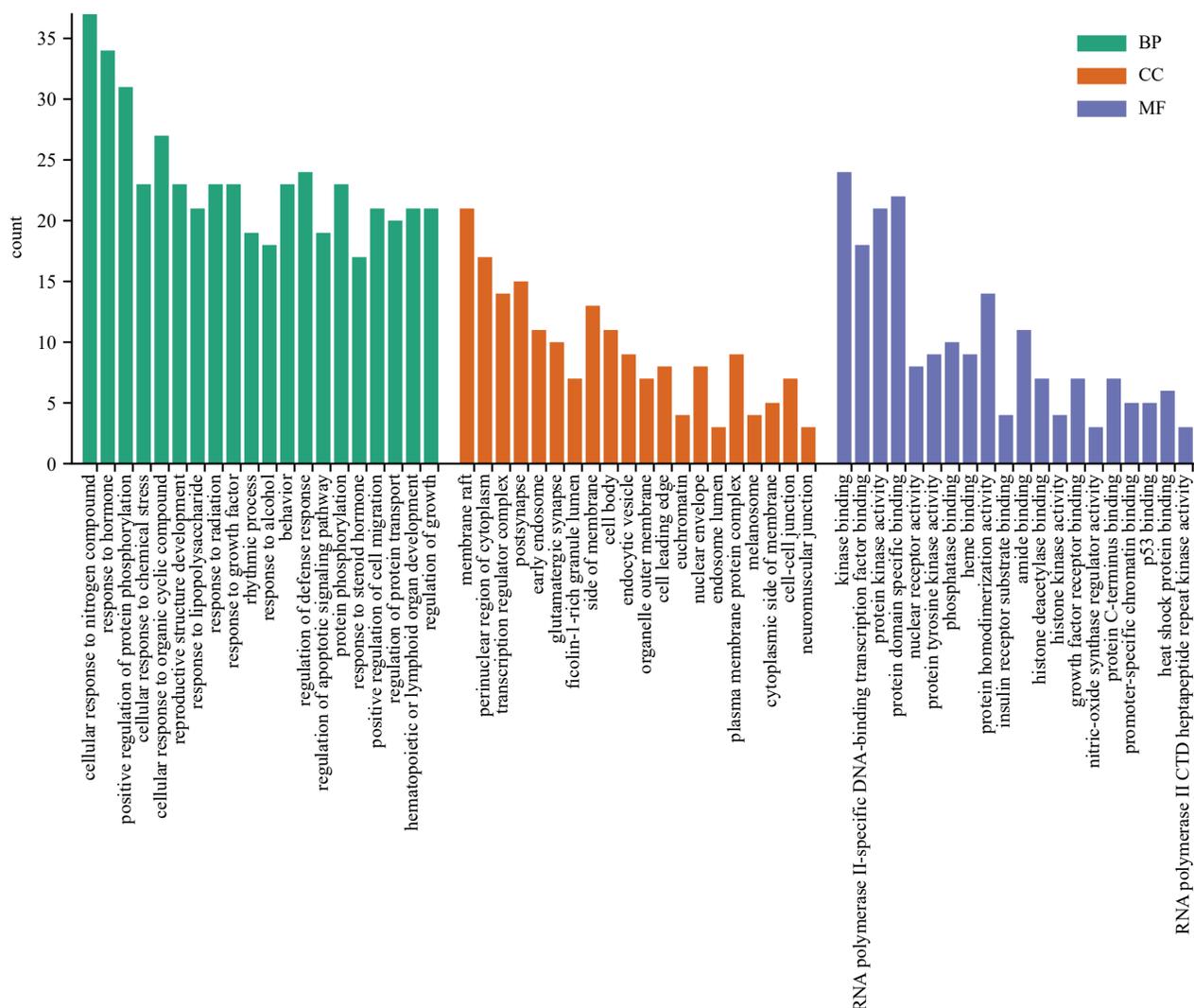


图5 阳和汤核心靶点 GO 功能富集分析

Fig. 5 Analysis of GO function enrichment of Yanghe Decoction core targets

种为“Homo sapiens”，富集分析均以 $P < 0.01$ 具有统计学意义。GO 功能富集分析可以用于描述靶点在生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cell component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 3 大层面上的功能，共得到 60 个 GO 条目，如图 5 所示，其中 BP 占 20 个，CC 占 20 个，MF 占 20 个。BP 显著富集在细胞对氮化合物的反应、对激素的反应、蛋白质磷酸化的正调节、细胞对有机环状化合物的反应等过程；CC 显著富集在膜筏、细胞质核周区、突触后、膜侧、胞体等区域；MF 显著富集在激酶结合、蛋白质结构域特异性结合、蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性等功能。在 KEGG 通路富集分析中，前 20 条与阳和汤相关度较高的通路如图 6 所示，主要涉及癌症信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路、鞘脂信号通路、甲

状腺激素信号通路、糖尿病性心肌病信号通路等，表明 88 个核心靶点可能是主要通过调节这些通路来起到治疗或干预疾病的作用。

2.7.4 “成分-靶点-通路”网络构建及分析 将筛选得到的阳和汤中的 8 个活性成分、88 个核心靶点和 20 条核心通路，运用 Cytoscape 3.8.0 软件构建“成分-靶点-通路”网络关系图，见图 7。从图中可以看出，阳和汤是通过多成分、多靶点、多通路的协同作用达到治疗疾病的目的。在 8 个活性成分中，除 5-羟甲基糠醛外，甘草酸、甘草苷、桂皮醛、肉桂酸、毛蕊花糖苷、芥子碱硫氰酸盐和盐酸麻黄碱 7 个成分有较高的连接度；在 88 个核心靶点中，丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、转录因子 p65 (transcription factor p65, RELA)、半胱氨酸蛋白酶 3 (caspase 3, CASP3)、

