

基于方证代谢组学的四妙勇安汤治疗血栓闭塞性脉管炎的药效物质基础研究

何录文¹, 孔 玲¹, 刘 畅¹, 薛俊茹¹, 李慧宇¹, 孔令昂¹, 李丽霞¹, 车延柠², 孙 晖^{1,3*}, 王喜军^{1,3*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 哈尔滨中药四厂有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150500

3. 经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 在经典方剂四妙勇安汤治疗血栓闭塞性脉管炎确有疗效的前提下, 寻找四妙勇安汤治疗血栓闭塞性脉管炎的药效物质基础。**方法** 以方证代谢组学为研究策略, 借助 UPLC-MS 研究技术, 筛选血液代谢生物标记物, 在与显效状态的四妙勇安汤血中移行成分建立相关性的前提下, 找出四妙勇安汤治疗血栓闭塞性脉管炎的药效物质基础。**结果** 鉴定出血栓闭塞性脉管炎的 30 个血液潜在的生物标记物, 其中 19 个代谢标记物在治疗后被四妙勇安汤显著调节; 共鉴定出显效状态下 68 个血中移行成分, 其中 24 个为原型入血成分, 44 个为代谢成分。**结论** 通过血清化学成分与代谢标记物关联性分析法分析确定绿原酸、哈巴苷、哈巴俄苷、阿魏酸、甘草苷、甘草酸可能为四妙勇安汤治疗血栓闭塞性脉管炎的药效物质基础。**关键词:** 方证代谢组学; 四妙勇安汤; 绿原酸; 哈巴苷; 哈巴俄苷; 阿魏酸; 甘草苷; 甘草酸; 血栓闭塞性脉管炎

中图分类号: R28

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)08-2725-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.09

Research on pharmacodynamic substance basis of Simiaoyongan Tang in treatment of thromboangiitis obliterans based on chinmedomics

HE Luwen¹, KONG Ling¹, LIU Chang¹, XUE Junru¹, LI Huiyu¹, KONG Lingang¹, LI Lixia¹, CHE Yanning², SUN Hui^{1,3}, WANG Xijun^{1,3}

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. Harbin No. 4 Chinese Medicine Factory Co., Ltd., Harbin 150500, China

3. State Key Laboratory of Integration and Innovation of Classical Formulas and Modern Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To explore the pharmacodynamic substance basis of the classic prescription Simiaoyongan Tang (四妙勇安汤, SMYAT) in the treatment of thromboangiitis obliterans (TAO), on the premise that SMYAT is effective in the treatment of TAO. **Methods** A high-throughput UPLC-MS based on chinmedomics strategy was applied to find out the pharmacodynamic substance basis of SMYAT in the treatment of thromboangiitis obliterans on the premise that the blood metabolic biomarkers filtered established correlation with the blood components of SMYAT in the effective state. **Results** A total of 30 blood potential biomarkers were identify, 19 of which were significantly adjusted by SMYAT; A total of 68 blood components were identify in the effective state, including 24 prototype blood entry components and 44 metabolic ingredients. **Conclusion** the pharmacodynamic substance basis of SMYAT in the treatment of thromboangiitis obliterans may be chlorogenic acid, harpagide, harpagoside, ferulic acid, liquiritin, glycyrrhizic acid, identified by analysis of plotting of correlation between marker metabolites and serum constituents.

Key words: chinmedomics; Simiaoyongan Tang; chlorogenic acid; harpagide; harpagoside; ferulic acid; liquiritin; glycyrrhizic acid; thromboangiitis obliterans

四妙勇安汤 (Simiaoyongan Tang, SMYAT) 收 银花、玄参、当归、甘草组成, 具有清热解毒、活血化瘀之功效。现代临床主要用于治疗血栓闭塞性脉管炎。载于清代名医鲍相璈所著《验方新编》中^[1], 由金

收稿日期: 2025-02-03

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (81830110); 黑龙江省重点研发计划 (2022ZX02C04); 黑龙江省中医药管理局青年中医药科研课题 (ZHY2023-211); 黑龙江中医药大学科研基金项目 (2024XJJ-QNCX007); 黑龙江中医药大学科研基金项目 (2019MS28)

作者简介: 何录文, 研究实习员, 研究方向为中药血清药物化学及方证代谢组学。E-mail: 281724096@qq.com

*通信作者: 王喜军, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: xijunw@sina.com

孙 晖, 教授, 博士生导师, 从事中药体内直接作用物质及中药质量标准研究。E-mail: sunhui7045@163.com

脉管炎、糖尿病足等周围血管疾病^[2]。周围血管疾病病变后期类似于中医范畴的“脱疽症”，而 SMYAT 是治疗“脱疽症”的经典方剂。然而目前 SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎（thromboangiitis obliterans, TAO）等周围血管疾病作用机制尚不明确。

本研究以方证代谢组学为研究策略^[3-8]，组织病理学、血液流变学等为评价指标，采用血清代谢组学、主成分分析（principal component analysis, PCA）和正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA）进行聚类 and 判别分析，筛选出血液差异代谢生物标志物，并在治疗有效状态下与 SMYAT 血中移行成分建立相关联系，找出 SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎的药效物质基础，为 SMYAT 的临床应用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Z30-型全自动血流变测试仪（南京志伦科技有限公司）；RM2135 型组织切片机、TP1020 型全自动组织脱水机（LEICA 公司，德国）；AcquityTM UPLC 液相色谱仪、SynaptTM G2-Si 质谱仪（Waters 公司，美国）；KQ-250 DB 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；ST 16R 型高速低温离心机、995 型超低温冰箱、Savant ModulyoD-230 型真空冷冻干燥机（Thermo Scientific 公司，美国）；CP225D 型电子天平（Sartorius 公司，德国）；MS3 digital 型旋涡混匀器（IKA 公司，德国）；DFY-10L/80 型低温恒温反应浴（巩义市予华仪器有限责任公司）。

1.2 药品与试剂

金银花、玄参、当归、甘草药材均由哈尔滨中药四厂有限公司提供，批号分别为 JL030-180401、JL031-180601、JL048-180601、JL054-180501，原植物经黑龙江中医药大学王喜军教授鉴定为忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾、玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根、当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎；脉络宁颗粒（Mailuoning Granules, MLN）购自江西银涛药业有限公司，批号为 1808025；月桂酸钠来自国药集团化学试剂有限公司，批号为 20171224；乙腈、甲醇为色谱级（Fisher Scientific 公司）；亮氨酸啡肽来自美国 Sigma 公司。

1.3 动物

清洁级 SD 雄性大鼠，体质量（300±20）g，

由黑龙江中医药大学药物安全性评价中心提供，动物许可证号 SCXK（辽）2015-0001，动物实验经黑龙江中医药大学伦理委员会批准，实验动物伦理号 2019081208。大鼠在温度（24±2）℃，湿度（40±5）%，12 h 昼夜交替的环境下饲养。

2 方法

2.1 药液的制备

取金银花、玄参、当归和甘草 4 味中药，按 3：3：2：1 的比例称定质量，浸泡 30 min，煮沸 1 h。将药液滤过并在真空下冷冻干燥以获得松散粉末，即为 SMYAT 冻干粉。通过含量测定对 SMYAT 基准样品进行质量控制，结果显示绿原酸质量分数为 14.21 mg/g。

2.2 动物模型制备^[9]

