

基于液质联用技术、网络药理学和分子动力学模拟探究淡豆豉抗凝血机制



陈家庚, 牟彦竹, 陈明月, 陈 班, 张迎庆

湖北工业大学生命科学与健康工程学院 (武汉 430068)

【摘要】目的 探究淡豆豉抗凝血作用的潜在有效成分及可能的作用机制。方法 基于超高效液相色谱-四极杆-静电轨道阱-高分辨质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic orbitrap-high-resolution mass spectrometry, UPLC-Q-Exactive-Orbitrap MS) 技术分析淡豆豉水煎液的化学成分, 运用网络药理学方法预测分析其关键有效成分、核心作用靶点及信号通路, 并通过分子对接及分子动力学模拟技术对关键有效成分与核心靶点间的结合进行验证。**结果** 筛选出淡豆豉抗凝血关键有效成分, 如腺嘌呤、水杨酸和山奈酚等; 确定了 ALB、IL6、TNF、INS、AKT1、IL1B、IL10、AGT、CRP 和 ACE 等关键靶点。其涉及的关键通路有糖尿病并发症晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (advanced glycation end product-advanced glycation end product receptor, AGE-RAGE) 信号通路、脂质和动脉粥样硬化等。分子对接结果显示, 其关键成分与核心靶点间结合良好。分子动力学模拟进一步揭示了复合物间结合的稳定性。**结论** 淡豆豉可能通过多成分、多靶点和多通路来发挥抗凝血作用, 为其深入研究提供了参考。

【关键词】淡豆豉; 抗凝血; 液质联用; 网络药理学; 分子对接; 分子动力学模拟

【中图分类号】R 932 **【文献标识码】**A

Exploring the anticoagulant mechanism of Sojæ Semen Praeparatum based on liquid chromatography/mass spectrometry technology, network pharmacology and molecular dynamics simulation

CHEN Jiageng, MOU Yanzhu, CHEN Mingyue, CHEN Ban, ZHANG Yingqing

School of Life and Health Science, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China

Corresponding author: ZHANG Yingqing, Email: zhangyq@hbut.edu.cn

【Abstract】Objective To explore the potential effective components and possible action mechanisms of anticoagulant effect of Sojæ Semen Praeparatum. Methods The chemical components of the decoction of Sojæ Semen Praeparatum were analyzed by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic orbitrap-high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive-Orbitrap MS) technology. Network pharmacology was used to predict and analyze the key effective components, core targets and signal pathways. Molecular docking and molecular dynamics simulation techniques were applied to verify the binding between key effective components and core targets. Results Key effective components of Sojæ Semen

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202505063

基金项目: 湖北省大学生创新创业训练计划项目 (S202210500081)

通信作者: 张迎庆, 博士, 教授, 硕士研究生导师, Email: zhangyq@hbut.edu.cn

Praeparatum for anticoagulation were obtained, such as adenine, salicylic acid and kaempferol, etc. Core targets were determined, such as ALB, IL6, TNF, INS, AKT1, IL1B, IL10, AGT, CRP and ACE, etc., involving key pathways such as the advanced glycation end product-advanced glycation end product receptor (AGE-RAGE) signaling pathway in diabetic complications, lipid and atherosclerosis, etc. The results of molecular docking showed good binding between key effective components and core targets. Molecular dynamics simulations further revealed the stability of the binding between the complexes. **Conclusion** Sojæ Semen Praeparatum may exert anticoagulant effects through multiple components, multiple targets and multiple pathways, providing a reference for further in-depth research.

【Keywords】 Sojæ Semen Praeparatum; Anticoagulation; Liquid chromatography/mass spectrometry; Network pharmacology; Molecular docking; Molecular dynamics simulation

淡豆豉作为传统中药材，具有解肌发表和宣郁除烦的功效，主要用于治疗外感表证、寒热头痛和心烦胸闷。研究发现，淡豆豉具有降糖、降脂、保护心血管、抗肿瘤、防治骨质疏松、保护神经和改善脱发等作用^[1-4]。此外，淡豆豉在抗凝血方面也具有一定作用。相关研究显示，淡豆豉提取物对早期抗动脉粥样硬化大鼠的血管损伤有明显保护作用，其作用机制可能是通过下调 Caspase-3 的蛋白表达调节血管内皮细胞凋亡与增殖的平衡，或通过调节突变型 p53 和 Fas 蛋白的表达维持血管平滑肌细胞凋亡与增殖的平衡^[5]。由于许多抗凝血药物易出现出血并发症及其他不良反应，因此，从天然产物中开发具有抗凝血作用的活性物质，可提供一种安全有效的血栓形成干预方式，已成为当前心脑血管疾病防治的研究热点之一。

超高液相色谱-四极杆-静电场轨道阱-高分辨质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-electrostatic orbitrap-high-resolution mass spectrometry, UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS) 技术是快速分离和鉴定天然药物中活性成分的重要手段，具有高分辨率、高灵敏度和精准测定质荷比的优势，能高效解析复杂样品^[6]。网络药理学作为多学科交叉的一种研究方法，由英国科学家 Hopkins 于 2007 年首次阐释^[7]。其通过系统层面的分析为药物机制研究、疗效评价及研发设计提供新思路。中草药具有多组分和多靶点的特点，其复杂成分与系统作用机制的研究需要创新方法^[8]。将网络药理学与中药研究相结合，构建“成分-靶点-通路”模型，有助于系统阐释其药效物质基础和作用机制^[9]。此外，分子模拟技术通过原子层面的三维结构可

