

基于指纹图谱和网络药理学对经典名方五味消毒饮质量标志物的预测分析



涂 慧^{1,2}, 陈 林², 周代俊³, 朱美成³, 张水寒¹

1. 湖南中医药大学 (长沙 410208)
2. 湖南省中医药研究院 (长沙 410013)
3. 湖南新汇制药股份有限公司 (长沙 410200)

【摘要】目的 基于 HPLC 指纹图谱和网络药理学对五味消毒饮中的质量标志物 (Q-marker) 进行预测。**方法** 建立 15 批五味消毒饮的指纹图谱, 并对其进行峰指认和峰归属, 利用中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012 年版) 进行分析; 通过网络药理学对核心靶点及通路进行筛选, 构建“成分-靶点-通路”网络图; 以 Q-marker “五原则”为核心预测五味消毒饮的质量标志物。**结果** 15 批五味消毒饮指纹图谱相似度大于 0.95, 标定 13 个共有峰, 对其中 11 个特征峰进行指认, 分别为新绿原酸、绿原酸、秦皮乙素、隐绿原酸、马钱子苷、断氧化马钱子苷、菊苣酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷; 通过网络药理学分析, 推测绿原酸、秦皮乙素、断氧化马钱子苷、菊苣酸、蒙花苷 5 个成分可能为五味消毒饮的潜在 Q-marker, 其可能通过调节肿瘤抑制因子 p53/ 癌蛋白 Mdm2、酪氨酸蛋白激酶 SRC 等多个基因以及胰腺癌、前列腺癌等多条癌症疾病通路来发挥抗肿瘤、抗癌功效; 同时还对五味消毒饮可用于治疗新型冠状病毒肺炎进行预测分析。**结论** 建立的五味消毒饮 HPLC 指纹图谱分析方法灵敏、快速且稳定; 结合网络药理学筛选出具有溯源性和可预测性, 且与五味消毒饮临床应用相关的 5 个化合物作为其潜在 Q-marker, 为今后五味消毒饮的进一步研究提供参考。

【关键词】 五味消毒饮; 质量标志物; 指纹图谱; 网络药理学; 经典名方; 肿瘤; 癌症

Quality marker prediction analysis of Wuwei disinfection decoction based on fingerprint and network pharmacology

TU Hui^{1,2}, CHEN Lin², ZHOU Daijun³, ZHU Meicheng³, ZHANG Shuihan¹

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
 2. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410013, China
 3. Hunan Xinhui Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410200, China
- Corresponding author: ZHANG Shuihan, Email: zhangshuihan0220@126.com

【Abstract】Objective To predict the quality marker (Q-marker) of Wuwei disinfection decoction based on HPLC fingerprints and network pharmacology. **Methods** Using the Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System (2012 version) software, the fingerprints of 15 batches of Wuwei disinfection

DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202401123

通信作者: 张水寒, 博士, 研究员, 博士研究生导师, Email: zhangshuihan0220@126.com

<https://zgys.whuzhmedj.com>

decoction were established, and the peaks were found and assigned to each batch. Wuwei disinfection decoction's primary targets and routes were screened using network pharmacology, and a "component-target-pathway" network diagram was established. The five principles of the Q-marker were used to predict the quality marker in Wuwei disinfection decoction. **Results** The similarity of the fingerprints of 15 batches of Wuwei disinfection decoction was >0.95 , 13 peaks were identified, and 11 peaks were recognized as neochlorogenic acid, chlorogenic acid, esculetin, cryptochlorogenic acid, loganin, secoxyloganin, chicoric acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C and linarin. Through the pharmacological analysis of the network, it was speculated that chlorogenic acid, esculetin, secoxyloganin, chicory acid, and linarin might be potential Q-marker of Wuwei disinfection decoction, which may regulate multiple genes, such as tumour suppressor p53/oncoprotein Mdm2, tyrosine-protein kinase SRC, as well as multiple cancer pathways such as pancreatic cancer and prostate cancer, to produce anti-tumor and anti-cancer effects. At the same time, Wuwei disinfection decoction was also predicted to be used for the treatment of COVID-19. **Conclusion** The established HPLC fingerprinting method of Wuwei disinfection decoction was sensitive, rapid, and stable. Based on the network pharmacology results, potential Q-marker with traceability, predictability, and close relevance to the clinical application of Wuwei disinfection decoction was screened, which can provide a reference for further research on Wuwei disinfection decoction in the future.

【Keywords】 Wuwei disinfection decoction; Quality marker; Fingerprint; Network pharmacology; Classical recipe; Tumor; Cancer

五味消毒饮原方出自清代吴谦所著的《医宗金鉴》^[1],且于2018年被收录入国家中医药管理局所颁布的《古代经典名方目录(第一批)》名单。全方由金银花、蒲公英、野菊花、紫花地丁、紫背天葵子5味药物组成,具有清热解毒、消散疔疮之效,常用于治疗疔毒,痈疮疔肿;物质组成主要为黄酮类、香豆素类、酚酸类以及含氮类化合物^[2];现代临床多用于治疗肿痛、丹毒和带状疱疹等多种皮肤类疾病^[3]。另有研究发现,五味消毒饮及加减方在癌症细胞增殖及凋亡、癌症患者术后、患者癌性发热等方面也具有良好的治疗效果^[4-5]。

中药成分结构复杂,现行质量标准大多专属性差,导致药效无法准确控制。因此刘昌孝院士提出“质量标志物(quality marker, Q-marker)”的概念以期对中药质量进行有效控制^[6]。HPLC指纹图谱作为目前适用范围最广的中药质量检测方法,不仅具有操作简单、准确度和灵敏度高等特点,还可较为全面地反映中药中的化学成分,是中药质量控制和鉴别真伪的有效手段^[7]。网络药理学作为一门新兴学科,通过结合各种组学、高通量筛选、网络可视化等多种技术,构建并分

析“药物-靶点-通路”之间的关系网络,可有效筛选出中药及复方中的药效成分及作用靶点,揭示中药发挥药效的作用机制^[8-9]。

本研究通过HPLC指纹图谱和网络药理学手段,紧密贴合可测性、溯源性、特异性、有效性和处方配伍的质量标志物预测“五原则”,对不同产地、不同批号的五味消毒饮基准样品进行Q-marker预测。建立五味消毒饮科学、系统且全面的质量控制评价体系,同时为今后五味消毒饮相关制剂质量标准提供依据,也为其他经典名方及单味中药质量评价提供参考思路。

1 材料

1.1 主要仪器

Agilent 1200型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);XPE105型析天平和AL204型万分之一电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);DK-98-II电热恒温水浴锅(天津泰斯特仪器有限公司);101-2电热恒温鼓风干燥箱(上海天缘试验仪器厂);SJIA-10N-50A冷冻干燥机(宁波双嘉化器有限公司);KM-500DB

型超声波清洗器(昆山美美超声仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110753-201716,纯度 $\geq 99.3\%$);新绿原酸(批号:CHB170914,纯度 $\geq 98\%$)、隐绿原酸(批号:CHB170828,纯度 $\geq 98\%$)、马钱子苷(批号:CHB180108,纯度 $\geq 98\%$)、断氧化马钱子苷(批号:CHB170906,纯度 $\geq 98\%$)、异绿原酸 A(批号:CHB171013,纯度 $\geq 98\%$)、异绿原酸 B(批号:CHB160725,纯度 $\geq 98\%$)、异绿原酸 C(批号:CHB160726,