月桂酸常被用于制备外周动脉血栓栓塞模型，用以评价抗血小板及抗血栓类药物的疗效及机制。月桂酸有很强的内皮损伤作用，可造成血管内皮脱落，甚至穿孔。本实验选取大鼠左侧后肢造模，以右侧后肢作为自身对照。术前禁食 12 h，ip 3%戊巴比妥钠（45 mg/kg），麻醉后以腹股沟中点切开约 1.5 cm 的切口，钝性分离皮下组织与肌肉组织，暴露股动脉鞘，游离腹壁浅动脉上段股动脉，长度约 0.5 cm，近心端用动脉夹阻断血流，远心端注入 0.2 mL 月桂酸钠溶液（10 mg/mL），采用医用蛋白胶封闭穿刺点，脱脂棉球按压止血。15 min 后检查无活动性出血即缝合。手术后 ip 给予青霉素 40 万 U，防止感染发生。

2.3 模型分组及给药

取雄性 SD 大鼠 40 只随机分为对照组（ $n=10$ ），模型组（ $n=10$ ），阳性药对照组（MLN， $n=10$ ），SMYAT 治疗组（ $n=10$ ），实验开始前进行 7 d 的适应性培养。实验开始后，以上各组均按照模型制备方法进行手术处理，其中 C 组注射生理盐水。第 10 天造模成功时，给予相应药物干预。其中 SMYAT 治疗组大鼠每天 ig SMYAT 冻干粉 8.2 g/kg（按照经典名方原方剂量每人每日 335.7 g/70 kg，按体表面积换算剂量公式折算，大鼠的临床等效剂量为 30.2 g/kg，给药剂量为临床剂量 1 倍量，冻干粉平均出膏率为 27.1%），阳性药对照组大鼠 ig 脉络宁颗粒混悬液 2.7 g/kg（给药剂量为临床剂量 1 倍），连续给药 15 d。对照组 ig 给予等体积的蒸馏水。

2.4 生物样品制备

所有动物采样前禁食 12 h，并自由饮水，ip 3%

戊巴比妥那麻醉，肝门静脉取血，静置 30 min 后，离心（4 ℃、4 000 r/min、10 min）取血清，所有血清均采用甲醇沉淀法进蛋白去除，并采用 0.22 μm 微孔滤膜滤过后进行分析^[10]。

2.5 指标检测

2.5.1 血液流变学指标 用 3%戊巴比妥钠将大鼠麻醉，从大鼠腹主动脉采集血样。测定大鼠血浆黏度、低切全血黏度、高切全血黏度、红细胞压积、红细胞刚性指数、红细胞聚集指数及红细胞变形指数等相关指标。

2.5.2 组织病理学指标 从大鼠患肢处取 2~3 cm 股动脉及周围动脉血管组织。用生理盐水冲洗后，用 10%福尔马林溶液保存股动脉 24 h，进行组织病理学观察。

2.6 分析条件

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 ACQUITY HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)；流动相为 0.1%甲酸-乙腈 (A)-0.1%甲酸水 (B)；洗脱梯度：0~1 min, 1% A；1~6.1 min, 1%~30% A；6.1~8.0 min, 30%~70% A；8.0~9.0 min, 70%~99% A；9.0~10.0 min, 99% A；体积流量 0.4 mL/min；柱温 40 ℃；进样体积 2 μL。

2.6.2 质谱条件 采用 Synapt™ G2-Si 高分辨四级杆串联飞行时间质谱仪 (Waters 公司，美国)。正离子扫描模式下 (ESI⁺)：离子源温度为 120 ℃；毛细管电压为 2.7 kV；锥孔电压为 20 V；脱溶剂气温度为 350 ℃；脱溶剂气流量为 750 L/h；锥孔反吹气流量为 50 L/h。负离子扫描模式下 (ESI⁻)：离子源温度为 120 ℃；毛细管电压为 2.7 kV；锥孔电压为 20 V；脱溶剂气温度为 350 ℃，脱溶剂气流量为 600 L/h；锥孔反吹气流量为 50 L/h。数据采集设置为 0.2 s，扫描延迟为 0.1 s。质量数据采集范围为 m/z 50~1 200。为获准确的质量采集，在 1 ng/mL 下采用亮氨酸脑啡肽进行质量锁定，在 5 μL/min 的体积流量下通过锁定喷雾界面进行使用，以确保 MS 分析的准确性。

2.7 数据处理

2.7.1 统计学分析 数据采用 SPSS 19.0 软件处理，统计结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析，多重比较采用 Bonferroni 进行事后检验。 $P < 0.05$ 为有显著的统计学差异。

2.7.2 生物标记物分析 经 UPLC-MS 采集获得代谢指纹轮廓图，利用 Progenesis QI 软件 (Waters，

美国)对质谱原数据开展色谱峰提取、峰对齐、归一化等预处理。将预处理数据导入 EZinfo 3.0 软件 (Waters 公司，美国)进行多变量模式识别分析 [主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)]。以 PCA 样品的聚集和离散度，OPLS-DA 样品组间差异，利用 OPLS-DA 获得变量权重值 (variable importance projection, VIP) 筛选代谢生物标记物。通过代谢物的 m/z 值在 HMDB 中搜索可能的结构式进行推测，结合代谢物的二级信息，确定差异代谢物^[11]。

2.7.3 血中移行成分分析 通过 QI 软件处理后，利用 EZinfo 软件对各组数据进一步的 PCA 及 OPLS-DA，随后进行 S-plot 及 Variables-Trend 分析，同时依据 Masslynx 4.1 软件中的 Metabolynx 模块，最终确定 SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎大鼠模型的有效状态下的血中移行成分^[12]。

2.7.4 关联性分析 采用血清化学成分与代谢标记物关联性分析法 (plotting of correlation between marker metabolites and serum constituents, PCMS)，对 SMYAT 体内显效成分与血栓闭塞性脉管炎大鼠模型生物标记物进行关联，以相关系数 $r_1 = 0.70$ 和 $r_2 = 0.75$ 为界值，筛选入血成分与生物标记物相关个数达到 6 个及以上的为高度相关成分，即与血栓闭塞性脉管炎生物标记物相关联的结果高度相关成分均大于 6 个以上的入血成分，可认为是血栓闭塞性脉管炎模型大鼠的潜在药效物质基础^[13-14]。

3 结果与分析

3.1 模型评价结果分析

3.1.1 模型大鼠后肢坏疽程度评价 血栓闭塞性脉管炎模型组大鼠在造模后 15 min 左右，产生明显的病变，大鼠右后肢的皮肤温度与左后肢相比更低，足爪部皮肤颜色较对照组苍白，造模后 2~3 h，模型组大鼠患肢开始相继发展为青紫色，并伴有足部动脉搏动减弱甚至消失症状出现。次日模型组大鼠患肢具有明显的缺血性表现，诸如皮肤温度更低，皮肤青紫颜色更深，足爪部肿胀明显，严重的足趾部开始发黑脱落 (图 1-A)，均出现不同程度跛行及拖拽行走现象。造模第 5 天，模型组大鼠患肢病变程度发展迅速，足趾部缺失 (图 1-B)，肌肉明显萎缩、坏死，足爪部出现溃疡、糜烂、恶臭，拖拽现象更为明显。造模第 10 天，模型组大鼠病变程度进一步加剧，患肢坏疽范围多达踝关节上下，伴有



A-造模第 2 天; B-造模第 5 天; C、D-造模第 10 天。
A-Day 2 of mold making; B-Day 5 of mold making; C, D-Day 10 of mold making.