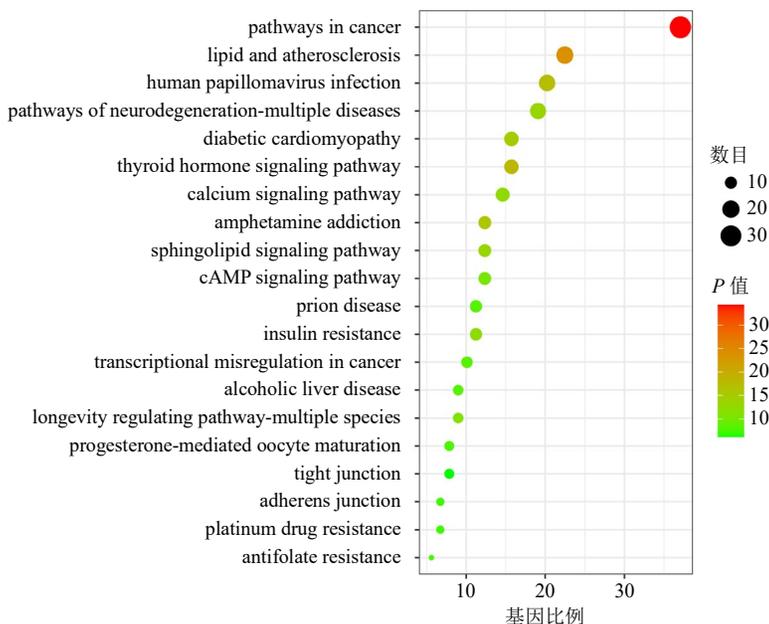


图 6 KEGG 富集通路分析结果

Fig. 6 Results of KEGG enrichment pathway analysis

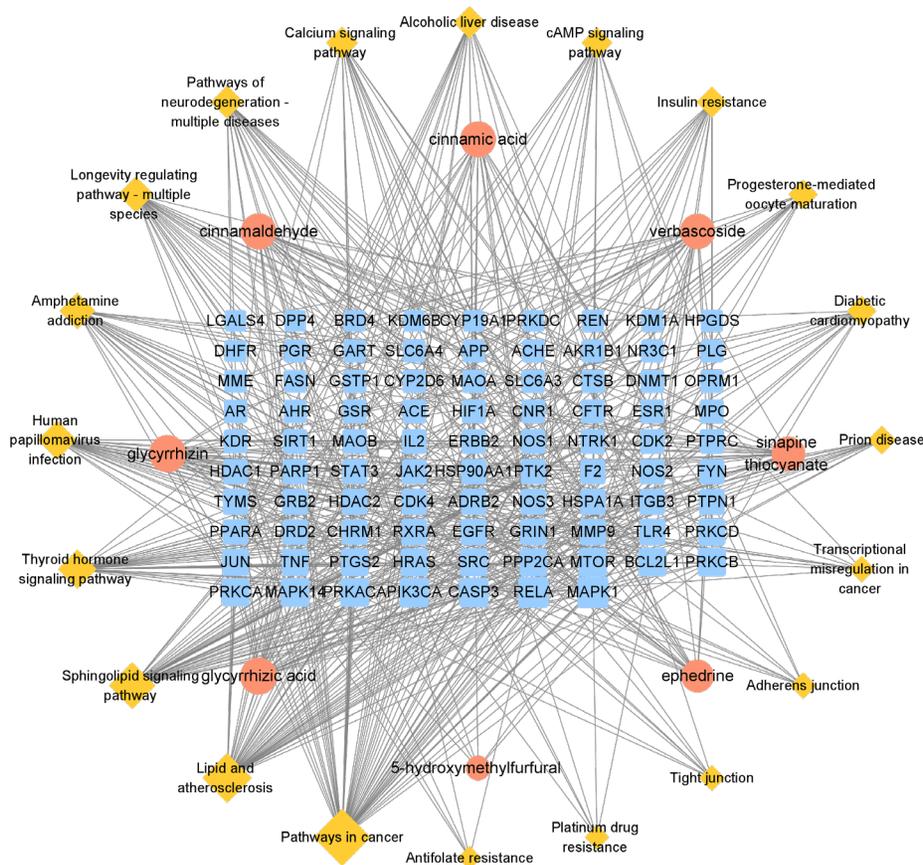


图 7 “成分-靶点-通路”网络图

Fig. 7 Network diagram of “component-target-pathway”

磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit α , PIK3CA)、蛋白激酶 cAMP 激活催化亚基 α (protein kinase cAMP-

activated catalytic subunit α , PRKACA)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14)、蛋白激酶 Ca (protein kinase Ca,

PRKCA)、蛋白激酶 C- β (protein kinase C- β , PRKCB)、B 细胞淋巴瘤 2 样 1 (B-cell Lymphoma 2 Like 1, BCL2L1)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 的连接度也高于其他靶点;在 20 条核心通路中,癌症信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路、鞘脂信号通路、甲状腺激素信号通路的连接度相对较高。