视化，为研究分子理化性质及相互作用提供了重要工具。其具有多样的分子模型展示方式（如范德华表面、Licorice 等），可以生成高清精确的分子图像，显著提升了研究的直观性和科学性^[10]。

既往研究显示，淡豆豉水煎液对体外凝血酶活性具有抑制作用^[11]。本研究采用 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术对淡豆豉进行全成分分析，进而构建针对其整体及类群化学成分的快速筛选与鉴定方法^[12]；运用网络药理学方法深入剖析淡豆豉抗凝血关键成分与靶点间的相互作用；借助分子模拟技术^[13]验证主要活性成分与靶点的结合能力并筛选核心靶点，以期阐明淡豆豉抗凝血作用的可能机制，为淡豆豉的后续深入开发与广泛应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 实验材料

淡豆豉药材（批号：230301）购自安徽惠丰国药有限公司，冰乙酸（色谱纯，99.9%，批号：B2324046）购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司，乙腈（色谱纯，99.9%，批号：F2407A209）购自赛默飞世尔科技（中国）有限公司。

1.2 实验仪器

TGL-16C 高速离心机（上海安亭科学仪器厂），DS-5510 超声波清洗机（武汉鼎盛恒泰有限公司），SCIENTZ-18N 冷冻干燥机（宁波新芝生物科技有限公司），Thermo Scientific UltiMate 3000 超高效液相色谱仪（美国赛默飞世尔科技公司），依利特 Supersil AQ-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm），Thermo Scientific Q Exactive-Orbitrap 质谱仪（美国赛默飞世尔科技公司）。

1.3 方法

1.3.1 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 鉴定淡豆豉的活性成分

淡豆豉水煎液的制备：称取 100 g 淡豆豉药材，加入 500 mL 水煎煮 1 h 后过滤；在滤渣中再加入 500 mL 水，再次煎煮 1 h，过滤后将两次滤液合并，并进行加热浓缩，经真空冷冻干燥，得冻干粉约 15 g。供试品溶液的制备：精密称取 100 mg 淡豆豉冻干粉，加 1.2 mL 超纯水浸没样品，涡旋 2 min，称定重量，超声溶解 30 min，放冷后补足减失重量，8 000 rpm 离心 10 min，取上清液备用。临用时取 1 mL 滤液加超纯水稀释至 15 mL，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境保存备用。

UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 分析的色谱条件：使用依利特 Supersil AQ-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm \times 250 mm，5 μm ）对供试品溶液进行分析。柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ ，进样体积为 5 μL ，流速为 0.8 mL/min，流动相为 0.1% 冰乙酸（A）-乙腈（B），梯度洗脱程序如下：0~10 min，99%~97%A；10~15 min，97%~95%A；15~25 min，95%~85%A；25~40 min，85%~72%A；40~50 min，72%A；50~52 min，72%~99%A；52~65 min，99%A。质谱条件：采用电喷雾离子源（ESI），模式为正、负离子模式，喷雾电压为 ± 3.5 kV，离子传输管温度为 400 $^{\circ}\text{C}$ ，蒸发温度为 500 $^{\circ}\text{C}$ ，鞘气压力为 75 arb，辅助气压力为 20 arb，运行模式 Full MS-ddMS²，对质荷比（m/z）范围为 50~500 的离子采集正、负一级谱，同时以碰撞能 HCD30 对 top5 的母离子采集二级谱。

淡豆豉水煎液中化合物的鉴别：采用 Xcalibur 4.1 软件对所得质谱数据中目标化合物碎片离子信息进行分析，根据其二级碎片离子信息推测化合物的裂解途径，并结合文献信息对目标化合物进行定性分析。

1.3.2 网络药理学研究

1.3.2.1 淡豆豉中活性成分相关靶点的获取

将基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术分析得到的淡豆豉水煎液的化学成分输入中药系统药理学数据库与分析平台（Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TC MSP）（<https://www.tcmsp-e.com/>），

以口服生物利用度（oral bioavailability, OB） $\geq 30\%$ 和类药性（drug-likeness, DL） ≥ 0.18 为筛选条件，得到具有 PID 号的化学成分。将该成分导入中药分子机制的生物信息学分析工具 BATMAN-TCM 数据库（<https://ngdc.cncb.ac.cn/databasecommons/database/id/9483>），提取 $P < 0.05$ 且评分大于 20 的成分靶点。再导入 PubChem 数据库（<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>）得到其二级结构，并将其输入 Swiss Target Prediction 数据库（<http://www.swisstargetprediction.ch>），设置物种为人（Homo sapiens），获取成分对应的靶点信息。最终合并去重后得到淡豆豉有效成分的靶点信息。

1.3.2.2 抗凝血潜在靶点的筛选

以“Anticoagulation”为关键词，分别在在线人类孟德尔遗传（Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM）数据库（<https://www.omim.org/>）、Drugbank 数据库（<https://go.drugbank.com/>）和 GeneCards 数据库（<https://www.genecards.org/>）中检索相关靶点信息。汇总所有相关靶点，对靶点进行去重，并按 score 值进行筛选，保留 score 值大于 1 的靶点，将这些靶点作为抗凝血潜在靶点。

1.3.2.3 药物与抗凝血共同作用靶点的筛选

将分析得到的淡豆豉活性成分靶点与抗凝血靶点信息导入在线 Venny 平台（<https://bioinfoq.cnbc.csic.es/tools/venny/>），生成交集靶点 Venn 图，得到交集靶点信息。