图 1 模型大鼠后肢坏疽程度评价

Fig. 1 Evaluation of hind limb gangrene severity in model rats

木乃伊化发生(图 1-C、D),部分大鼠肢体脱落,与临床上血栓闭塞性脉管炎晚期症状相符合。假手术组大鼠在造模后 2 h 内,出现皮肤苍白,次日便恢复正常,直至造模 10 d 结束时,仍未发生上述病变。

3.1.2 血液流变学评价 血液流变学结果如表 1 所示,血栓闭塞性脉管炎模型组大鼠低切全血黏度和高切全血黏度显著升高,具有极显著差异($P <$

0.01),血浆黏度略微升高,具有显著性差异($P <$ 0.05)。红细胞聚集指数和红细胞变形指数升高,具有显著性差异($P <$ 0.05),红细胞压积和红细胞刚性指数与对照组相比无显著差异。实验结果表明,与对照组相比,血栓闭塞性脉管炎模型组大鼠的血液黏度显著升高,流动性差,发生血液瘀滞等情况。

表 1 血栓闭塞性脉管炎大鼠与对照组大鼠的血液流变学研究 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Hemorheological study of thromboangiitis obliterans rats and Control rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	高切全血黏度 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	低切全血黏度 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	血浆黏度 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	红细胞压积/%	红细胞刚性指数	红细胞聚集指数	红细胞变形指数
对照	4.66 ± 0.04	9.76 ± 1.04	1.25 ± 0.31	46.91 ± 5.83	4.57 ± 0.76	6.65 ± 0.91	0.84 ± 0.31
模型	$5.82 \pm 0.54^{**}$	$22.64 \pm 1.85^{**}$	$1.93 \pm 0.47^*$	47.13 ± 7.08	5.23 ± 0.99	$8.52 \pm 0.39^*$	$0.91 \pm 0.47^*$

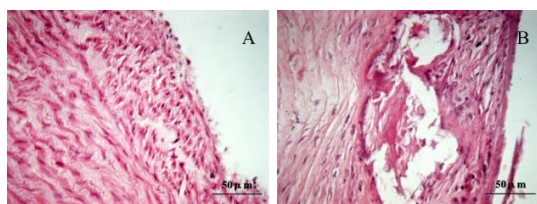
与对照组比较: * $P <$ 0.05 ** $P <$ 0.01。

* $P <$ 0.05 ** $P <$ 0.01 vs control group.

3.1.3 组织病理学评价 对照组和模型组大鼠股动脉切片观察显示,对照组大鼠没有发生病理变化,血管内皮光滑有序,内皮细胞排列整齐,未见炎性细胞浸润等现象(图 2-A)。TAO 模型组股动脉切片可见明显的病理改变,如血管变薄,内皮细胞变形,血管内皮细胞和平滑肌细胞排列紊乱,大量炎性细胞浸润等现象(图 2-B)。

3.2 代谢组学分析结果

模型复制成功后,对对照组与模型组进行血液代谢轮廓分析,得到相应的 PCA 与 OPLS-DA 得分图和 S&VIP-plot 图,如图 3 所示。依据二级质谱信息联合数据库分析,最终共表征血栓闭塞性脉管炎大鼠模型的血液代谢标记物 30 个,见表 2。



A-对照组; B-模型组。

A-control group; B-model group.

图 2 对照与模型组大鼠股动脉切片 HE 染色结果 ($\times 400$)

Fig. 2 HE staining results of femoral artery sections from control group and model group ($\times 400$)

3.3 药物有效性评价分析

3.3.1 血液流变学评价分析 结果如表 3 所示,与对照组相比,血栓闭塞性脉管炎模型大鼠的低切全血黏度、高切全血黏度和血浆黏度均不同程度升高($P <$ 0.05、0.01),经 SMYAT 治疗后各项指标均显著下降($P <$ 0.05、0.01),说明 SMYAT 具有良好的调节血液黏度和抑制血栓形成的作用。如表 3 所示,与对照组相比,血栓闭塞性脉管炎模型大鼠红细胞聚集指数和红细胞刚性指数均显著升高($P <$ 0.05),红细胞变形指数略微升高。SMYAT 治疗后红细胞刚性指数、红细胞聚集指数和红细胞变形指数均得到显著调节($P <$ 0.05、0.01),表明 SMYAT 治疗对 TAO 模型大鼠异常的红细胞指标变化情况有明显的调节作用,能达到良好的治疗效果。

3.3.2 组织病理学评价分析 评估了 SMYAT 对 TAO 模型大鼠组织病理学的影响,从大鼠股动脉切片的观察显示,对照组大鼠无病理变化,血管内皮光滑有序,内皮细胞排列整齐(图 4-A)。TAO 模型组大鼠股动脉切片可见明显的病理改变,如血管变薄,内皮细胞变形,血管内皮细胞和平滑肌细胞排列紊乱,大量炎性细胞浸润(图 4-B)。SMYAT 组股动脉病变程度改善,内皮细胞变形改善,血管内