纯度 $\geq 98\%$)、蒙花苷(批号:CHB161106,纯度 $\geq 98\%$)、秦皮乙素(批号:CHB170907,纯度 $\geq 98\%$)、菊苣酸(批号:CHB160905,纯度 $\geq 98\%$)等对照品均购自成都克洛玛生物科技有限公司;乙腈、甲酸为色谱纯;其余试剂为分析纯;水为怡宝纯净水。

药材和饮片来源于多个产地,产地信息见表1。经湖南省中医药研究院刘浩老师鉴定均为正品,符合《中国药典(2020年版)》等相关标准。依据古法煎煮所得的5种药材饮片干膏得率高低进行调配制得基准样品,结果见表1。

表1 五味消毒饮药材产地信息、出膏率及基准样品出膏率

Table 1. The medicinal material origin information, paste rate, and reference sample paste rate of Wuwei disinfection decoction

样品编号	药材名称	药材产地	药材批号	药材出膏率(%)	基准样品出膏率(%)
S1	金银花	河北省邢台市	180301	35.15	22.02
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171225	26.24	
	野菊花	安徽省霍山县	171214	18.92	
	紫花地丁	河北省安国市	190606	19.81	
	蒲公英	安徽省亳州市	190603	22.45	
S2	金银花	河南省封丘县	180403	36.06	22.19
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171223	27.29	
	野菊花	安徽省肥西县	171222	18.94	
	紫花地丁	河北省安国市	190601	19.87	
	蒲公英	安徽省亳州市	190604	22.84	
S3	金银花	山东省平邑县	171223	38.82	22.67
	紫背天葵子	湖南省邵东县	180402	28.76	
	野菊花	安徽省肥西县	171217	19.40	
	紫花地丁	河北省安国市	190605	20.17	
	蒲公英	安徽省亳州市	180405	24.00	
S4	金银花	山东省平邑县	171214	38.88	22.40
	紫背天葵子	湖南省邵东县	180401	29.64	
	野菊花	安徽省亳州市	170906	20.10	
	紫花地丁	湖南省安仁县	180406	20.47	
	蒲公英	安徽省亳州市	190605	24.81	
S5	金银花	山东省平邑县	171225	40.08	22.23
	紫背天葵子	湖南省邵东县	180201	31.36	
	野菊花	安徽省霍山县	171213	20.90	
	紫花地丁	河北省安国市	190607	20.64	
	蒲公英	安徽省亳州市	190607	26.12	
S6	金银花	河南省封丘县	180302	40.09	22.98
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171214	32.49	
	野菊花	湖北省枣阳市	180302	20.95	
	紫花地丁	安徽省亳州市	180405	20.72	
	蒲公英	安徽省亳州市	190606	26.38	

续表1

样品编号	药材名称	药材产地	药材批号	药材出膏率 (%)	基准样品出膏率 (%)
S7	金银花	河北省邢台市	180401	41.36	24.29
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171213	33.25	
	野菊花	安徽省香山县	171202	21.25	
	紫花地丁	湖南省安仁县	180407	20.84	
	蒲公英	安徽省亳州市	190608	26.94	
S8	金银花	河南省封丘县	180404	41.44	22.05
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171211	34.71	
	野菊花	安徽省香山县	171201	22.18	
	紫花地丁	河北省安国市	190602	21.22	
	蒲公英	安徽省亳州市	190602	27.76	
S9	金银花	山东省平邑县	171221	41.59	26.00
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171202	34.96	
	野菊花	安徽省香山县	171210	22.18	
	紫花地丁	安徽省亳州市	180402	21.34	
	蒲公英	安徽省亳州市	190601	27.79	
S10	金银花	山东省平邑县	171213	41.72	24.42
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171215	35.20	
	野菊花	安徽省香山县	171204	21.81	
	紫花地丁	湖南省安仁县	180403	21.34	
	蒲公英	河北省安国市	180301	28.48	
S11	金银花	山东省平邑县	171205	42.88	26.18
	紫背天葵子	安徽省广德县	171206	37.88	
	野菊花	安徽省肥西县	171220	23.64	
	紫花地丁	河北省安国市	190604	21.35	
	蒲公英	河北省安国市	180401	28.50	
S12	金银花	河北省邢台市	180402	42.90	23.57
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171221	38.48	
	野菊花	安徽省香山县	171205	23.99	
	紫花地丁	河北省安国市	190603	22.09	
	蒲公英	湖南省洞口县	180302	29.50	
S13	金银花	山东省平邑县	171215	43.00	26.14
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171218	38.74	
	野菊花	湖北省枣阳市	180402	24.49	
	紫花地丁	河北省安国市	171201	22.54	
	蒲公英	河北省安国市	180402	29.56	
S14	金银花	山东省平邑县	171211	43.50	28.92
	紫背天葵子	安徽省广德县	171201	38.94	
	野菊花	安徽省香山县	171212	24.75	
	紫花地丁	河北省安国市	180401	24.69	
	蒲公英	湖南省洞口县	180403	29.61	
S15	金银花	山东省平邑县	171202	43.68	33.29
	紫背天葵子	安徽省宣城市	171205	38.99	
	野菊花	湖北省枣阳市	180401	25.58	
	紫花地丁	安徽省亳州市	180404	25.19	
	蒲公英	湖南省洞口县	180404	30.64	

2 方法与结果

2.1 五味消毒饮样品的制备

五味消毒饮始载于清代吴谦所著《医宗金鉴》，文中所述该方组成及服用方法为：“金银花三钱，野菊花、蒲公英、紫花地丁、紫背天葵子各一钱二分。水二盅，煎八分，加无灰酒半盅，再滚二、三沸时，热服。渣，如法再煎服，被盖出汗为度。”根据国家管理中医药局所颁布的经典名方关键信息表（7 首方剂）及相关考证信息确定，“一钱”约为今之 3.73 g，“一盅”等于 200 mL。由此确定制备方法为：称取金银花 11.19 g，野菊花 4.48 g，蒲公英 4.48 g，紫花地丁 4.48 g，紫背天葵子 4.48 g，共 29.11 g；上述药加水 400 mL，煎至 160 mL，加黄酒 100 mL，再煮沸 2~3 次，趁热过滤，煎煮 2 次，合并 2 次滤液，采用冷冻干燥机，冷冻 48 h，即得。五味消毒饮基准样品出膏率信息见表 1。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取对照品：新绿原酸 1.5 mg、绿原酸 9 mg、隐绿原酸 1 mg、马钱子苷 2 mg、断氧化马钱子苷 2 mg、异绿原酸 A 2 mg、异绿原酸 B 2 mg、异绿原酸 C 4 mg、蒙花苷 18 mg、菊苣酸 1.5 mg 和秦皮乙素 1.5 mg，置于量瓶中，加入甲醇溶液，定容至 10 mL，制成混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密称定“2.1”项下所制得的样品约 0.5 g，加入甲醇 25 mL，称定重量，超声处理（功率：500 W，频率：40 kHz）30 min，放冷，用甲醇补足失重，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4 色谱条件