1.3.2.4 活性成分-靶点网络图的构建

将交集靶点导入 Cytoscape 3.9.1 软件，并构建活性成分-靶点网络图，按照度值（Degree）对交集靶点进行排序，得到有效成分-靶点网络。

1.3.2.5 蛋白质互作网络的构建

将淡豆豉活性成分和抗凝血交集靶点导入 STRING 数据库（<https://cn.string-db.org>）进行在线分析，设置物种为人类（Homo sapien），其他参数为默认值，构建蛋白质互作（protein-protein interactions, PPI）网络，并隐藏未连线的节点。下载 TSV 格式文件，并将其导入 Cytoscape 3.9.1 软件，对数据进行分析 and 调整。将度值（Degree）、接近中心性值（Closeness）和介数中心性值（Betweenness）作为筛选指标，得到 PPI 网络图。综合 Degree 值、Closeness 值和 Betweenness 值对关键靶点进行筛选，选择前 10 个靶点为淡豆豉

抗凝血的核心靶点。

1.3.2.6 基因本体论功能分析和京都基因与基因组百科全书通路富集分析

利用 R 4.2.3 软件对获得的交集靶点进行分析, 将交集靶点的基因名称转化为 entrez-gene-ID。对交集靶点进行基因本体论 (Gene Ontology, GO) 富集分析, 探讨药物作用的生物学过程, 描述基因靶点的功能, 包括生物过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组分 (cellular component, CC)。为将假阳性率控制在较低水平, 确保所得到的 GO 通路结果是真正与基因靶点功能相关, 而非偶然因素导致的, 筛选 $P < 0.05$ 的 GO 通路分析条目, 对这些条目进行基因数排序, 并结合实际分析筛选确定最终所需条目。同样对上述基因进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析。为更严格地控制错误发现率, 以保证所识别出的富集通路具有较高的可靠性和生物学意义, 筛选 $P < 0.01$ 的 KEGG 通路分析条目, 并对条目进行二级分类, 结合实际筛选确定最终所需条目。富集结果均通过在线可视化平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化。

1.3.2.7 成分-靶点-通路网络的构建

将关键核心靶点、关键活性成分和富集较多的关键信号通路进行数据整合, 并导入 Cytoscape 3.9.1 软件进行可视化处理, 从而构建有效成分-靶点-通路网络。

1.3.3 分子对接

利用 PubChem 数据库下载成分 2D 结构, 经 Chem3D 软件转化为 3D 结构, 进行能量最小化后保存为 mol2 格式, 并通过 AutodockTools 1.5.6 软件生成 pdbqt 格式。从 Protein Data Bank 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载靶蛋白 PDB 格式, 应用 Pymol 软件对其进行去水和去残基处理, 最终转换成 pdbqt 格式。采用 Autodock Vina 1.2.5 软件将成分与靶点进行分子对接。利用 Pymol 软件可视化处理, 得到分子对接结果。

1.3.4 分子动力学模拟

为评价化合物-靶蛋白复合物的动力学特性和稳定性, 进行分子动力学模拟分析。采用 Gromacs 2020.6 软件包进行动力学模拟, 选择 Amber99SB 力场生成蛋白质拓扑学参数。通

过 Sobotop 1.0 软件获取配体的力场参数, 将配体和蛋白质文件合并为复合物文件, 并执行盒子设置、添加溶剂和离子化等步骤。在 300 K 目标温度和 1 atm 压力下, 进行 200 ns 的动力学模拟且每 2 ps 保存一次轨迹。模拟结束后, 对存储的轨迹数据进行均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD)、均方根波动 (root mean square fluctuation, RMSF)、溶剂可及表面积 (solvent accessible surface area, SASA)、氢键数和回转半径 (radius of gyration, Rg) 分析。最后, 使用 gmx-MMPBSA 程序对蛋白质-配体系统最后 50 帧的 MD 轨迹进行结合自由能的计算^[14]。

2 结果

2.1 淡豆豉的活性成分UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS分析结果

图 1 为淡豆豉水煎液总离子流图, 图 1-A 为正离子模式, 图 1-B 为负离子模式。结果表明, 大部分化合物在正负离子模式下响应较好。结合离子峰数据与文献对比母离子和子离子的质荷比及其他信息, 计算误差值, 最终鉴定出 40 个化合物成分。其中 15 个成分属于有机酸及酚酸类、6 个成分属于黄酮类、3 个成分属于氨基酸类、11 个成分属于核苷类、5 个成分属于其他类, 详见表 1。

2.2 网络药理学分析

2.2.1 靶点筛选分析

经筛选得到活性成分共 28 个, 获得活性成

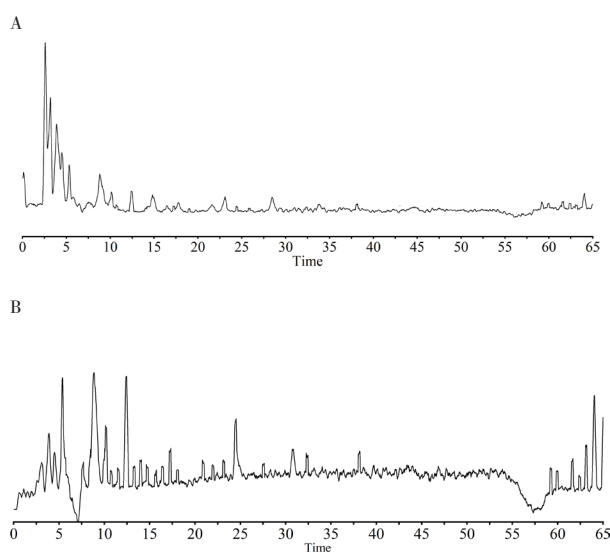


图1 总离子流图

Figure 1. Total ion chromatogram

注: A. 正离子模式; B. 负离子模式。

表 1 淡豆豉化学成分鉴定结果
Table 1. Identification results of chemical composition of Sojae Semen Praeparatum