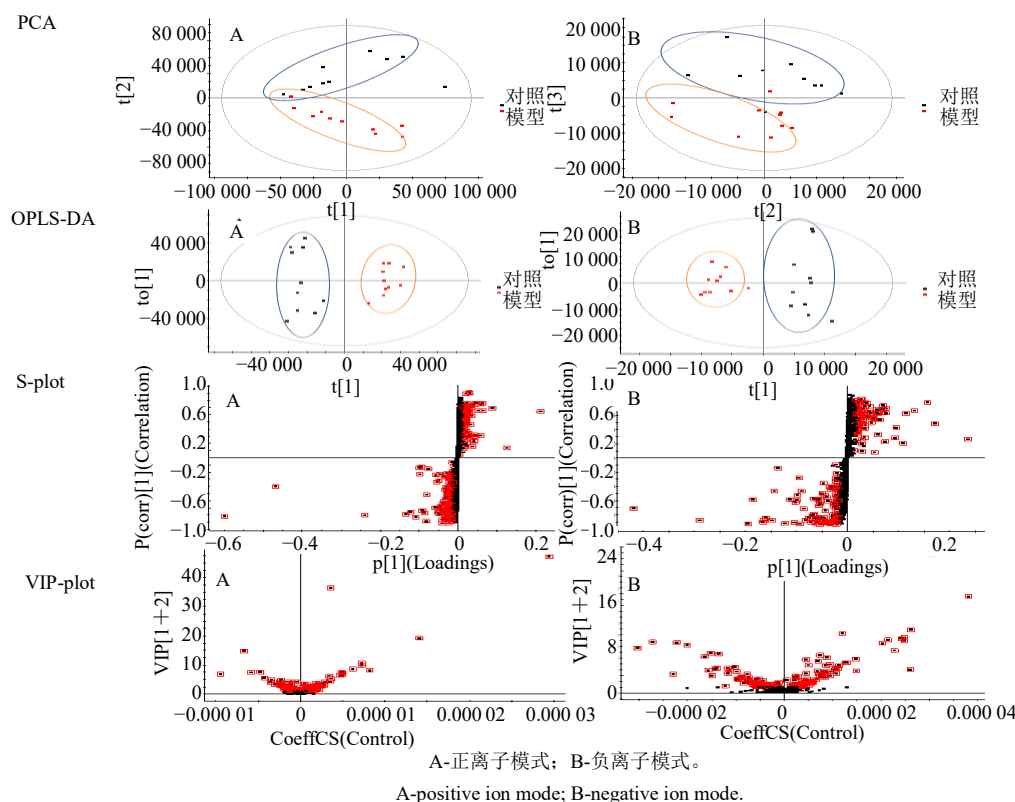


图 3 生物标记物的分析鉴定

Fig. 3 Analysis and identification of biomarkers

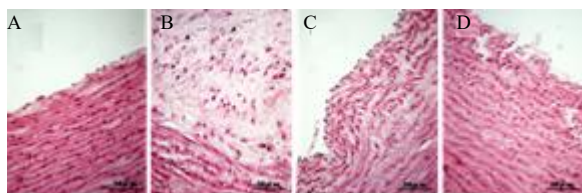
表 2 血栓闭塞性脉管炎模型大鼠血液代谢标记物信息

Table 2 Serum metabolic markers information of thromboangiitis obliterans

tr/min	分子式	理论值	测定值	误差/($\times 10^{-6}$)	离子模式	二级碎片信息	化合物
0.59	C ₆ H ₄ Cl ₂ O ₅	225.992 0	226.952 0	4.9	ESI ⁺	142.246 1, 124.367 0, 101.265 4	2,5-二氯-4-氧代苯二甲酸酯
0.65	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	202.157 0	203.053 1	-4.8	ESI ⁺	144.361 5, 129.215 4, 102.475 8, 85.364 6	3,7-二甲基黄嘌呤
3.43	C ₂₆ H ₄₅ NO ₆ S	499.296 7	498.288 0	-2.9	ESI ⁻	342.685 2, 211.596 4, 124.354 8, 106.685 4	牛磺熊去氧胆酸
3.76	C ₂₆ H ₄₃ NO ₅	449.623 3	448.306 1	-1.6	ESI ⁻	405.535 6, 386.196 3, 289.801 4	甘氨酸鹅脱氧胆酸钠
3.82	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	333.198 8	332.197 9	-2.5	ESI ⁻	315.151 8, 289.126 7, 257.196 0	鼠尾草酸
3.85	C ₂₄ H ₄₀ O ₅	409.287 6	408.286 9	-1.5	ESI ⁻	391.601 5, 343.685 4, 289.151 4	胆酸
3.99	C ₂₄ H ₃₆ O ₃	372.274 3	373.274 0	0.7	ESI ⁺	199.271 4, 159.462 3, 145.271 1	神经酰胺
4.08	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288.208 9	333.206 4	-2.4	ESI ⁻	274.662 1, 148.764 7, 127.354 7	睾酮
4.32	C ₂₄ H ₃₈ O ₅	407.271 9	406.271 3	-1.6	ESI ⁻	391.363 5, 325.872 3, 289.179 5	7-酮脱氧胆酸
4.75	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390.277 0	391.284 9	1.6	ESI ⁺	355.827 4, 337.792 5, 264.823 5, 184.535 4	12-酮脱氧胆酸
4.80	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	317.203 8	316.202 6	-3.8	ESI ⁻	299.427 5, 273.247 6, 201.159 4	4-羟基视黄酸
4.82	C ₂₀ H ₂₆ O ₂	298.203 8	299.201 0	1.4	ESI ⁺	284.026 8, 240.558 3, 171.422 5	炔诺酮
5.24	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	336.230 0	335.222 0	-2.1	ESI ⁻	183.457 2, 163.856 1, 129.239 4	15-羟基二十碳-5Z,8Z,11Z,13E-四烯酸
5.46	C ₂₄ H ₄₈ NO ₇ P	451.269 9	493.317 2	0.7	ESI ⁺	313.957 4, 184.967 8, 125.582 3	LysoPC(16:1(9Z)/0:0)
5.63	C ₂₅ H ₄₈ NO ₇ P	505.316 8	504.307 8	-3.5	ESI ⁻	461.582 4, 279.655 7, 224.007 5	LysoPE(0:0/20:2(11Z,14Z))
5.82	C ₂₈ H ₅₀ NO ₇ P	543.332 4	588.328 1	-4.8	ESI ⁻	528.239 7, 303.795 4, 224.328 5	LysoPC(20:4(8Z,11Z,14Z,17Z))
5.87	C ₂₃ H ₄₅ NO ₄	399.334 9	400.342 9	2.0	ESI ⁺	338.576 0, 184.179 4, 144.037 4	棕榈酰肉碱
5.97	C ₂₅ H ₄₅ FeN ₆ O ₈	613.264 8	612.258 2	1.0	ESI ⁻	327.388 4, 283.372 4, 224.234 4	铁氧胺 B
6.07	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	312.250 8	311.221 8	-3.2	ESI ⁻	249.384 7, 198.033 2, 183.584 1, 119.058 4	8(R)-氢过氧基亚油酸
6.09	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	318.219 4	317.211 3	-2.9	ESI ⁻	301.982 4, 271.642 5, 257.783 5, 175.215 6	Ineketone
6.18	C ₂₃ H ₄₈ NO ₇ P	481.316 8	480.307 8	-3.6	ESI ⁻	436.299 0, 255.251 7, 224.616 4	LysoPC(15:0)
6.20	C ₁₀ H ₁₁ NO	161.084 0	184.073 8	3.2	ESI ⁺	142.002 5, 99.638 4, 86.252 4	L-色氨酸
6.28	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	296.235 1	295.226 6	-4.2	ESI ⁻	277.936 7, 195.369 4, 171.254 9	9,10-环氧十八烯酸
6.29	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	521.348 1	566.343 9	-4.7	ESI ⁻	506.457 1, 435.017 4, 281.054 7	LysoPC(18:1(9Z))
6.64	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	320.235 1	319.226 4	-4.5	ESI ⁻	301.459 2, 257.188 4, 229.661 4, 179.779 1	11,12-环氧二十碳三烯酸
6.67	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302.224 6	303.232 5	2.1	ESI ⁺	285.408 5, 267.205 7, 201.526 7, 183.024 6	二十碳五烯酸
7.36	C ₃₀ H ₄₇ N ₃ O ₁₀ S	641.298 2	640.289 3	-2.5	ESI ⁻	594.125 4, 534.659 4, 309.753 1, 117.753 1	S-(PGA2)-谷胱甘肽
8.53	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.240 2	304.238 7	-4.9	ESI ⁻	259.301 4, 231.001 7, 177.742 3	花生四烯酸
9.23	C ₄₄ H ₈₄ NO ₈ P	785.593 5	786.600 1	-0.8	ESI ⁺	524.046 5, 406.353 4, 184.746 2, 125.383 4	PC(18:2(9Z,12Z)/18:0)
9.85	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O ₅	256.105 9	279.093 9	-5.0	ESI ⁺	200.983 4, 173.547 1, 77.094 7	1-(β-D-呋喃核糖基)-1,4-二氢烟酰胺

表 3 对照组、模型组、SMYAT 组及 MLN 组大鼠血液流变学研究 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Hemorheological study of control group, model group, SMYAT group and MLN group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	高切全血黏度/(mPa·s ⁻¹)	低切全血黏度/(mPa·s ⁻¹)	血浆黏度/(mPa·s ⁻¹)	红细胞压积/%	红细胞刚性指数	红细胞聚集指数	红细胞变形指数
对照	4.59±0.14	9.24±0.84	1.28±0.41	47.38±3.23	5.57±0.76	7.54±0.81	0.85±0.61
模型	5.24±0.64	17.48±1.45**	1.68±0.65*	47.13±7.08**	6.28±1.22*	11.42±0.89*	0.92±0.77
SMYAT	4.41±0.68 [#]	12.01±1.60 [#]	1.31±0.31 ^{##}	46.94±5.69	4.76±0.67 [#]	7.56±0.86 ^{##}	0.74±0.35 ^{##}
MLN	6.11±0.81 [#]	13.47±1.24	1.41±0.29	47.02±4.91	6.81±0.91	7.04±0.61	0.79±0.32 ^{##}

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, 下同。[#] $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as below.