色谱柱为 Inert Sustain C₁₈ 柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-0.1% 甲酸水，梯度洗脱（洗脱程序见表 2）；流速为 1.0 mL/min；进样量为 5 μL；柱温为 25 ℃；检测波长为 254 nm。

2.5 方法学考察

2.5.1 重复性试验

精密称取同一（编号：S1）五味消毒饮基准样品 0.5 g，按照“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，并按“2.4”项下色谱条件进样检测。以绿原酸为参照峰，计算各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD，结果各共有峰的相对保留

时间 RSD 均小于 0.5%（n=6），相对峰面积 RSD 均小于 5%（n=6），各图谱相似度均大于 0.95，表明该方法重复性良好。

2.5.2 精密度试验

精密称取同一（编号：S1）五味消毒饮基准样品 0.5 g，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.4”项下色谱条件连续进样 6 次。以绿原酸为参照峰，计算各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD，结果各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.2%（n=6），相对峰面积 RSD 均小于 3%（n=6），各图谱相似度大于 0.95，表明仪器精密度良好。

2.5.3 稳定性试验

精密称取同一（编号：S1）五味消毒饮基准样品 0.5 g，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.4”项下色谱条件分别在 0，2，4，6，8，10，12，14，16，18，20，22，24 h 进样检测。以绿原酸为参照峰，计算各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD，结果各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.6%（n=13），相对峰面积 RSD 均小于 5%（n=13），各指纹图谱相似度大于 0.95，表明该供试品溶液在 24 h 内稳定。

表2 梯度洗脱程序

Table 2. The gradient elution program

时间 (min)	乙腈 (%)	0.1%甲酸水 (%)
0~8	2	98
8~14	2→9	98→91
14~16	9→10	91→90
16~30	10	90
30~33	10→15	90→85
33~41	15	85
41~53	15→20	85→80
53~60	20→23	80→77
60~70	23→66	77→34
70~75	66→100	34→0
75~80	100	0

2.6 五味消毒饮指纹图谱的建立及相似度评价

取 15 批五味消毒饮基准样品，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.4”项下色谱条件进样检测，记录相关色谱图。导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）进行数据分析，选择 S1 为参照图谱，采用平均数法，时

间宽度设置为 0.1 min，进行多点校正及 Mark 峰匹配，生成五味消毒饮批量指纹图谱及对照图谱 (R)，见图 1。共标定 13 个色谱峰，通过对照品指认出 1 号峰新绿原酸、4 号峰绿原酸、5 号峰秦皮乙素、6 号峰隐绿原酸、7 号峰马钱子苷、8 号峰断氧化马钱子苷、9 号峰菊苣酸、10 号峰异绿原酸 B、11 号峰异绿原酸 A、12 号峰异绿原酸

C、13 号峰蒙花苷 11 个特征峰。设置 S1 为参照图谱，计算 15 批五味消毒饮指纹图谱的相似度，结果 S1~S15 指纹图谱相似度为：0.997、0.981、0.994、0.997、0.991、0.990、0.992、0.998、0.997、0.999、0.996、0.997、0.990、0.980、0.997，可见 15 批样品指纹图谱相似度均大于 0.95，表明各批次样品稳定，重复性良好。

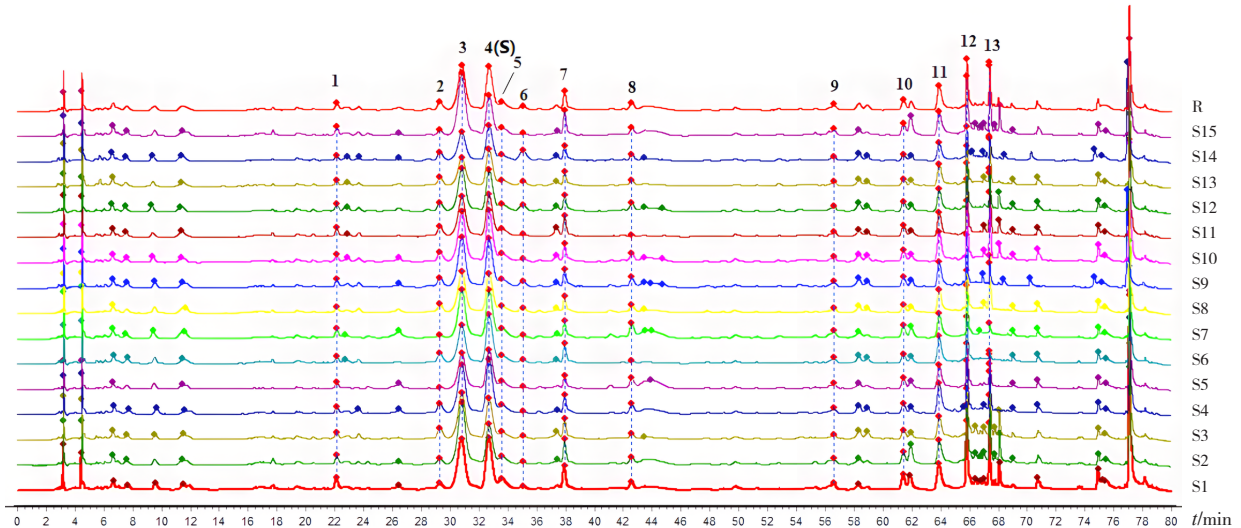


图1 15批五味消毒饮指纹图谱及对照图谱

Figure 1. The fingerprints of 15 batches of Wuwei disinfection decoction and control atlas

2.7 共有峰指认及峰归属研究

依据供试品溶液制备方法，制备单味药材溶液、各阴性样品溶液及五味消毒饮供试品溶液，按“2.4”项下色谱条件依次进样检测，将单味药、阴性样品溶液和供试品溶液进行比对，对五味消毒饮进行峰归属，见图 2。可见五味消毒饮指纹图谱共有峰中，共指认出 13 个色谱峰，经对照品