编号	保留时间 (min)	化学式	电离模式	准分子离子峰 (m/z)		偏差 (10^{-6})	二级碎片离子 MS^E (实验值)	化合物鉴定	结构类型
				理论值	实测值				
1	2.29	$C_{16}H_{22}O_4$	[M+H] ⁺	279.1591	279.1582	-3.2	149.023 2, 216.122 7	邻苯二甲酸二丁酯	其他类
2	3.12	$C_4H_9NO_2$	[M+H] ⁺	104.0706	104.0715	8.6	86.971 0, 87.044 9, 60.081 4, 58.065 8	γ -氨基丁酸	氨基酸类
3	3.12	$C_5H_4N_4O$	[M+H] ⁺	137.0457	137.0456	-0.7	120.044 2, 94.065 4	次黄嘌呤	核苷类
4	3.34	$C_7H_6O_2$	[M+H] ⁺	123.0440	123.0434	-4.9	79.018 3	苯甲酸	有机酸、酚酸类
5	3.82	$C_9H_{10}O_4$	[M-H] ⁻	181.0506	181.0509	1.7	181.071 0, 163.060 1, 119.033 8	原儿茶酸乙酯	有机酸、酚酸类
6	3.90	$C_5H_{11}NO_2$	[M+H] ⁺	118.0861	118.0863	1.3	118.066 3	甜菜碱	其他
7	3.95	$C_9H_8O_2$	[M+H] ⁺	147.0452	147.0446	-4.1	77.964 2, 129.018 2	肉桂酸	有机酸、酚酸类
8	4.65	$C_4H_5N_3O$	[M+H] ⁺	112.0505	112.0505	0.0	95.024 34, 112.050 7	胞嘧啶	核苷类
9	4.75	$C_9H_{13}N_3O_5$	[M+H] ⁺	244.0927	244.0921	-2.5	149.960 71, 135.116 8, 112.050 69, 95.024 6	胞苷	核苷类
10	5.25	$C_9H_{14}N_3O_8P$	[M+H] ⁺	324.0591	324.0582	-2.8	149.023 5, 162.051 5, 112.050 6	胞苷-5'-单磷酸	核苷类
11	5.27	$C_5H_5N_5$	[M+H] ⁺	136.0617	136.0615	-1.5	119.035 3, 94.040 2	腺嘌呤	核苷类
12	5.37	$C_4H_6O_5$	[M-H] ⁻	133.0203	133.0130	-9.0	119.033 7, 115.002 4, 89.023 1, 71.012 5	D-(-)-苹果酸	有机酸、酚酸类
13	6.44	$C_8H_{13}NO_2$	[M+H] ⁺	132.1019	132.1016	-2.3	86.096 9	异亮氨酸	氨基酸类
14	6.64	$C_9H_{11}NO_3$	[M+H] ⁺	182.0825	182.0808	-9.3	165.054 4, 147.043 8, 136.075 5, 123.044 1, 91.054 6	酪氨酸	氨基酸类
15	7.79	$C_3H_4O_3$	[M-H] ⁻	87.0088	87.0084	-4.6	87.007 5	丙酮酸	有机酸、酚酸类
16	8.80	$C_8H_8O_7$	[M-H] ⁻	191.0197	191.0188	-4.7	173.007 9, 129.018 2, 111.005 4	柠檬酸	有机酸、酚酸类
17	10.01	$C_9H_{12}N_2O_6$	[M-H] ⁻	243.0622	243.0618	-1.6	152.034 4, 127.050 2, 110.023 5	尿嘧啶核苷	核苷类
18	15.37	$C_7H_6O_5$	[M-H] ⁻	169.0142	169.0132	-5.9	125.023 3, 108.034 1	没食子酸	有机酸、酚酸类
19	16.40	$C_{10}H_{13}N_5O_5$	[M+H] ⁺	284.0989	284.0979	-3.5	152.056 5, 135.029 9, 110.035 2	鸟苷	核苷类
20	16.43	$C_3H_5N_5O$	[M+H] ⁺	152.0566	152.0554	-7.9	135.030 1, 110.035 2, 55.01	鸟嘌呤	核苷类
21	17.71	$C_{10}H_{12}N_4O_5$	[M+H] ⁺	269.0822	269.0829	2.6	136.061 6, 104.992 5	肌苷	核苷类
22	21.81	$C_{10}H_{12}N_5O_7P$	[M-H] ⁻	344.0401	344.0397	-1.2	150.041 1	鸟苷3',5'-环单磷酸	核苷类
23	28.00	$C_3H_6O_3$	[M-H] ⁻	137.0244	137.0233	-8.0	93.033 3	4-羟基苯甲酸	有机酸、酚酸类
24	28.43	$C_{13}H_{16}O_{10}$	[M-H] ⁻	331.0671	331.0671	0.0	168.005 7, 125.023 3	6-O-没食子酰- β -D-葡萄糖	其他类
25	28.56	$C_7H_6O_3$	[M-H] ⁻	137.0244	137.0243	-7.3	137.023 4, 93.033 3	水杨酸	有机酸、酚酸类
26	28.83	$C_{21}H_{22}O_{10}$	[M+H] ⁺	435.1286	435.1272	-3.2	147.044 0	柚皮素-7-O-葡萄糖苷	黄酮类
27	28.85	$C_7H_6O_3$	[M-H] ⁻	137.0244	137.0233	-8.0	93.033 3	原儿茶醛	有机酸、酚酸类
28	29.52	$C_{13}H_{14}O_6$	[M+H] ⁺	291.0863	291.0853	-3.4	111.950 0, 249.081 0, 273.093 1, 139.038 8, 123.044 1, 147.043 9	儿茶素	黄酮类
29	31.57	$C_9H_{10}O_5$	[M-H] ⁻	197.0455	197.0448	-3.6	182.021 3, 166.782 6, 162.838 2, 160.701 3, 153.050 0, 138.031 2	丁香酸	有机酸、酚酸类