A-对照组; B-模型组; C-SMYAT 组; D-MLN 组。

A-control group; B-model group; C-SMYAT group; D-MLN group.

图 4 对照组、模型组、SMYAT 组及 MLN 组大鼠股动脉切片 ($\times 400$)Fig. 4 Femoral artery sections from control group, model group, SMYAT group and MLN group ($\times 400$)

皮细胞和平滑肌细胞排列恢复,经 SMYAT 治疗后,损伤情况恢复并保持稳定状态(图 4-C)。MLN 组股动脉轻度变薄,具有不同程度恢复,出现轻微内膜剥脱现象(图 4-D)。从组织病理学指标结果表明 SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎的疗效是肯定的。

3.4 SMYAT 血中移行成分分析

如图 5 所示,模型组和对照组区分明显,表明血栓闭塞性脉管炎模型成功制备。模型组与 SMYAT 各给药组明显分开,表明 SMYAT 具有抗血栓闭塞性脉管炎的药效作用。通过血液代谢轮廓分析图,说明 SMYAT 作用血栓闭塞性脉管炎大鼠模型后,其血液代谢物谱发生明显变化,SMYAT 可明显调节血栓闭塞性脉管炎大鼠模型异常代谢轮廓,使其更

趋近于对照组状态,说明经过治疗后,SMYAT 对血栓闭塞性脉管炎大鼠起到明显的改善作用,在 30 个血液潜在生物标记物中,经过 SMYAT 治疗后,共有 19 个发生显著性回调,见图 6。随后,利用 UPLC-HDMS 技术对 SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎有效状态下的血中移行成分进行分析,共发现 24 个为原型入血成分,44 个为代谢成分,信息见表 4、5。

3.5 SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎的药效物质基础研究

将血栓闭塞性脉管炎的生物标记物含量和血栓闭塞性脉管炎大鼠口服 SMYAT 后血清中移行成分含量导入 PCMS 软件中,通过皮尔逊算法的中药体内显效成分与模型生物标记物的相关性分析。设置本研究的 r_1 为 0.70, r_2 为 0.75,如图 7 所示,发现 SMYAT 的 68 个体内显效成分中 6 个为高度相关药效成分,主要为哈巴昔、阿魏酸、甘草酸、甘草苷经“脱水”后的代谢产物 M5,绿原酸经“葡萄糖化”的产物 M10,甘草苷“氧化+氢化”产物 M27,哈巴俄昔经“去葡萄糖化+去饱和”的产物 M39,哈巴俄昔经“氧化”后的产物 M44。SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎的潜在药效物质基础可能为绿原酸、哈巴昔、哈巴俄昔、阿魏酸、甘草酸、甘草苷。

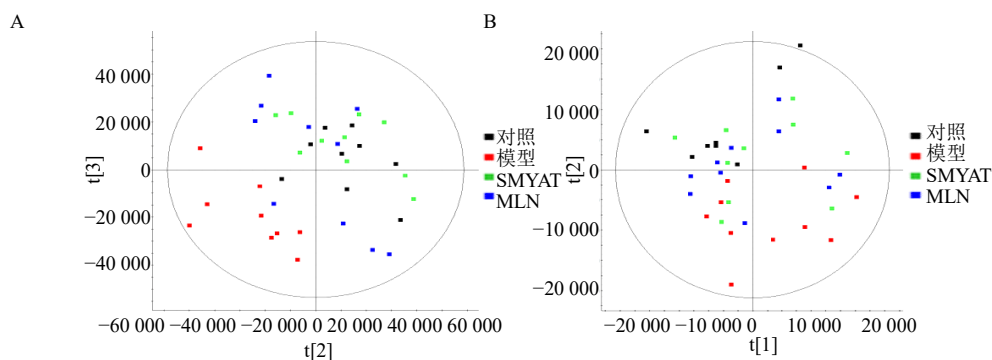


图 5 正 (A) 和负 (B) 离子模式下各组大鼠血液代谢轮廓分析图

Fig. 5 PCA plot of serum samples in positive (A) and negative (B) ion modes

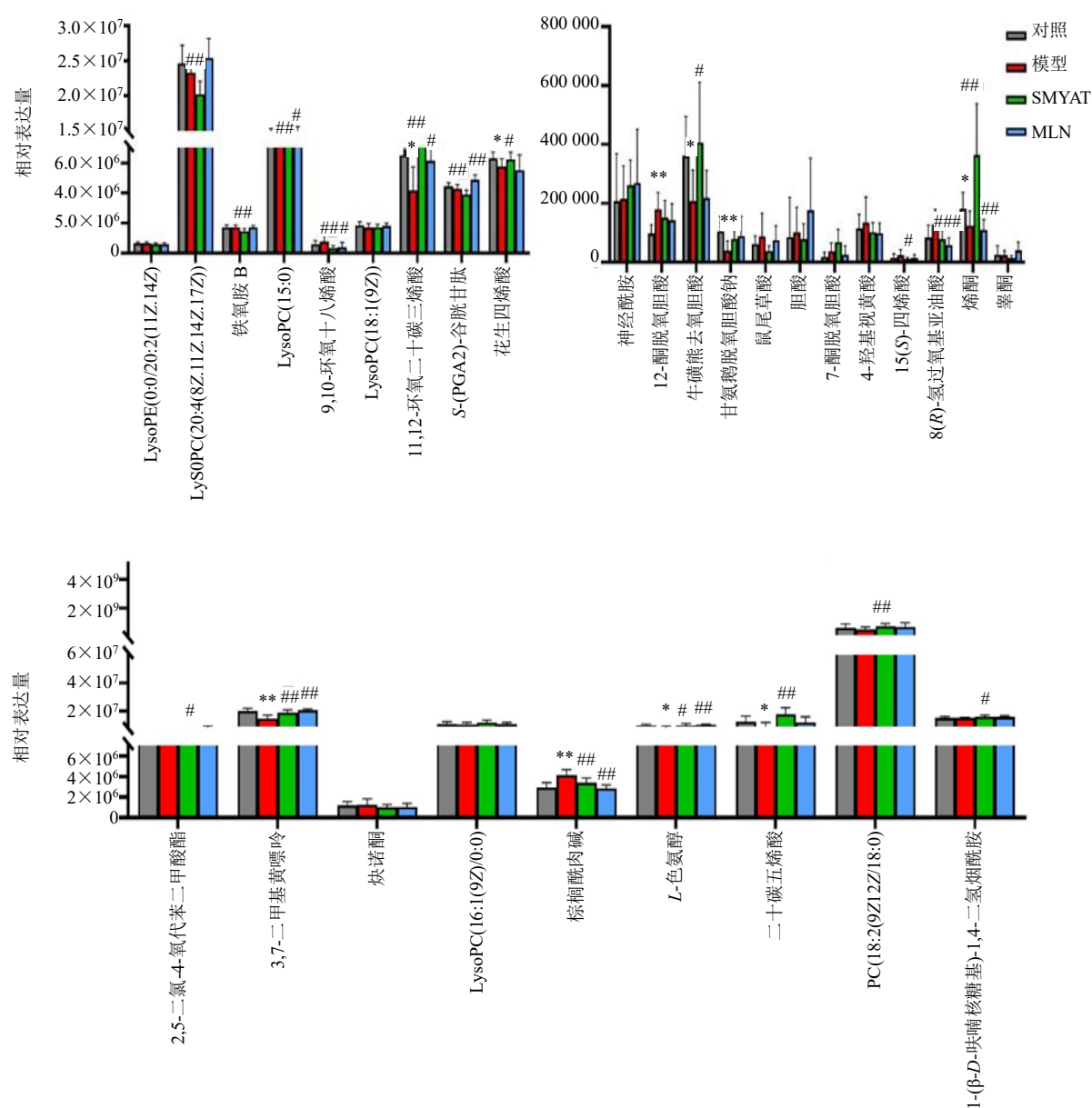


图 6 SMYAT 组及 MLN 组治疗后血栓闭塞性脉管炎血液生物标记物在各组的表达水平

Fig. 6 Expression level of serum biomarkers of thromboangiitis obliterans in SMYAT group and MLN group after administration