指认出 11 个特征峰，指认率达 84.6%，具体见表 3。

2.8 基于成分-靶点-通路的网络药理学分析

2.8.1 基于可预测性和溯源性化合物筛选

金银花作为五味消毒饮中的君药，主要含有有机酸类、环烯醚萜类、黄酮类等多种化合物^[10]。其中有机酸主要为绿原酸类化合物，绿原酸是金

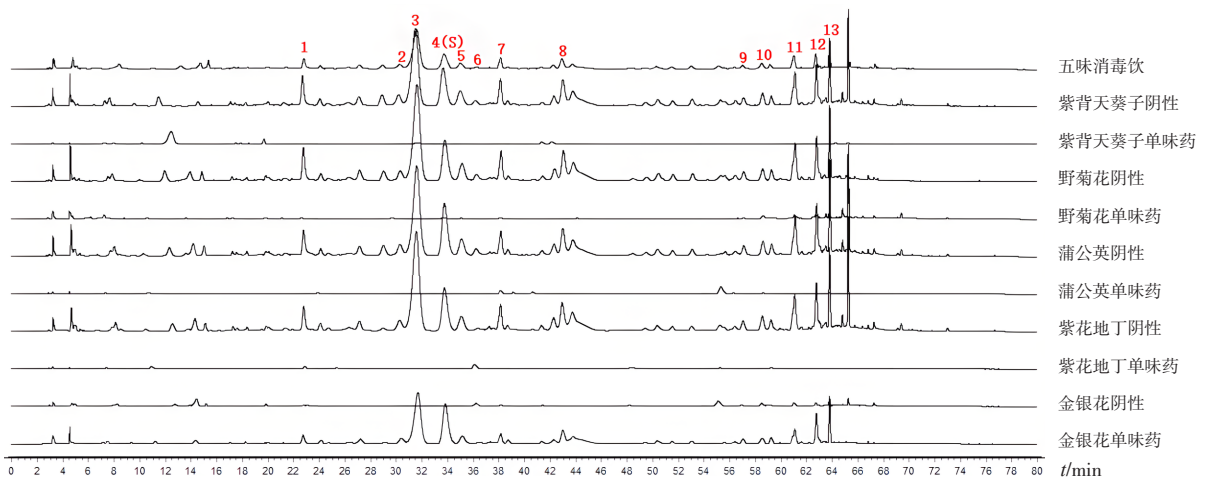


图2 五味消毒饮样品色谱峰归属

Figure 2. The assignment of chromatographic peaks of Wuwei disinfection decoction

银花发挥抗炎抑菌功效的重要成分^[11]。新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C 均为绿原酸的同分异构体，由于不饱和键和酚羟基的存在，使其结构易分解；但药理作用相似，主要具有抗肿瘤、免疫调节、抗氧化等多种药理作用^[12]。同时绿原酸也在蒲公英^[13]、紫花地丁^[14]、野菊花^[15]中存在。断氧化马钱子苷属于环烯醚萜类化合物，该类化合物具有清热解毒、抗炎镇痛等药理作用^[16]。野菊花主要含有有机酸、黄酮类化合物^[15]，蒙花苷为一种天然黄酮类化合物，具有抗炎、抗肿瘤等多种药理作用^[17]。紫花地丁主要含有有机酸类、香豆素类、黄酮类化合物^[14]，秦皮乙素作为主要的香豆素类成分具有抑菌、抗炎、抗肿瘤、调节免疫等作用^[18]。蒲公英主要含有酚类、黄酮类化合物，其中菊苣酸作为酚类化合物具有抗炎、抗肿瘤等药理作用^[13]。紫背天葵子主要含有生物碱类、酚类化合物，临床上可用于治疗肿瘤、肾病等疾病^[19]。

表3 色谱峰指认及归属

Table 3. Identification and attribution of chromatographic peaks

峰号	峰归属	峰指认
1	野菊花、金银花、紫花地丁	新绿原酸
2	金银花、蒲公英	未指认
3	金银花	未指认
4	金银花	绿原酸
5	紫花地丁	秦皮乙素
6	野菊花、金银花、蒲公英	隐绿原酸
7	金银花	马钱子苷
8	金银花、紫背天葵子	断氧化马钱子苷
9	蒲公英	菊苣酸
10	野菊花、金银花、蒲公英	异绿原酸B
11	野菊花、金银花	异绿原酸A
12	野菊花、金银花	异绿原酸C
13	野菊花	蒙花苷

《中国药典（2020年版）》中绿原酸、断氧化马钱子苷为金银花指纹图谱检测指标，同时绿原酸也是金银花含量测定指标成分；秦皮乙素则是紫花地丁含量测定指标成分；菊苣酸为蒲公英含量测定指标成分；蒙花苷为野菊花含量测定指标成分。因此基于文献研究及指纹图谱溯源性和可测性，暂选择绿原酸、秦皮乙素、断氧化马钱子苷、菊苣酸和蒙花苷 5 个活性化学成分作为候选化合物。

2.8.2 五味消毒饮主要化学成分靶点预测

从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 搜索五味消毒饮 5 个主要活性化学成分的 Canonical SMILES 号，再进入 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 物种选择“Homo sapiens”进行靶点预测，去除重复靶点后，共得到靶点 335 个。

2.8.3 蛋白质互作网络构建

将筛选得到的 335 个靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，于 Organisms 选项中选择“Homo sapiens”，蛋白交互评分值“high confidence > 0.9”，并隐藏无联系节点，其余参数不变，得到 248 个靶蛋白的蛋白质互作网络 (protein-protein interaction networks, PPI) 图 (图 3)。将 PPI 图以 TSV 文件下载，导入 Cytoscape 3.7.2 软件中，利用其中的“Network Analyzer”功能对结果进行拓扑属性分析，计算选取接近中心性、介数中心性和度值 3 个拓扑参数均大于中位数且度值 > 20 的靶点作为核心靶点，最终得到 26 个核心靶点，结果见表 4。

2.8.4 GO 功能富集分析及 KEGG 通路功能富集分析

利用 David 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>) 对所获得的核心基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路功能富集分析。GO 分析及 KEGG 分析均选取 $P < 0.01$ 且错误发现率 < 0.01 为具有统计学意义。GO 功能分析共得到 110 个条目，其中生物过程 (biological process, BP) 占 64 条，细胞组成 (cell composition, CC) 占 14 条，分子功能 (molecular function, MF) 占 32 条。选取显著性前 20 条目进行展示，结果见图 4，其主要涉及蛋白质磷酸化、胞质溶胶、蛋白质丝氨酸 / 苏氨酸 / 酪氨酸激酶活性、泛素蛋白连接酶结合等过程。KEGG 分析共得到 115 条显著通路，选取与五味消毒饮显著相关的前 20 条通路进行展示 (图 5)，主要涉及癌症肿瘤、病毒感染、乙型肝炎、内分泌抵抗等。

2.8.5 “成分-靶点-通路”网络图构建

将从五味消毒饮样品中筛选得到的 5 个化合物、26 个核心靶点及排名前 20 条的信号通路运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建出“成分-靶点-通路”网络图 (图 6)。由图可知，化合物通过作用多个靶点进而在不同信号通路上发挥作用。