2.7.5 整合分析 阳和汤主治阴疽,现代临床治疗病症较为广泛,在恶性肿瘤^[16]、神经系统疾病^[17]、内分泌系统疾病^[18]、免疫系统疾病^[19]、泌尿系统疾病^[20]、骨科^[21]及妇科疾病^[22]等方面均有显著疗效。在 KEGG 通路富集分析中显示,阳和汤主要涉及癌症信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路、鞘脂信号通路、甲状腺激素信号通路等。恶性肿瘤作为消耗性疾病,患者多以阳虚为主,故中医治疗恶性肿瘤以“温阳通滞”为主^[23-24]。

阳和汤作为温阳散寒通滞的经典方,临床上治疗恶性肿瘤应用广泛,尤其在诸多“阳虚型”癌症患者中疗效显著。研究发现,阳和汤通过抑制 mTOR 信号通路相关蛋白的磷酸化水平^[25-26]、信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 信号通路^[27]及负调控 STAT3 通路等^[28]来抑制肿瘤增殖并促进癌细胞凋亡。此外表皮生长因子受体 (epithelial growth factor receptor, EGFR) 通路和细胞周期和代谢紧密相关^[29],缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) 促进肿瘤的免疫逃逸^[30],丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 参与癌症的转移^[31]等,而阳和汤复方均与上述通路有密切的关系。高永翔等^[32]通过研究发现阳和汤含药血清对乳腺癌 MDA-MB-231、MCF-7、4T1、SK-BR-3 细胞、胃癌 MGC-803 细胞均有抑制作用,并能影响细胞周期分布、诱导癌细胞凋亡,体内相关实验也有明显的抑瘤作用。

缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF) 信号通路可加速癌细胞生长,而阳和汤可显著降低 HIF-1 α 的 mRNA 及蛋白表达^[33],且能抑制乳腺癌细胞的跨内皮能力和血管生成能力,从而起到治疗作用。动脉粥样硬化是引起大多数心血管疾病的病因,发病机制复杂,目前越来越多的研究表明,鞘脂信号通路是脂质和动脉粥样硬化疾病的相关作用通路^[34]。神经酰胺作为神经鞘脂代谢通路的中心分子^[35],在动脉粥样硬化的早期形成阶段,神经酰胺

对血管内皮具有保护作用,能够维持血管张力和血压稳态。

此外,抑制神经鞘磷脂合成酶 (sphingomyelin synthase, SMS) 活性可降低神经鞘磷脂水平,并能有效抑制炎症刺激下核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的激活,而 NF- κ B 是多种致动脉粥样硬化相关炎症基因的关键调控因子^[36]。相关动物实验也表明,高脂饮食背景下的载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠敲除 SMS 基因后,在降低炎症反应的同时,也能有效减少动脉粥样硬化病变^[37]。自身免疫性甲状腺炎又称桥本甲状腺炎 (Hashimoto's thyroiditis, HT), HT 病变过程也是炎性细胞因子异常表达的过程,现代药理研究发现^[38],阳和汤加减方中所含主要活性成分能增加 HT 患者血清甲状腺激素浓度,可有效维持甲状腺激素水平稳定,且可显著降低血清炎症因子表达水平,抑制炎症反应。马丙娥等^[39]实验研究已经证明阳和汤可抑制实验性自身免疫性甲状腺炎 (experimental autoimmune thyroiditis, EAT) 大鼠外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 中 STAT3 通路激活并改善 EAT 大鼠的甲状腺功能,有效降低 EAT 大鼠血清中甲状腺抗体水平,缓解甲状腺炎症状。

上述文献研究表明,网络药理学预测的结果与现有相关文献较为接近,说明该研究方法具有一定的科学性和可靠性,为近一步阐述阳和汤的作用机制提供了依据。同时也与中药整体性的观念相吻合,阳和汤中多个活性成分可作用于多个核心靶点,从而干预多个作用通路,起到干预或治疗疾病的作用。基于指纹图谱和网络药理学研究,甘草酸、甘草苷、桂皮醛、肉桂酸、毛蕊花糖苷、芥子碱硫酸盐和盐酸麻黄碱 7 个成分具有传递性和溯源性,且与阳和汤的功能属性密切相关,可预测其为影响阳和汤品质的潜在功效关联物质。

3 讨论

本实验采用冻干粉形式保存基准样品,在优化供试品溶液条件时,分别以水、不同比例甲醇 (25%、50%、75%) 作为复溶溶剂考察冻干粉的复溶效果,结果发现 50% 甲醇作为复溶溶剂时,可使冻干粉完全溶解,各成分的相对峰面积最为接近,因此选择 50% 甲醇作为阳和汤基准样品冻干粉的复溶溶剂;在优化色谱条件时,考察了不同检测波长,不同流动相体系 [乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.05% 磷酸水溶液 (含 0.05% 三乙胺)、乙腈-0.05% 磷酸水溶液

(0.05%三乙胺)], 不同柱温 (25、30、35 °C) 对色谱峰的影响。通过以上研究, 确立阳和汤指纹图谱的分析方法: 选取检测波长 260 nm (5-羟甲基糠醛、毛蕊花糖苷、桂皮醛、肉桂酸、芥子碱硫氰酸盐、甘草苷、甘草酸)、210 nm (盐酸麻黄碱), 流动相乙腈-0.05%磷酸水溶液 (含 0.05%三乙胺), 柱温 35 °C。