4 讨论

在方证代谢组学理论及方法的指导下，采用一体化的方剂效应评价和体内成分分析的研究策略，利用 UNIFI 分析平台分析血栓闭塞性脉管炎模型大鼠口服 SMYAT 后的显效状态下的入血成分，筛选鉴定了 24 个 SMYAT 吸收入血的原型成分。并利用 UNIFI 软件分析正、负离子模式下 SMYAT 含药血清色谱图进而确定 SMYAT 入血后的药物代谢成分。通过 PCMS 相关分析确定绿原酸、哈巴昔、哈巴俄昔、

阿魏酸、甘草昔、甘草酸可能为 SMYAT 治疗血栓闭塞性脉管炎的药效物质基础。其中，绿原酸具有抗炎、抗氧化的作用，可以通过 NF- κ B 途径来中和原始炎症因子，阻止炎症反应，并减轻与炎症相关的组织损伤^[15]。哈巴昔具有抗炎抗氧化^[16]，哈巴俄昔具有抗炎特性，可抑制炎症性细胞因子得表达^[17]。甘草昔可以缓解骨关节炎，减轻疼痛的敏感性^[18]。甘草酸可降低血清肌酸激酶、乳酸脱氢酶、丙二醛、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 和肿瘤

表 4 原型入血成分分析表征结果

Table 4 Information of prototype blood entry components

序号	t _R /min	化合物	分子式	离子模式	m/z		误差/(×10 ⁻⁶)	二级碎片	来源
					理论值	测定值			
1	1.68	琥珀酸	C ₄ H ₆ O ₄	ESI ⁻	118.026 6	117.019 6	-2.9	73.032 1	玄参
2	3.88	四乙酰开联番木鳖苷	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	ESI ⁻	390.116 2	389.109 6	0.8	165.057 6, 121.068 6	金银花
3	4.32	哈巴苷	C ₁₅ H ₂₄ O ₁₀	ESI ⁻	364.137 0	363.130 2	-2.3	201.073 8, 183.069 3	玄参
4	6.31	邻苯二甲酸酐	C ₈ H ₄ O ₃	ESI ⁺	148.016 3	149.023 6	-5.9	135.041 4, 107.048 3	当归
5	6.50	茴香酸	C ₈ H ₈ O ₃	ESI ⁺	152.047 8	153.055 1	-2.5	137.052 1, 109.069 3	当归
6	6.54	玄参种苷元	C ₉ H ₁₄ O ₃	ESI ⁻	170.094 3	169.087 2	-0.3	151.074 0, 121.063 2	玄参
7	6.70	愈创木酚	C ₇ H ₈ O ₂	ESI ⁻	124.052 4	123.045 1	0.9	123.045 1	当归
8	7.23	断马钱子酸	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	ESI ⁻	374.121 3	373.115 2	-2.1	193.057 2, 149.063 4	金银花
9	8.48	4-甲氧基肉桂酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	ESI ⁺	178.063 6	179.070 8	1.9	161.062 4, 149.057 2, 133.068 8, 95.043 1, 79.054 2	玄参
10	8.54	断氧化马钱苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	ESI ⁻	404.131 9	403.124 9	-2.5	357.123 6, 225.074 1	金银花
11	10.71	7-甲氧基香豆素	C ₁₀ H ₈ O ₃	ESI ⁺	176.048 0	177.055 2	4.8	163.033 6, 145.027 2	甘草
12	10.78	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	ESI ⁻	194.057 9	193.050 3	6.4	178.024 6, 134.033 7	当归
13	11.58	甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	ESI ⁺	256.074 2	257.081 5	-4.3	163.045 2, 137.024 0	甘草
14	12.47	当药苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	ESI ⁻	372.142 0	371.135 3	2.2	193.050 8, 173.047 3	金银花
15	13.76	木犀草素-7-O-β-D-半乳糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	ESI ⁻	448.100 6	447.094 4	0.5	284.035 0, 151.004 1	金银花
16	14.80	玄参种苷 B	C ₁₈ H ₂₂ O ₉	ESI ⁻	382.126 4	381.120 7	0.8	179.037 3, 161.028 1	玄参
17	15.53	刺芒柄花素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	ESI ⁻	268.073 6	267.067 0	-1.7	251.034 5, 32.023 7	甘草
18	16.63	癸二酸	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	ESI ⁻	202.120 5	201.113 4	2.3	183.102 1, 139.118 4	当归
19	17.05	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	ESI ⁻	286.047 7	285.041 3	-2.6	179.034 9, 133.025 0	金银花
20	20.11	E-藜本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	ESI ⁺	190.099 7	191.107 0	1.8	147.047 3, 121.025 7	当归
21	20.73	甘草酸	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	ESI ⁺	822.403 7	823.410 9	5.5	647.371 1, 471.347 3	甘草
22	21.48	川芎内酯 A	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	ESI ⁺	194.130 4	195.137 7	-2.9	149.057 1, 105.073 7	当归
23	21.74	醋酸乙酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	ESI ⁻	196.146 3	195.138 8	5.6	181.128 3, 109.030 4	金银花
24	21.93	槲皮素 3',4',7'-三甲基醚	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	ESI ⁻	328.094 7	327.086 4	1.8	165.024 2	金银花