续表1

编号	保留时间 (min)	化学式	电离模式	准分子离子峰 (m/z)		偏差 (10 ⁻⁶)	二级碎片离子MS ^E (实验值)	化合物鉴定	结构类型
				理论值	实测值				
30	32.47	C ₃ H ₆ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	127.5502	127.5588	6.7	109.0258	胸腺嘧啶	核苷类
31	35.26	C ₈ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	179.0350	179.0358	4.5	163.0399, 135.0448	咖啡酸	有机酸、酚酸类
32	35.61	C ₉ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	163.0400	163.0393	-4.3	119.0491, 93.0333	对香豆酸	有机酸、酚酸类
33	35.77	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	[M+H] ⁺	417.1180	417.1164	-3.8	255.0647, 237.8257, 199.0749, 137.0229	大豆苷	黄酮类
34	38.59	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.1129	433.1115	-1.4	271.0596, 243.0650	芹菜素-7-O-葡萄糖苷	黄酮类
35	43.06	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M+H] ⁺	433.1121	433.1115	-1.4	271.0596, 243.0650, 215.0695, 153.0180	染料木苷	黄酮类
36	43.92	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	177.0557	177.0549	-4.5	133.0648, 119.0337	2-甲基肉桂酸	有机酸、酚酸类
37	45.26	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	269.0455	269.0453	-0.7	225.0549, 181.0710, 133.0284, 89.0231	染料木素	黄酮类
38	45.90	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	255.0646	255.0643	-1.2	255.0646, 227.0699, 199.0751, 137.0232, 91.0545	大豆苷元	黄酮类
39	50.64	C ₉ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	147.0438	147.0438	0.0	103.0544	香豆素	其他类
40	51.13	C ₁₃ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.0404	285.0401	-1.1	257.0451, 229.0498, 229.0498, 107.0256, 85.0605	山奈酚	黄酮类

分靶点并去除重复值，得到 1 326 个活性成分靶点。在进行合并和去重后，得到 1 598 个抗凝血靶点。将淡豆豉活性成分靶点和抗凝血靶点导入 Venny 网站，得到交集靶点共 328 个，并由此绘制得到交集靶点 Venn 图（图 2）。

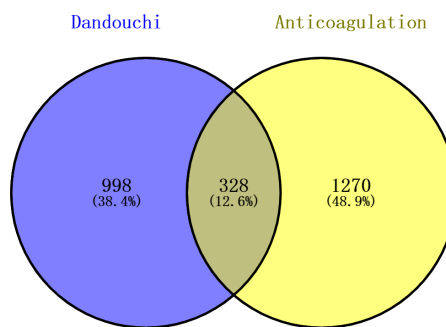


图2 淡豆豉活性成分与抗凝血作用的交集靶点
Figure 2. Intersection targets of active ingredients of Sojae Semen Praeparatum and its anticoagulant effects

2.2.2 活性成分-靶点网络的建立

将相关靶点信息导入 Cytoscape 3.9.1 软件，并绘制淡豆豉抗凝血的“活性成分-靶点网络图”（图 3）。黄色 V 型为中药活性成分，蓝色椭圆圈为交集靶点，灰色背景线表示活性成分和交集靶点之间的相互连线。对活性成分的 Degree 值进行排序，得到排名前 9 的活性成分，详见表 2。

2.2.3 蛋白质互作网络构建

如图 4 所示，PPI 网络共包括 328 个节点和 6 982 条边。将这些关键靶点信息进行整理，筛选 Closeness 值和 Betweenness 值均高于平均值的靶点。综合考虑 Degree 值、Closeness 值和 Betweenness 值，得到排名前 10 的核心靶点，详见表 3。

2.2.4 基因本体论功能分析和京都基因与基因组百科全书通路富集分析结果

按 Count 值对 GO 通路富集分析结果进行排序，如图 5 所示，BP 显著富集在炎症反应、细胞凋亡过程的负调控和细胞增殖的正调控等；CC 显著富集在膜、质膜整体组件和膜筏等；MF 主要涉及酶结合和血红素结合等。按 -log₁₀(P) 值降序排序得到前 20 条 KEGG 富集结果二级汇总图，并根据 KEGG 富集分析结果绘制气泡图，其中气泡颜色按照 -log₁₀(P) 值来变化，气泡大小按照基因数来变化，结果见图 6。KEGG 通路主要分为 5 大类，包括①细胞过程：细胞凋亡、细胞衰老等；②环境