经典名方药味众多, 成分复杂, 本实验以指纹图谱为指标, 全面考察阳和汤原料饮片-基准样品的关键质量属性的传递性。结果显示, 阳和汤基准样品共确认 15 个峰, 指认 8 个色谱峰, 均能在原料饮片中找到明确归属。但部分《中国药典》2020 年版单味药项下规定的指标性成分未能检出, 其中地黄苷 D 和盐酸伪麻黄碱在上述色谱条件下互相干扰, 单独建立色谱条件进行全波长扫描, 分析其 3D 图谱, 2 种成分仍彼此干扰, 无法有效分离; 鹿角胶主要成分为氨基酸类物质, 水溶性大, 含量低, 且不具备 HPLC-UV 检测的结构特点, 致使在上述色谱条件下不能检出; 6-姜辣素对照品在上述色谱条件下可被检识, 但其饮片在阳和汤基准样品指纹图谱中贡献度较低, 可能是干姜在炒炭过程中挥发性成分极不稳定, 逐渐挥发散失。对于上述存在的问题, 本课题组后期将进一步深入研究, 结合其他质量控制方法如超高效液相色谱-串联质谱 (针对熟地黄、鹿角胶、麻黄中未检出的成分)、顶空固相微萃取-气相色谱-质谱 (针对姜炭中挥发性成分) 等进行全面的质量控制。

中药复方具有“多成分、多靶点和多途径”协同作用的特点, 而网络药理学基于“疾病-基因-靶标-药物”相互作用网络, 系统观察药物对疾病网络的干预与影响, 这与中药复方多成分、多途径和多靶点协同作用的原理殊途同归^[40]。本实验将指纹图谱与网络药理学相结合, 通过对经典名方阳和汤进行指纹图谱研究, 并采用网络药理学构建阳和汤的“成分-靶点-通路”网络, 不仅对阳和汤质量控制指标成分的合理性进行了验证, 而且揭示了阳和汤功效关联性的物质基础, 为阳和汤发挥功效及药理作用机制的阐释提供了思路。但网络药理学仍存在一些局限性, 后续仍需要通过一些药理实验进行验证以促进阳和汤质量标准的建立。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 国家药品监督管理局. 关于发布《中药注册分类及申报

资料要求》的通告(2020 年第 68 号) [EB/OL]. [2020-09-27].

<https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20200928164311143.html>.

- [2] 王璐, 张礼欣, 贾奥蒙, 等. 基于指纹图谱和网络药理学对经典名方竹茹汤中葛根的质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(20): 6197-6207.
- [3] 窦建卫, 尚荣国, 彭湃, 等. 提高阳和汤质量标准研究 [J]. 中医药信息, 2018, 35(1): 27-29.
- [4] 窦建卫, 朱宇红, 王红英, 等. 阳和汤的质量标准研究 [J]. 陕西中医, 2017, 38(11): 1598-1599.
- [5] 朱宇红, 刘甲平, 尚荣国, 等. 阳和汤质量控制研究 [J]. 陕西中医, 2017, 38(9): 1286-1287.
- [6] 任晋茹, 李康乐, 尚荣国, 等. 高效液相色谱法测定阳和汤中毛蕊花糖苷和甘草苷两种成分 [J]. 西部中医药, 2019, 32(12): 20-22.
- [7] 国家药监局综合司. 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) [EB/OL]. [2019-03-22]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/zhqyj/zhqyjyp/20190327150101694.html>.
- [8] 张泽康, 王昌海, 赵玥瑛, 等. 经典名方阳和汤基准样品的 HPLC 指纹图谱分析 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志: 1-12. [2022-09-13]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220816.1222.015.html>.
- [9] 陈金鹏, 张克霞, 刘毅, 等. 地黄化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1772-1784.
- [10] 李娜, 胡亚楠, 王晓雪, 等. 鹿角胶化学成分、药理作用及质量控制研究进展 [J]. 中药材, 2021, 44(7): 1777-1783.
- [11] 高铭哲, 李婷, 田晨琪, 等. 肉桂化学成分与药理作用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2021, 17(11): 201-205.
- [12] 孙银芳. 中药白芥子最新研究进展 [J]. 新中医, 2015, 47(10): 209-211.
- [13] 卓小玉, 陈晶, 田明, 等. 麻黄的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2021, 38(2): 80-83.
- [14] 杜晶, 黄传辉. 姜炭的研究进展 [J]. 云南化工, 2021, 48(2): 8-11.
- [15] 李娜, 张晨, 钟赣生, 等. 不同品种甘草化学成分、药理作用的研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7680-7692.
- [16] 韩懿存, 武颖烁, 尚艺婉, 等. 阳和汤治疗恶性肿瘤的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(7): 109-117.
- [17] 步兵. 加味阳和汤治疗化疗性周围神经病变的临床研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2018.
- [18] 郭建清. 分析阳和汤治疗早期糖尿病足的临床价值 [J]. 糖尿病新世界, 2021, 24(3): 186-188.
- [19] 叶美杏, 陈君立, 黄艳华. 中药熏蒸联合阳和汤治疗中