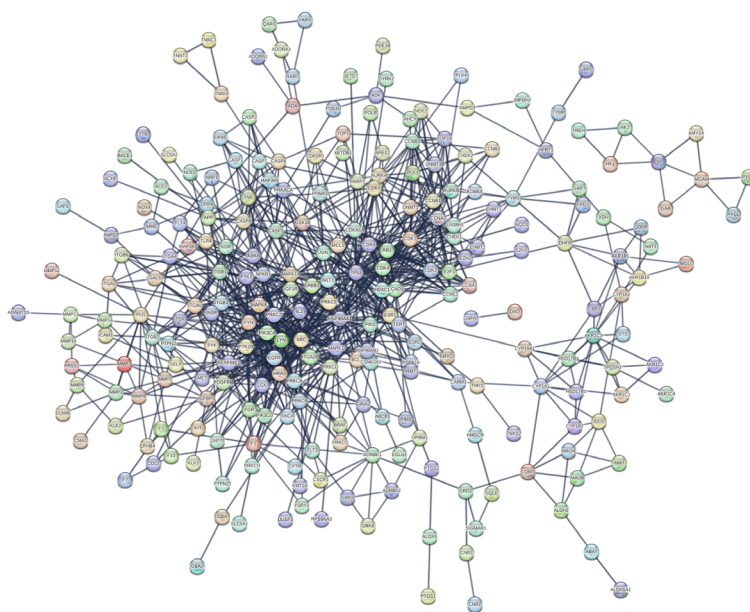


图3 成分靶点PPI网络图

Figure 3. The PPI network diagram of component targets

表4 核心靶点的拓扑学性质

Table 4. The topological properties of core targets

靶点	名称	介数中心性	接近中心性	度值
TP53	肿瘤抑制因子p53/癌蛋白Mdm2	0.243 7	0.449 5	61
SRC	酪氨酸蛋白激酶SRC	0.147 8	0.433 0	54
HSP 90 α	热休克蛋白90 α	0.106 6	0.418 4	41
MAPK1	丝裂原活化蛋白激酶1	0.042 3	0.396 6	38
HRAS	转化蛋白P21抗体/原癌基因H-RAS抗体	0.028 7	0.381 9	33
PIK3CA	磷脂酰肌醇-3-激酶p110 α 催化亚基	0.022 2	0.383 1	31
AKT1	丝氨酸/苏氨酸激酶Akt	0.030 8	0.391 4	29
HDAC1	组蛋白脱乙酰酶1	0.048 6	0.383 1	29
LYN	酪氨酸蛋白激酶Lyn	0.029 0	0.371 1	29
CDK1	细胞周期蛋白依赖性激酶1	0.031 6	0.375 8	28
LCK	酪氨酸蛋白激酶Lck	0.006 5	0.362 0	27
ITGB1	整合素 β 1	0.034 3	0.365 9	27
FYN	酪氨酸蛋白激酶Fyn	0.012 7	0.367 6	27
PTK2B	蛋白酪氨酸激酶2 β	0.009 1	0.359 8	26
NFKB1	核因子 κ -Bp105亚基	0.029 3	0.375 8	24
RB1	成视网膜母细胞瘤蛋白	0.012 5	0.376 4	24
PTK2	蛋白酪氨酸激酶2	0.010 7	0.371 7	24
EGFR	表皮生长因子受体	0.022 7	0.382 5	24
MAPK8	丝裂原激活蛋白激酶8	0.015 1	0.371 7	22
JUN	Jun原癌基因	0.033 5	0.375 8	22
CDKN1A	细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1	0.011 7	0.378 2	22
CCNA2	细胞周期蛋白-A2	0.014 2	0.343 5	22
CDK4	细胞周期蛋白依赖性激酶4	0.010 4	0.378 2	22
E2F1	E2F转录因子1	0.043 7	0.352 2	21
ESR1	雌激素受体 α	0.075 8	0.395 3	21
CCNB1	细胞周期蛋白B1	0.002 7	0.310 5	21

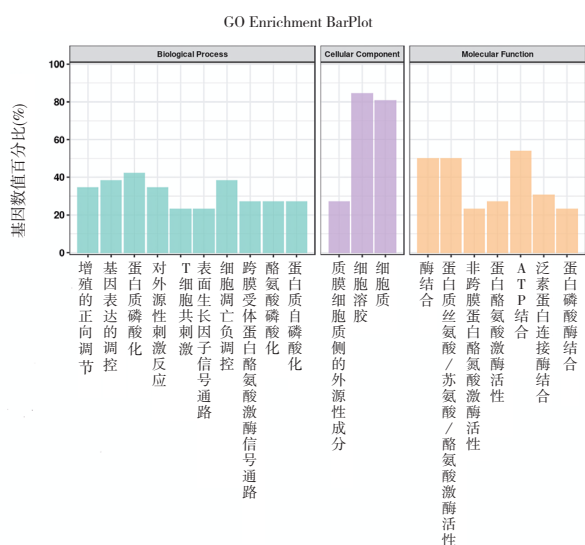


图4 五味消毒饮GO分析富集图

Figure 4. The GO enrichment chart of Wuwei disinfection decoction

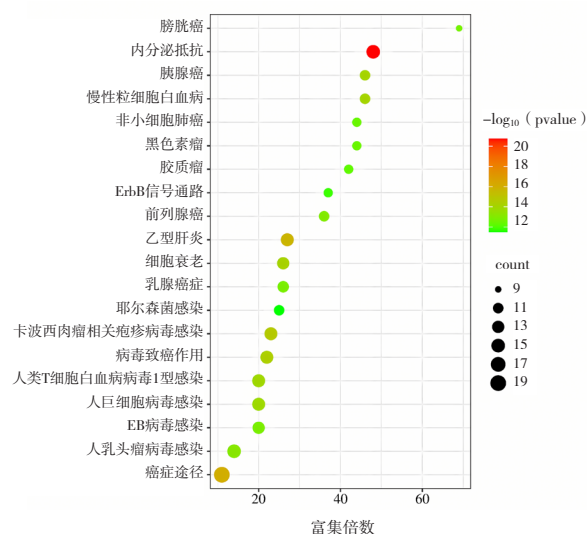


图5 五味消毒饮KEGG通路富集分析

Figure 5. The KEGG pathway enrichment analysis of Wuwei disinfection decoction

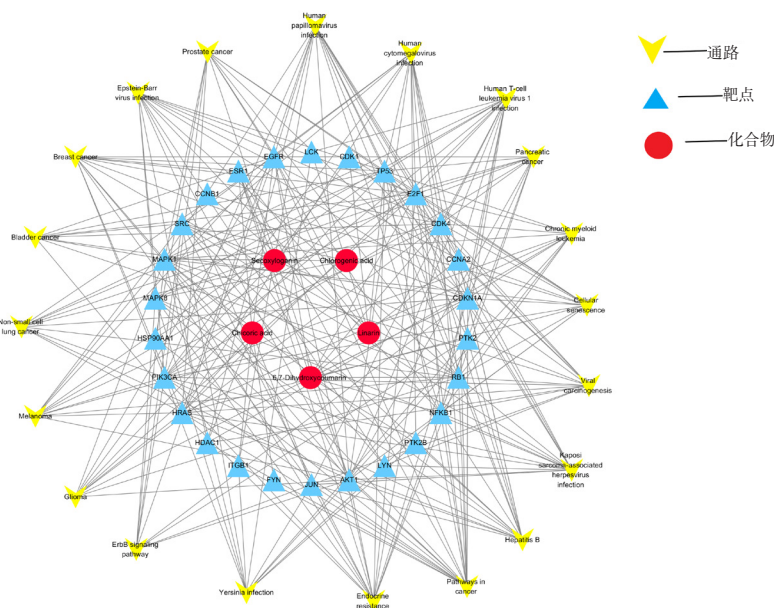


图6 “成分-靶点-通路”网络图

Figure 6. The "component-target-pathway" network diagram of Wuwei disinfection decoction

2.8.6 Q-marker分析及网络药理学分析

五味消毒饮具有抗炎、抑菌、调节免疫等多重药理活性^[20-21]。此外，该方在癌症、肿瘤方面也具有一定的治疗作用，其作用机制可能与诱导癌症细胞凋亡有关^[4,21]。研究发现，主要活性成分绿原酸^[22]及秦皮乙素^[23]可通过阻滞肿瘤细胞生长、增殖、诱导肿瘤细胞凋亡等过程发挥抗肿瘤作用；断氧化马钱子苷经体外实验证实具有广谱抗肿瘤活性^[24]；菊苣酸^[25]在体内和体外实验中均被证实对胃癌细胞具有良好的抑制效果；蒙