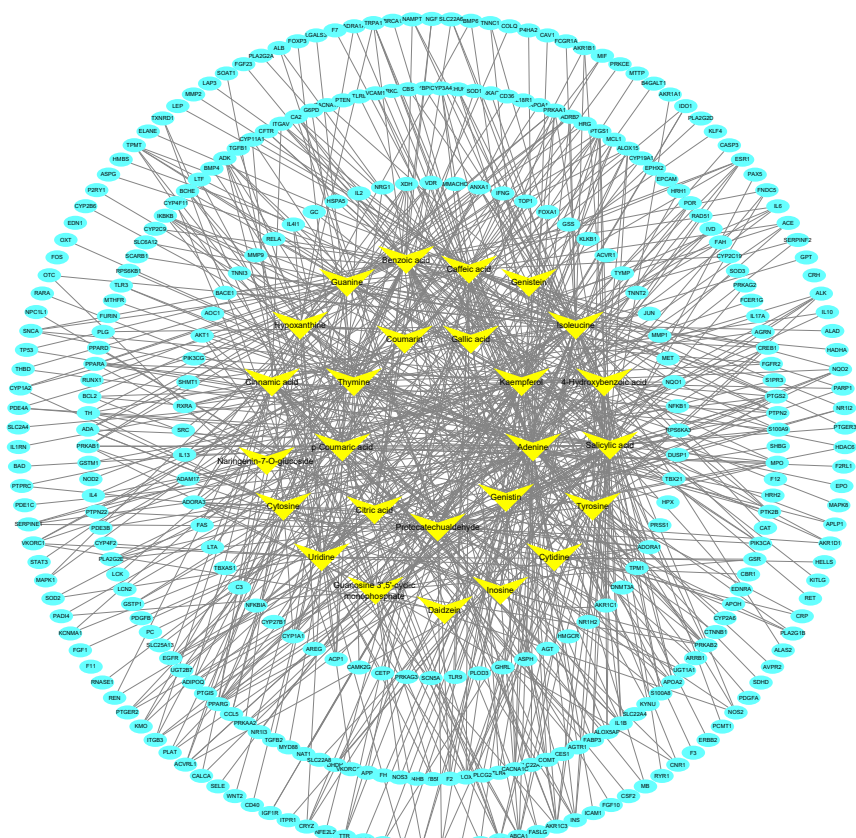


图3 活性成分-靶点网络图

Figure 3. Network diagram of active ingredients-targets

表2 关键活性成分排名

Table 2. Ranking of key active ingredients

编号	英文名	中文名	介数中心性值 (Betweenness)	接近中心性值 (Closeness)	度值 (Degree)
1	Adenine	腺嘌呤	0.243 016 198	0.392 941 176	71
2	Salicylic acid	水杨酸	0.193 966 411	0.392 941 176	68
3	Kaempferol	山奈酚	0.147 729 831	0.377 828 054	54
4	Isoleucine	异亮氨酸	0.201 986 574	0.373 601 79	52
5	Caffeic acid	咖啡酸	0.146 202 024	0.376 975 169	49
6	Citric acid	柠檬酸	0.066 450 948	0.350 104 822	42
7	Thymine	胸腺嘧啶	0.137 207 175	0.360 691 145	39
8	Protocatechualdehyde	原儿茶醛	0.044 975 431	0.359 139 785	37
9	p-Coumaric acid	对香豆酸	0.088 114 309	0.345 755 694	31

信息处理: cAMP 信号通路、化学致癌-受体激活、MAPK 信号通路、NF-κB 信号通路和 PI3K-Akt 信号通路等; ③人类疾病: 糖尿病并发症晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (advanced glycation end product-advanced glycation end product receptor, AGE-RAGE) 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化、人类 T 细胞白血病病毒 1 型感染、脂质与动脉粥样硬化、阿尔茨海默病等; ④新陈代谢: 精氨酸和脯氨酸代谢, 细胞色素 P450 对外源性物质的代谢等; ⑤有机系统: IL-17 信号通路、

补体和凝血级联通路等。

2.2.5 成分-靶点-通路图的构建

为探究淡豆豉抗凝血的潜在作用机制, 将富集分析中前 20 条关键信号通路、前 9 个关键活性成分及其对应关键靶点信息进行整合, 构建“成分-靶点-通路”网络, 见图 7。由图可知, 糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路、脂质和动脉粥样硬化通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化通路、补体和凝血级联通路、新型冠状病毒通路等为主要信号通路。