表 5 药物代谢成分分析结果

Table 5 Information of drug metabolic components

序号	t _R /min	化合物	分子式	离子模式	m/z		误差/(×10 ⁻⁶)	二级碎片	来源
					理论值	测定值			
M1	3.85	绿原酸+O+C ₂ H ₂ O	C ₁₈ H ₂₀ O ₁₁	ESI ⁺	412.100 6	413.105 3	-6.1	369.110 2, 258.068 5, 85.023 0	金银花
M2	3.86	哈巴俄苷-H ₂ O	C ₂₄ H ₂₈ O ₁₀	ESI ⁺	477.175 4	477.175 4	-0.1	369.114 2, 242.107 4, 85.025 7	玄参
M3	3.95	绿原酸+O+H ₂ +C ₂ H ₂ O	C ₁₈ H ₂₂ O ₁₁	ESI ⁻	414.116 3	413.109 3	0.8	254.071 4, 169.082 7	金银花
M4	4.13	绿原酸-H ₂	C ₁₆ H ₁₆ O ₉	ESI ⁻	352.079 4	351.069 0	-8.8	203.035 4, 113.023 0	金银花
M5	4.30	甘草苷-H ₂ O	C ₂₁ H ₂₀ O ₈	ESI ⁻	400.115 8	399.106 6	-4.8	399.106 6	甘草
M6	4.71	哈巴俄苷-H ₂ +C ₆ H ₈ O ₆	C ₃₀ H ₃₆ O ₁₇	ESI ⁺	669.197 9	669.197 9	-6.8	447.130 6, 170.063 2, 118.062 1	玄参
M7	5.64	绿原酸+H ₂ O	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	ESI ⁻	372.105 7	371.100 5	5.5	242.054 7, 115.038 6	金银花
M8	5.86	绿原酸-H ₂ +C ₂ H ₂ O	C ₁₈ H ₁₈ O ₁₀	ESI ⁻	394.090 0	393.082 6	-0.2	247.025 4, 144.057 8, 113.024 5	金银花
M9	6.12	绿原酸+H ₂	C ₁₆ H ₂₀ O ₉	ESI ⁻	356.110 8	355.104 3	2.3	209.048 5, 147.047 6	金银花
M10	6.25	绿原酸+C ₆ H ₈ O ₆	C ₂₂ H ₂₆ O ₁₅	ESI ⁻	530.127 2	529.121 8	3.6	299.070 2, 142.067 5	金银花
M11	6.46	哈巴苷-C ₆ H ₁₀ O ₆	C ₉ H ₁₄ O ₄	ESI ⁺	186.089 2	187.096 9	2.0	184.078 5, 85.024 2	玄参
M12	6.78	哈巴苷-H ₂ O-H ₂	C ₁₅ H ₂₀ O ₉	ESI ⁻	344.110 7	343.103 3	-0.1	191.057 6, 163.044 2, 119.058 3	玄参
M13	7.04	哈巴俄苷+O+C ₂ H ₂ O	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₃	ESI ⁻	552.184 3	551.178 1	1.9	380.194 0, 305.168 2, 210.089 3	玄参
M14	7.47	甘草苷-O+H ₂	C ₂₁ H ₂₄ O ₈	ESI ⁺	404.147 2	405.152 4	-5.1	148.037 7, 124.074 3	甘草
M15	7.70	绿原酸+O	C ₁₆ H ₁₈ O ₁₀	ESI ⁻	370.090 0	369.084 2	4.0	276.023 7, 192.062 5, 134.037 3	金银花
M16	7.84	哈巴苷+O+C ₂ H ₂ O	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₂	ESI ⁺	422.142 5	423.152 0	5.4	175.073 4, 168.079 3, 130.054 1	玄参
M17	7.95	绿原酸-O(cleavage)+H ₂	C ₁₆ H ₂₀ O ₈	ESI ⁻	340.115 9	339.107 9	-2.0	339.107 9	金银花
M18	11.02	光甘草内酯+O+SO ₃	C ₃₀ H ₄₄ O ₈ S	ESI ⁺	564.275 7	565.283 1	0.3	521.258 6, 279.094 1	甘草
M19	11.31	哈巴俄苷+C ₂ H ₂ O	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₂	ESI ⁻	536.189 4	535.185 0	5.3	344.123 4, 144.045 8	玄参
M20	12.35	光甘草内酯-H ₂ +C ₆ H ₈ O ₆	C ₃₆ H ₅₀ O ₁₀	ESI ⁺	642.340 4	643.350 9	5.0	609.304 2, 587.325 8, 349.197 3	甘草
M21	12.36	甘草素+O-H ₂	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	ESI ⁺	270.052 8	271.060 7	2.6	155.074 1, 111.047 5	甘草

表 5 (续)

序号	t _R /min	化合物	分子式	离子模式	m/z		误差/(×10 ⁻⁶)	二级碎片	来源
					理论值	测定值			
M22	12.73	甘草酸+O+C ₂ H ₂ O	C ₄₄ H ₆₄ O	ESI ⁻	880.409	879.394 3	-8.8	399.130 4, 335.171 4, 257.080 9, 171.104 1	甘草
M23	13.20	绿原酸-H ₂ O	C ₁₆ H ₁₆ O	ESI ⁻	336.084	335.079 4	6.7	278.040 3, 234.062 4, 146.064 6	金银花
M24	13.4	哈巴苷-C ₆ H ₁₀ O ₆ (cleavage)+H ₂	C ₉ H ₁₆ O ₄	ESI ⁻	188.104	187.098 3	3.5	187.098 3	玄参
M25	13.61	甘草苷+O+H ₂	C ₂₁ H ₂₄ O	ESI ⁻	436.137	435.129 0	-1.6	209.085 4, 162.037 3	甘草
M26	13.62	哈巴俄苷-O+H ₂	C ₂₄ H ₃₂ O	ESI ⁺	481.205	481.205 7	-2.4	308.109 4, 243.102 4, 123.040 8	玄参
M27	14.45	绿原酸+O+C ₆ H ₈ O ₆	C ₂₂ H ₂₆ O	ESI ⁻	546.122	545.113 3	-2.7	301.074 6, 437.092 4, 353.097 3	金银花
M28	14.46	甘草苷-H ₂ O+O	C ₂₁ H ₂₀ O	ESI ⁻	416.110	415.105 4	4.8	239.071 3	甘草
M29	14.53	光甘草内酯-H ₂ +SO ₃	C ₃₀ H ₄₂ O	ESI ⁻	400.115	399.106 6	-4.8	482.265 3, 249.114 1, 153.097 3	甘草
M30	14.62	甘草素+H ₂ +SO ₃	C ₁₅ H ₁₄ O	ESI ⁺	400.115	339.051 4	-5.6	339.054 3	甘草
M31	14.85	哈巴俄苷-H ₂	C ₂₄ H ₂₈ O	ESI ⁻	492.163	491.156 4	1.2	423.145 2, 358.154 2, 174.047 4	玄参
M32	15.54	甘草酸-H ₂ O	C ₄₂ H ₆₀ O	ESI ⁺	804.393	805.404 9	5.5	657.373 6, 569.314 3, 177.117 4	甘草
M33	15.70	甘草素+H ₂	C ₁₅ H ₁₄ O	ESI ⁺	258.089	259.096 0	-2.2	111.042 2	甘草
M34	15.71	哈巴俄苷-C ₆ H ₁₀ O ₆ +H ₂	C ₁₈ H ₂₂ O	ESI ⁺	319.151	318.144 5	-7.1	133.083 2, 89.067 4	玄参
M35	15.78	甘草素-H ₂	C ₁₅ H ₁₀ O	ESI ⁺	254.057	255.065 4	1.2	237.052 8, 137.029 3	甘草
M36	15.85	哈巴苷-O+H ₂ +SO ₃	C ₁₅ H ₂₆ O	ESI ⁻	430.114	429.108 9	3.9	201.116 3, 139.114 8	玄参
M37	17.49	甘草酸+O	C ₄₂ H ₆₂ O	ESI ⁻	838.398	837.394 3	3.5	385.226 6, 349.194 7, 199.085 3	甘草
M38	17.78	哈巴俄苷-C ₆ H ₁₀ O ₆ -H ₂	C ₁₈ H ₁₈ O	ESI ⁺	315.120	315.120 0	-8.5	247.092 7, 97.028 4	玄参
M39	17.86	哈巴俄苷-C ₆ H ₁₀ O ₆	C ₁₈ H ₂₀ O	ESI ⁺	317.138	317.138 1	-0.7	220.103 4, 193.085 7	玄参
M40	19.83	哈巴俄苷-H ₂ +C ₂ H ₂ O	C ₂₆ H ₃₀ O	ESI ⁻	534.173	533.167 6	2.1	445.112 5, 195.106 3, 169.089 1	玄参
M41	20.46	哈巴俄苷-O	C ₂₄ H ₃₀ O	ESI ⁺	479.191	479.191 7	1.1	135.083 5, 91.057 5	玄参
M42	21.96	哈巴俄苷+H ₂	C ₂₄ H ₃₂ O	ESI ⁺	497.203	497.203 6	3.7	395.177 4, 155.076 8, 133.092 1	玄参
M43	22.40	哈巴俄苷+C ₆ H ₈ O ₆	C ₃₀ H ₃₈ O	ESI ⁻	670.210	670.210 9	2.2	214.045 2	玄参
M44	23.21	哈巴俄苷+O	C ₂₄ H ₃₀ O	ESI ⁻	510.173	510.173 7	-9.1	214.045 2	玄参