花昔^[26]可通过调控 κB 抑制因子激酶 (IKK) / 核因子 κB (NF- κB) 信号通路来抑制人乳腺癌细胞的迁移和侵袭。通过本实验中网络药理学结果分析推测，上述 5 个化学成分可能作用于多个癌症基因靶点发挥抗肿瘤作用。其中包括 TP53，TP53 体细胞突变是人类癌症最常见的突变之一，且 TP53 突变几乎发生在所有类型的癌症中^[27]。SRC 作为最古老的癌症基因之一，与细胞增殖、血管生成和骨代谢等调控途径密切相关，而 SRC 阻断药可抑制调控途径进而抑制肿瘤的形成，其

中酪氨酸蛋白激酶 LYN、LCK、FYN 均属于该基因家族 (SFK) [28]。CCNA2 在结肠癌中组织发现具有高表达性, CCNA2 的下调可通过阻碍细胞周期进程和诱导细胞凋亡来显著抑制结肠癌细胞生长 [29]。CDK1 在肝癌组织中具有高表达性, 且影响患者愈后 [30]。在 GO 富集分析中发现五味消毒饮对蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、蛋白质磷酸化、表皮生长因子受体等多条信号通路途径具有调节意义。对 KEGG 通路富集结果分析可知: 五味消毒饮中这 5 个化学成分主要在肿瘤癌症、内分泌、炎症等通路中起调节作用。对前 20 条通路结果进行分析, ErbB 信号通路失调是使正常细胞获得肿瘤干细胞致瘤性和干性等特性的重要原因 [31]; 通路结果涉及胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌、膀胱癌等多类癌症。

综上所述, 五味消毒饮对肿瘤生长起到干预效果, 其原因可能与下调多个肿瘤靶点、抑制多条肿瘤通路相关; 与临床治疗多种癌症报道较为一致, 符合有效原则, 证明指纹图谱所选择的指标成分具有合理性。网络药理从理论上证明其有效性, 将指纹图谱和网络药理两者联用对五味消毒饮进行 Q-marker 预测分析, 以 Q-marker “五原则” 为核心推测出: 绿原酸、秦皮乙素、断氧化马钱子苷、菊苣酸和蒙花苷可作为五味消毒饮的潜在 Q-marker。

2.8.7 五味消毒饮治疗新型冠状病毒预测分析

在五味消毒饮网络药理学分析中, 发现多个靶点与病毒、炎症相关, 进而对五味消毒饮可用于治疗新型冠状病毒进行预测分析。新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 为新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的病原体, SARS-CoV-2 可作用于绝大部分类型细胞中促炎细胞的应激发育, 其中包括炎性小体形成、氧化应激等主要过程 [32]。五味消毒饮被证实具有良好的抗炎及调节免疫作用 [20], 金银花、野菊花、蒲公英、紫花地丁所含的槲皮素、木犀草素、山奈酚等化合物, 作为多个对于 COVID-19 有治疗效果的中药及复方的核心共有成分 [10,15], 可与新型冠状病毒 3CLpro、ACE2、S 蛋白等关键蛋白结合, 抑制病毒进入细胞及在体内增殖 [33]。网络药理学结果显示, 五味消毒饮的多个核心靶点与炎症密切相关, AKT1 是急性炎症反应发生的必要条件之一, 其可通过

改变血管细胞通透性而影响水肿、白细胞外渗等炎症现象的发生 [34]; Src 家族激酶磷酸化和活化则会引起中性粒细胞炎症 [35]; 新冠结构蛋白 S 蛋白可激活 NF- κ B 通路触发炎症 [36], TP53 不仅可抑制人体组织中的多种炎症且对 NF- κ B 通路有良好的抑制效果 [37]。因此五味消毒饮可能通过作用于这些炎症有关的基因靶点发挥抗炎作用, 从而缓解 COVID-19 的临床症状。通过对 KEGG 富集分析发现 ErbB 信号通路、Th17 细胞分化通路、TNF 信号通路、MAPK 信号通路等多条信号通路可能通过改善炎症、调节免疫、抑制病毒复制来对 COVID-19 起到治疗作用 [38-39]。综上, 基于成分-靶点-通路层面分析推测, 五味消毒饮可能通过抗炎和调节免疫对 COVID-19 产生治疗作用。

3 讨论

中药复方成分复杂, 产地差异较大, 本实验根据不同产地和不同批号之间药材的出膏率, 对五味消毒饮进行合理组方。同时在 HPLC 指纹图谱试验中, 对有机相、水相、色谱柱、溶剂用量、提取方式等多方面进行考察, 以期确定最适宜的色谱条件及供试品制备方法。最终筛选出 13 个共有峰, 并对其中 11 个特征峰利用对照品进行峰指认。经与各单味药阴性指纹图谱对比发现, 色谱峰主要来源于金银花, 证实金银花作为五味消毒饮的君药, 发挥着主要的药效作用。但由于五味消毒饮的 5 个药物均为清热药, 清热药主要含黄酮类、有机酸类、酚类化合物 [40], 导致五味消毒饮中的某些药物化学成分略有重合, 影响分离度。

对中药质量的控制是保证中药有效性和安全性的基石, 对中医药事业的发展至关重要。本文基于 Q-Marker “五原则”, 先采用 HPLC 指纹图谱法对五味消毒饮色谱峰进行峰指认, 体现了化合物的可测性。其次, 五味消毒饮全方均为清热药, 清热解毒法作为中医的常用抗癌疗法之一, 对各类肿瘤疾病均表现出较强的治疗作用 [41]。因此从有效性原则, 利用网络药理学对五味消毒饮中的绿原酸、秦皮乙素、断氧化马钱子苷、菊苣酸和蒙花苷进行靶点预测和通路富集分析; 结果显示这 5 个化合物主要涉及 TP53、SRC、CCNA2、CDK1 等 26 个核心靶点, 通路富集结果主要涉及膀胱癌、非小细胞肺癌、乳腺癌等多类

肿瘤。由于网络药理学结果显示五味消毒饮具有良好的抗炎及抗病毒的药理作用, 进而对五味消毒饮可用于治疗 COVID-19 进行合理预测分析。但关于五味消毒饮治疗 COVID-19 的药理作用, 仅从理论层面进行分析, 仍需通过相关药理学实验进行验证。

综上所述, 本实验基于中药化学和中药药理学, 从可测性、有效性、溯源性多层面将绿原酸、秦皮乙素、断氧化马钱子苷、菊苣酸和蒙花苷 5 个化学成分筛选成为五味消毒饮的潜在 Q-marker, 为五味消毒饮的质量标准建立及后续研究提供参考。