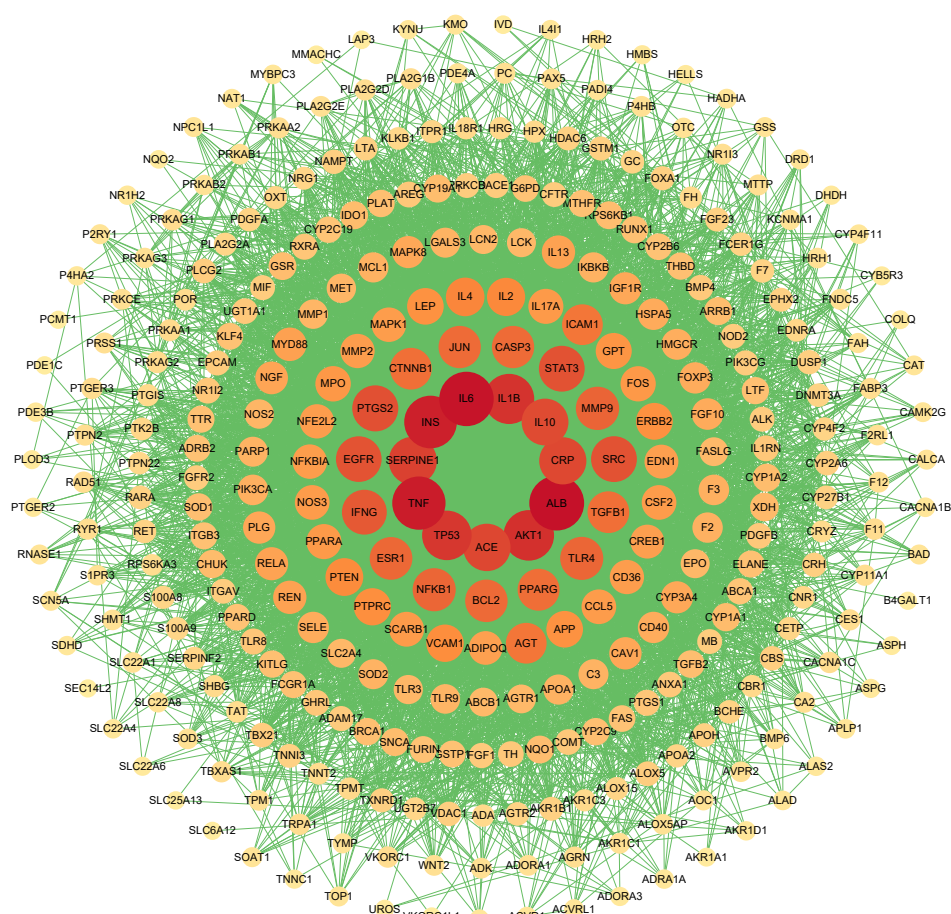


图4 蛋白质互作网络图

Figure 4. Diagram of protein-protein interaction network

注：图中椭圆圈为交集靶点，按照Degree值由大到小，关键靶点的颜色由红到黄，绿色背景线为各交集靶点之间的相互作用连线。

表3 关键靶点拓扑分析结果

Table 3. Topological analysis results of key targets

编号	靶点名	中文名	度值 (Degree)	介数中心性值 (Betweenness)	接近中心性值 (Closeness)
1	ALB	白蛋白	188	0.060 697 896	0.699 570 815
2	IL6	白细胞介素-6	186	0.039 787 861	0.695 095 949
3	TNF	肿瘤坏死因子	180	0.034 890 517	0.684 873 95
4	INS	胰岛素	177	0.045 294 275	0.683 438 155
5	AKT1	丝氨酸/苏氨酸激酶1	166	0.028 582 015	0.669 404 517
6	IL1B	白细胞介素-1β	164	0.021 151 271	0.661 257 606
7	IL10	白细胞介素-10	137	0.009 309 346	0.623 326 96
8	AGT	血管紧张素原	116	0.017 305 546	0.597 069 597
9	CRP	C-反应蛋白	107	0.008 454 515	0.588 447 653
10	ACE	血管紧张素转化酶	93	0.007 011 765	0.571 929 825

2.3 分子对接结果

将预测得到的排名前9的潜在活性成分与排名前5的核心靶点ACE、CRP、IL6、TNF、ALB进行半柔性分子对接。如表4所示，各关键成分与靶点有较好的结合活性。其中，柠檬酸、原儿茶醛、山奈酚和咖啡酸与ACE、CRP、IL6、TNF、ALB这5个靶点的结合能均较低，腺嘌呤、

对香豆酸、水杨酸和胸腺嘧啶与ACE、CRP、TNF、ALB这4个靶点的结合能较低，这些结合自由能均小于-5.0 kcal/mol。从分子对接结果可以看出，单一活性成分可以与多个靶点形成较好的结合，而同一个靶点也可以与多个活性成分结合，体现了多组分-多靶点的协同作用机制。