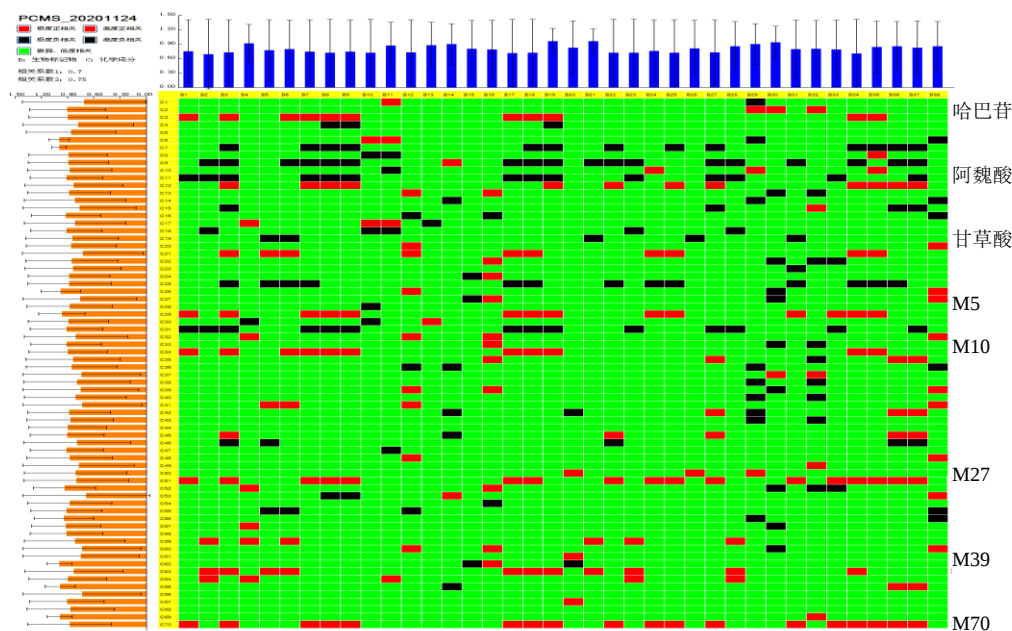


图 7 血栓闭塞性脉管炎大鼠模型生物标记物与 SMYAT 血中移行成分相对峰面积关联性分析热图

Fig. 7 Heatmap of correlation between biomarkers in rat TAO model and relative peak area of serum effective components effected by SMYAT

坏死因子- α 的水平,并增加了血清超氧化物歧化酶和丙二醛的活性,具有抗氧化、抗炎活性^[19-20]。阿魏酸具有抗血小板聚集,抑制血小板 5-羟色胺释放,抑制血小板血栓素 A₂ 的生成,增强前列腺素活性,镇痛,缓解血管痉挛等作用,也可保护皮肤^[21]。SMYAT 的药效物质协同作用,可以纠正模型大鼠代谢紊乱,不同层次改善大鼠病变程度,从而发挥治疗血栓闭塞性脉管炎的作用,为 SMYAT 经典名方开发提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵红霞,于智敏,耿颖,等. 四妙勇安汤方源探析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(5): 1209-1212.
- [2] 何录文,张爱华,薛俊茹,等. 四妙勇安汤的组方考证及临床研究进展 [J]. 中医药学报, 2019, 47(5): 31-35.
- [3] 李娟,张悦健,李腾腾,等. 四妙勇安汤“异病同治”脱疽、糖尿病和冠心病的网络药理学作用机制研究 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(5): 936-948.
- [4] Zhang A H, Liu Q, Zhao H W, *et al.* Phenotypic characterization of Nanshi oral liquid alters metabolic signatures during disease prevention [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19333.
- [5] Zhou X H, Zhang A H, Wang L, *et al.* Novel chinmedomics strategy for discovering effective constituents from ShenQiWan acting on ShenYangXu syndrome [J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(8): 561-581.
- [6] Zhang A H, Yu J B, Sun H, *et al.* Identifying quality-markers from Shengmai San protects against transgenic mouse model of Alzheimer's disease using chinmedomics approach [J]. *Phytomedicine*, 2018, 45: 84-92.
- [7] 刘鸿达,孔玲,孙晖,等. 方证代谢组学理论及方法的形成和发展 [J]. 中草药, 2025, 56(8): 2629-2637.
- [8] 曾仪晨,马雨雯,曾榆淞,等. 四妙勇安汤加减化裁治疗脓毒症的研究进展及其应用开发思路与方法 [J]. 中草药, 2025, 56(1): 330-339.
- [9] 田野,唐忠尉,张磊,等. 大鼠血栓闭塞性脉管炎模型建立及靶向抑制 NF- κ B 通路对 TAO 大鼠病变过程的影响 [J]. 血管与腔内血管外科杂志, 2021, 7(11): 1291-1295.
- [10] 曹璐颖,郑文杰,李克. 甲醇沉淀法去除人血清高丰度蛋白质的实验研究 [J]. 医学研究生学报, 2012, 25(11): 1151-1154.
- [11] Zhang A H, Sun H, Yan G L, *et al.* Chinmedomics: A powerful approach integrating metabolomics with serum pharmacochimistry to evaluate the efficacy of traditional Chinese medicine [J]. *Engineering*, 2019, 5(1): 60-68.
- [12] 闫广利,周小航,孙晖,等. 基于代谢组学的茵陈蒿汤及组分配伍对大鼠酒精性肝损伤的保护作用研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(10): 1749-1756.
- [13] Liu Q, Zhang A H, Wang L, *et al.* High-throughput chinmedomics-based prediction of effective components and targets from herbal medicine AS1350 [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38437.
- [14] 张爱华,孙晖,闫广利,等. 中医方证代谢组学: 中药效应评价的有效途径 [J]. 2019, 5(1): 132-149.
- [15] Nguyen V, Taine E G, Meng D H, *et al.* Chlorogenic acid: A systematic review on the biological functions, mechanistic actions, and therapeutic potentials [J]. *Nutrients*, 2024, 16(7): 924.
- [16] Xu C M, Tang Y C, Yang H, *et al.* Harpagide inhibits the TNF- α -induced inflammatory response in rat articular chondrocytes by the glycolytic pathways for alleviating osteoarthritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 127: 111406.
- [17] Kim J Y, Cheon Y H, Ahn S J, *et al.* Harpagoside attenuates local bone erosion and systemic osteoporosis in collagen-induced arthritis in mice [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 214.
- [18] Qiu M, Cheng L Y, Xu J B, *et al.* Liquiritin reduces chondrocyte apoptosis through P53/PUMA signaling pathway to alleviate osteoarthritis [J]. *Life Sci*, 2024, 343: 122536.
- [19] Cheng X, Liu Y W, Qi B C, *et al.* Glycyrrhizic acid alleviated MI/R-induced injuries by inhibiting Hippo/YAP signaling pathways [J]. *Cell Signal*, 2024, 115: 111036.
- [20] Zhu K Y, Fan R, Cao Y C, *et al.* Glycyrrhizin attenuates myocardial ischemia reperfusion injury by suppressing Inflammation, oxidative stress, and ferroptosis via the HMGB1-TLR4-GPX4 pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2024, 435(1): 113912.
- [21] Li D, Rui Y X, Guo S D, *et al.* Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives [J]. *Life Sci*, 2021, 284: 119921.

[责任编辑 时圣明]