- 轴型脊柱关节炎的临床观察 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2020, 30(20): 63-65.
- [20] 刘永浩. 阳和汤治疗更年期尿道综合征疗效及对患者排尿情况和性激素水平的影响 [J]. 陕西中医, 2021, 42(5): 604-607.
- [21] 刘伟恒, 黄其满, 吴剑强. 阳和汤联合塞来昔布治疗膝关节骨性关节炎的疗效及机制分析 [J]. 世界复合医学, 2022, 8(4): 105-108.
- [22] 陈紫薇, 任梦雪, 郭利, 等. 浅谈阳和汤加减治疗阳虚寒凝型不孕症 [J]. 中国临床医生杂志, 2022, 50(9): 1128-1130.
- [23] 许博文, 李杰, 曹璐畅, 等. 基于“阳化气, 阴成形”理论探讨扶阳消阴法在肿瘤临证中的应用 [J]. 中医杂志, 2020, 61(9): 772-775.
- [24] 王红玲, 康斐, 黄兴. 基于“阳化气, 阴成形”理论探讨温阳法在恶性肿瘤中的应用 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(7): 999-1002.
- [25] 赵天一. 基于 PI3K/AKT/mTOR 信号通路探讨阳和汤含药血清对人乳腺癌细胞增殖、凋亡的影响 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2017.
- [26] 孙雪, 徐茜茜, 王星宇, 等. 阳和化岩汤对 mTOR 低表达型乳腺癌内分泌耐药细胞 ER-PI3K/Akt/mTOR 通路的作用机制 [J]. 海南医学院学报, 2020, 26(14): 1068-1073.
- [27] 杨硕, 李康乐, 朱中博, 等. 阳和汤含药血清通过 p38/STAT3 信号通路对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(5): 6-10.
- [28] Mao D, Feng L, Gong H. The antitumor and immunomodulatory effect of Yanghe Decoction in breast cancer is related to the modulation of the JAK/STAT signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 8460526.
- [29] Lui V W Y, Grandis J R. EGFR-mediated cell cycle regulation [J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(1A): 1-11.
- [30] You L, Wu W D, Wang X, *et al*. The role of hypoxia-inducible factor 1 in tumor immune evasion [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(3): 1622-1643.
- [31] del Barco Barrantes I, Nebreda A R. Roles of p38 MAPKs in invasion and metastasis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2012, 40(1): 79-84.
- [32] 高永翔, 沈欣, 宗桂珍, 等. 阳和汤对裸鼠人癌移植瘤的抗肿瘤作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(7): 57-59.
- [33] 肖玉洁, 王婷, 陈州华, 等. 阳和汤含药血清对缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 增殖的抑制作用及其机制 [J]. 中南药学, 2019, 17(8): 1219-1223.
- [34] 廖思聪, 邱志东, 金俊飞. 神经鞘脂在动脉粥样硬化中的研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(8): 661-668.
- [35] Yu Z M, Peng Q, Huang Y N. Potential therapeutic targets for atherosclerosis in sphingolipid metabolism [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(6): 763-776.
- [36] Hailemariam T K, Huan C M, Liu J, *et al*. Sphingomyelin synthase 2 deficiency attenuates NFkappaB activation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(8): 1519-1526.
- [37] Fan Y F, Shi F J, Liu J, *et al*. Selective reduction in the sphingomyelin content of atherogenic lipoproteins inhibits their retention in murine aortas and the subsequent development of atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(11): 2114-2120.
- [38] 杨凡, 莫涛, 周李芳, 等. 阳和汤加减治疗桥本甲状腺炎临床疗效及对血清炎症指标的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(24): 2700-2703.
- [39] 马丙娥, 王建华, 赵正平, 等. 阳和汤对实验性自身免疫性甲状腺炎大鼠的治疗作用 [J]. 中医药导报, 2021, 27(1): 16-19.
- [40] 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.

[责任编辑 郑礼胜]