参考文献

- 1 吴谦, 主编. 医宗金鉴(外科心法要诀)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017: 304.
- 2 董萍萍, 张加余, 王红, 等. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 分析五味消毒饮中化学成分[J]. 中成药, 2022, 44(11): 3531-3540. [Dong PP, Zhang JY, Wang H, et al. Analysis on chemical constituents in Wuwei Xiaodu decoction by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(11): 3531-3540.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.11.023.
- 3 袁晓菲, 夏兆芳, 孙庆. 五味消毒饮在外科中应用进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(1): 182-185. [Yuan XF, Xia ZF, Sun Q. Application progress of Wuwei Xiaodu drink in surgery[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 24(1): 182-185.] DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2022.01.041.
- 4 谭文英. 五味消毒饮抑制人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞增殖及促凋亡作用研究[J]. 中医学报, 2018, 33(1): 5-9. [Tan WY. Effect of Wuwei Xiaodu drink on proliferation inhibition and promoting apoptosis of A431[J]. Acta Chinese Medicine, 2018, 33(1): 5-9.] DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2018.01.002.
- 5 苏爱香, 郭亦鹏. 五味消毒饮加减治疗癌性发热 32 例[J]. 陕西中医学院学报, 2013, 36(2): 62-63. [Su AX, Guo YP. 32 cases of cancerous fever were treated with modified Wuwei Xiaodu drink[J]. Journal of Shaanxi College of Traditional Chinese Medicine, 2013, 36(2): 62-63.] DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2013.02.030.
- 6 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457. [Liu CX, Chen SL, Xiao XH, et al. A new concept for quality marker (Q-Marker) of Chinese materia medica: quality control of Chinese medicine[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(9): 1443-1457.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.09.001.
- 7 梁雨彤, 戴临风, 郭瑞怡, 等. 高效液相色谱法在中药成分定量分析中的研究进展[J]. 化学与粘合, 2022, 44(4): 341-344. [Liang YT, Dai LF, Guo RY, et al. Research progress in quantitative analysis of traditional Chinese medicine components by high performance liquid chromatography[J]. Chemistry and Adhesion, 2022, 44(4): 341-344.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-0017.2022.04.017.
- 8 袁甜, 崔琳琳, 王莹, 等. 中药网络药理学最新进展[J]. 中医药学报, 2021, 49(1): 101-106. [Yuan T, Cui LL, Wang Y, et al. Lastset development of TCM network pharmacology[J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2021, 49(1): 101-106.] DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.210023.
- 9 杨力龙, 苏华珍, 卢新丽, 等. 网络药理学在中药及其复方中应用的研究进展[J]. 大众科技, 2021, 23(3): 55-57. [Yang LL, Su HZ, Lu XL, et al. Research progress on application of network pharmacology in traditional Chinese medicine and its compound prescription[J]. Popular Science & Technology, 2021, 23(3): 55-57.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-1151.2021.03.015.
- 10 关秀锋, 王锐, 李晓龙, 等. 金银花的化学成分与药理作用研究新进展[J]. 化学工程师, 2020, 34(4): 59-62. [Guan XF, Wang R, Li XL, et al. New progress in the study of chemical constituents and pharmacological effects of honeysuckle[J]. Chemical Engineer, 2020, 34(4): 59-62.] DOI: 10.16247/j.cnki.23-1171/tq.20200459.
- 11 洪灵杰, 刘完美, 应瀚霆, 等. 金银花提取物绿原酸对链球菌感染的小鼠模型凝血和炎症相关指标的影响[J]. 生物化工, 2022, 8(6): 72-74. [Hong LJ, Liu WM, Ying HT, et al. Effects of chlorogenic acid extracted from honeysuckle on coagulation and inflammation related indexes in streptococcus infected mouse model[J]. Biological Chemical Engineering, 2022, 8(6): 72-74.] DOI: 10.3969/j.issn.2096-0387.2022.06.017.
- 12 宋亚玲, 王红梅, 倪付勇, 等. 金银花中酚酸类成分及其抗炎活性研究[J]. 中草药, 2015, 46(4): 490-495. [Song YL, Wang HM, Ni FY, et al. Study on anti-inflammatory activities of phenolic acids from

- Lonicerae Japonicae Flos*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2015, 46(4): 490–495.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2015.04.006](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2015.04.006).
- 13 孟然, 薛志忠, 鲁雪林, 等. 蒲公英的功效成分与药理作用研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49(9): 36–43. [Meng R, Xue ZZ, Lu XL, et al. Research progress on active components and pharmacological effects of *Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49(9): 36–43.] DOI: [10.15889/j.issn.1002-1302.2021.09.006](https://doi.org/10.15889/j.issn.1002-1302.2021.09.006).
- 14 崔雪, 郑重飞, 李莹, 等. 紫花地丁化学成分和抗病毒作用的研究进展 [J]. 食品与药品, 2020, 22(3): 226–232. [Cui X, Zheng ZF, Li Y, et al. Research progress on chemical constituents and antiviral effects of *Viola yedoensis* Makino[J]. Food and Drug, 2020, 22(3): 226–232.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-979X.2020.02.014](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-979X.2020.02.014).
- 15 曹双, 刘瑞, 张秋月, 等. 野菊花化学成分和药理作用研究进展 [J]. 广东化工, 2023, 50(3): 203–204. [Cao S, Liu R, Zhang QY, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological action of Wild chrysanthemum[J]. Guangdong Chemical Industry, 2023, 50(3): 203–204.] DOI: [10.3969/j.issn.1007-1865.2023.03.064](https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-1865.2023.03.064).
- 16 宋亚玲, 倪付勇, 王雪晶, 等. 动态轴向压缩色谱制备高纯度断氧化马钱子苷的研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(3): 522–526. [Song YL, Ni FY, Wang XJ, et al. Isolation of high-purity secoxyloganin from *Flos Lonicera Japonica* by industrial dynamic axial compression preparative chromatography[J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2016, 18(3): 522–526.] DOI: [10.11842/wst.2016.03.031](https://doi.org/10.11842/wst.2016.03.031).
- 17 钱永帅, 黄林生, 姜锐, 等. 蒙花苷体内外降尿酸作用及对高尿酸血症小鼠尿酸转运蛋白的影响 [J]. 中药药理与临床, 2023, 39(2): 53–58. [Qian YS, Huang LS, Lou R, et al. Linarin reduces uric acid *in vivo* and *in vitro* and its effect on uric acid transporters of mice with hyperuricemia[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2023, 39(2): 53–58.] DOI: [10.13412/j.cnki.zyyl.20221124.004](https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20221124.004).
- 18 刘浩明, 华毛, 张莉, 等. 秦皮乙素调节 Lewis 肺癌小鼠的免疫功能及抑瘤作用研究 [J]. 西北药学杂志, 2022, 37(5): 40–45. [Liu HM, Hua M, Zhang L, et al. Study on the effect of esculetin on regulating immune function and tumor inhibition in mice with Lewis lung cancer[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2022, 37(5): 40–45.] DOI: [10.3969/j.issn.1004-2407.2022.05.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-2407.2022.05.008).
- 19 徐冉, 肖海涛, 王建塔, 等. 天葵化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(7): 1154–1159. [Xu R, Xiao HT, Wang JT, et al. Advance on chemical compositions and pharmacological studies of *Semiaquilegia adoxoides*[J]. Natural Product Research and Development, 2014, 26(7): 1154–1159.] DOI: [10.16333/j.1001-6880.2014.07.036](https://doi.org/10.16333/j.1001-6880.2014.07.036).
- 20 谷静娟, 赵璐, 厉世伟, 等. 五味消毒饮对炎症模型的作用研究 [J]. 中兽医医药杂志, 2014, 33(3): 13–17. [Gu JJ, Zhao L, Li SW, et al. Effect of Chinese herbal preparation Wuwei Xiaoduyin on inflammation model[J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2014, 33(3): 13–17.] DOI: [10.13823/j.cnki.jtcvm.2014.03.003](https://doi.org/10.13823/j.cnki.jtcvm.2014.03.003).
- 21 黄水仙. 细菌感染与鼻咽癌细胞增殖活性的关系及五味消毒饮的干预作用 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2004.
- 22 杨晓丽, 张君利, 王京峰, 等. 绿原酸抗肿瘤作用及机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(19): 229–234. [Yang XL, Zhang ZL, Wang JF, et al. Research progress in anti-tumor and mechanism of chlorogenic acid[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2018, 24(19): 229–234.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20181820](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20181820).
- 23 李朝燕, 丁亚杰, 李佳, 等. 秦皮乙素抗肿瘤作用及机制 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(7): 1620–1623. [Li CY, Ding YJ, Li J, et al. Anti-cancer effects and mechanism of esculetin[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2019, 37(7): 1620–1623.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2019.07.020](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2019.07.020).
- 24 de Oliveira PR, Testa G, Medina RP, et al. Cytotoxic activity of *Guettarda pohliana* Müll. Arg. (Rubiaceae)[J]. Nat Prod Res, 2013, 27(18): 1677–1681. DOI: [10.1080/14786419.2012.761616](https://doi.org/10.1080/14786419.2012.761616).
- 25 Sun X, Zhang X, Zhai H, et al. Chicoric acid (CA) induces autophagy in gastric cancer through promoting endoplasmic reticulum (ER) stress regulated by AMPK[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 118: 109144. DOI: [10.1016/j.biopha.2019.109144](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109144).
- 26 黄器伟, 黄涛, 牛美兰, 等. 蒙花苷通过调控 IKK/NF- κ B 信号通路抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(12):

- 2194–2200. [Huang QW, Huang T, Niu ML, et al. Linarin inhibits migration and invasion abilities of human breast cancer MDA-MB-231 cells through IKK/NF- κ B signaling pathway[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2019, 35(12): 2194–2200.] DOI: [10.3969/j.issn.1000-4718.2019.12.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-4718.2019.12.013).
- 27 Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. Tp53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(1): a001008. DOI: [10.1101/cshperspect.a001008](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001008).
- 28 Aleshin A, Finn RS. Src: a century of science brought to the clinic[J]. Neoplasia, 2010, 12(8): 599–607. DOI: [10.1593/neo.10328](https://doi.org/10.1593/neo.10328).
- 29 Gan YQ, Li YM, Li T, et al. CCNA2 acts as a novel biomarker in regulating the growth and apoptosis of colorectal cancer[J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 5113–5124. DOI: [10.2147/CMAR.S176833](https://doi.org/10.2147/CMAR.S176833).
- 30 杨莹, 穆志杰, 刘有浩. CDK1 基因在肝癌预后和免疫细胞浸润的生物信息学分析 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2023, 44(3): 201–209. [Yang Y, Mu ZJ, Liu YH. Bioinformatics analysis of CDK1 gene in liver cancer prognosis and immune cell infiltration[J]. Journal of Qiqihar Medical University, 2023, 44(3): 201–209.] DOI: [10.3969/j.issn.1002-1256.2023.03.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-1256.2023.03.001).
- 31 Hassan G, Seno M. ERBB signaling pathway in cancer stem cells[J]. Adv Exp Med Biol, 2022, 1393: 65–81. DOI: [10.1007/978-3-031-12974-2_3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-12974-2_3).
- 32 Gusev E, Sarapultsev A, Solomatina L, et al. SARS-Cov-2-specific immune response and the pathogenesis of Covid-19[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1716. DOI: [10.3390/ijms23031716](https://doi.org/10.3390/ijms23031716).
- 33 麻冰洁, 武娴, 张晒, 等. 抗新型冠状病毒肺炎中药的研究进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18(3): 369–374. [Ma BJ, Wu X, Zhang S, et al. Research progress of traditional chinese medicine against COVID-19[J]. Journal of Pathogen Biology, 2023, 18(3): 369–374.] DOI: [10.13350/j.cjpb.230325](https://doi.org/10.13350/j.cjpb.230325).
- 34 Di Lorenzo A, Fernandez-Hernando C, Cirino G, et al. Akt1 is critical for acute inflammation and histamine-mediated vascular leakage[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(34): 14552–14557. DOI: [10.1073/pnas.0904073106](https://doi.org/10.1073/pnas.0904073106).
- 35 Kao TI, Chen PJ, Wang YH, et al. Bletinin ameliorates neutrophilic inflammation and lung injury by inhibiting Src family kinase phosphorylation and activity[J]. Br J Pharmacol, 2021, 178(20): 4069–4084. DOI: [10.1111/bph.15597](https://doi.org/10.1111/bph.15597).
- 36 Khan S, Shafiei MS, Longoria C, et al. SARS-CoV-2 spike protein induces inflammation via TLR2-dependent activation of the NF- κ B pathway[J]. Elife, 2021, 10: e68563. DOI: [10.7554/eLife.68563](https://doi.org/10.7554/eLife.68563).
- 37 Barabutis N, Schally AV, Siejka A. P53, GHRH, inflammation and cancer[J]. EBioMedicine, 2018, 37: 557–562. DOI: [10.1016/j.ebiom.2018.10.034](https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.10.034).
- 38 赵静, 田赛赛, 杨健, 等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制的网络药理学探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 829–835. [Zhao J, Tian SS, Yang J, et al. Investigating mechanism of Qing-Fei-Pai-Du-Tang for treatment of COVID-19 by network pharmacology[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(4): 829–835.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2020.04.001](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2020.04.001).
- 39 赵静, 刘剑锋, 王燕平, 等. 中药复方分期治疗新冠肺炎的网络药理学分析 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(2): 278–288. [Zhao J, Liu JF, Wang YP, et al. A network pharmacological analysis of traditional Chinese medicine formulas in staging treatment of new coronavirus pneumonia[J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2020, 22(2): 278–288.] DOI: [10.11842/wst.20200303006](https://doi.org/10.11842/wst.20200303006).
- 40 李瑞奇, 白明, 苗明三. 清热药的特点及现代研究 [J]. 中医学报, 2013, 28(7): 1003–1005. [Li RQ, Bai M, Miao MS. Modern research and relationship of heat-clearing traditional Chinese medicine[J]. Acta Chinese Medicine, 2013, 28(7): 1003–1005.] DOI: [10.16368/j.issn.1674-8999.2013.07.049](https://doi.org/10.16368/j.issn.1674-8999.2013.07.049).
- 41 王俊壹, 李柳, 余成涛, 等. 清热解毒法在恶性肿瘤治疗中的临床应用 [J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41(2): 496–501. [Wang JY, Li L, Yu CT, et al. Clinical application of the heat-clearing and toxin-removing method in the treatment of malignant tumors[J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2024, 41(2): 496–501.] DOI: [10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2024.02.036](https://doi.org/10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2024.02.036).

收稿日期: 2024 年 01 月 17 日 修回日期: 2024 年 02 月 23 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