图8展示了结合能较低的几组蛋白质-配体

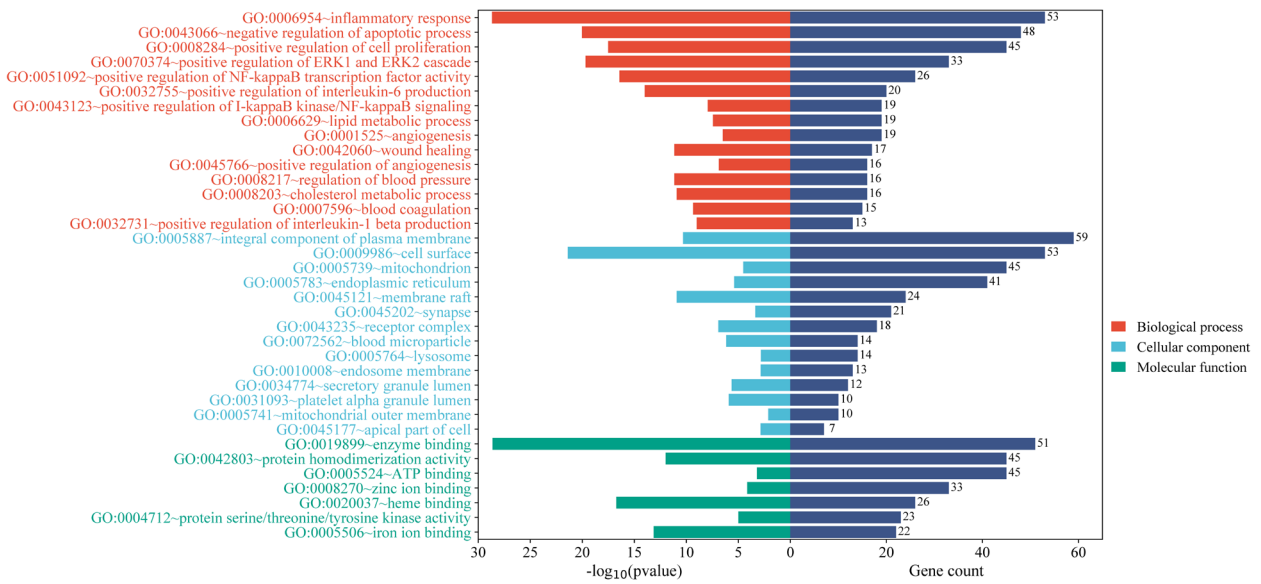


图5 基因本体论功能富集分析图
Figure 5. Diagram of Gene Ontology enrichment analysis

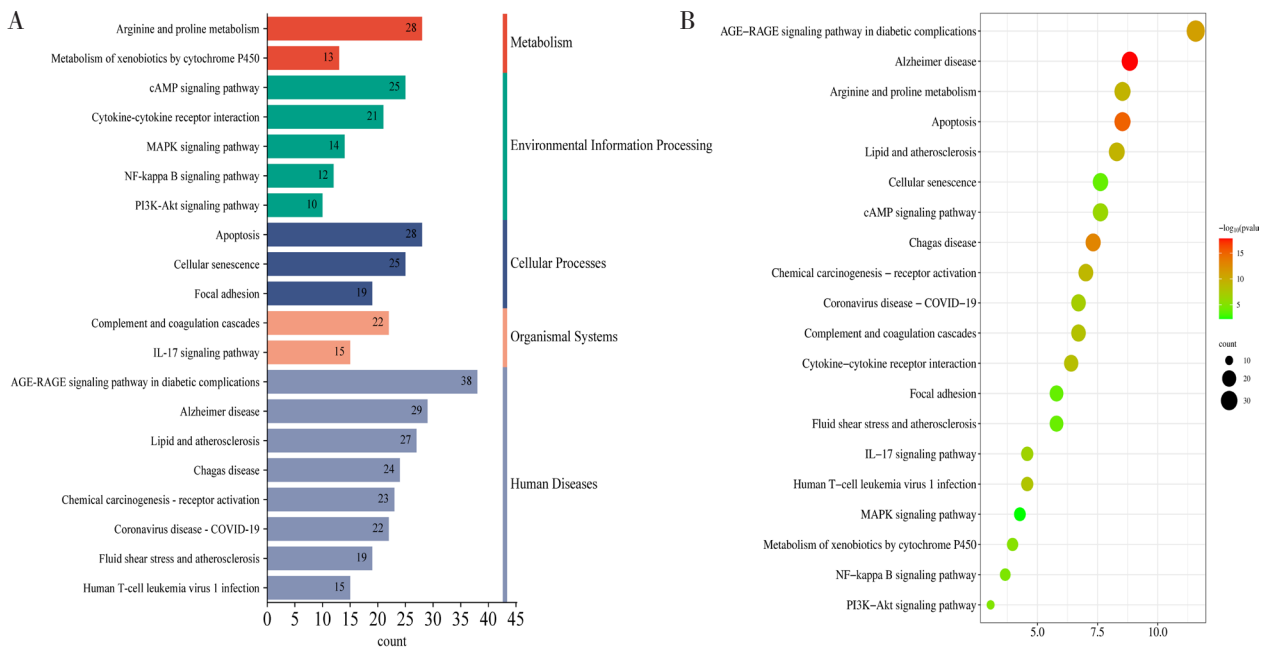


图6 京都基因与基因组百科全书通路富集分析

Figure 6. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis

注：A. 京都基因与基因组百科全书通路富集分析二级图；B. 京都基因与基因组百科全书通路富集分析气泡图，气泡越大表示富集数量越多，气泡颜色越红代表P值越小。

复合物分子对接可视化结果。蛋白质腔提供了疏水环境以及与配体结合的氢键位点，有助于复合物系统的稳定性。具体而言，如图 8-E 所示，在对香豆酸-ACE 对接中，ACE 是一种锌金属肽酶，对香豆酸的羧基 (-COOH) 与 ACE 活性中心的 Zn²⁺ 形成配位键，对香豆酸中羟基 (-OH) 与 VAL-328、CYS-330 形成氢键相互作用，从

而增强结合稳定性。对香豆酸中苯环部分嵌入由 TYR-122、LEU-139 和 HIS-331 等疏水残基组成的口袋中，通过疏水作用巩固结合，此外，对香豆酸与 LYS321 还存在盐桥作用。综上，对香豆酸以其特定的形状和功能团与 ACE 的活性位点紧密结合。这种结合模式可能影响 ACE 的催化活性，从而产生潜在的抑制效果。

2.4 分子动力学模拟

为进一步研究活性成分和核心靶点的相互作用机制，从分子对接结果中选择对香豆酸-ACE 和咖啡酸-ALB 进行分子动力学模拟研究。图 9 展示了在 200 ns 分子动力学模拟过程中的 RMSD、RMSF、平均氢键数、Rg 和 SASA 等实验结果。

RMSD 值计算特定时间原始构象和模拟构象之间的平均差异，反映蛋白质构象波动的程度，该值越低，表明蛋白质-配体结合越稳定。如图 9-A 所示，两复合体的 RMSD 值波动存在差异。对香豆酸-ACE 的 RMSD 值全程低于 0.3 nm，在 0~20 ns 快速上升至 0.12 nm，在 20~100 ns

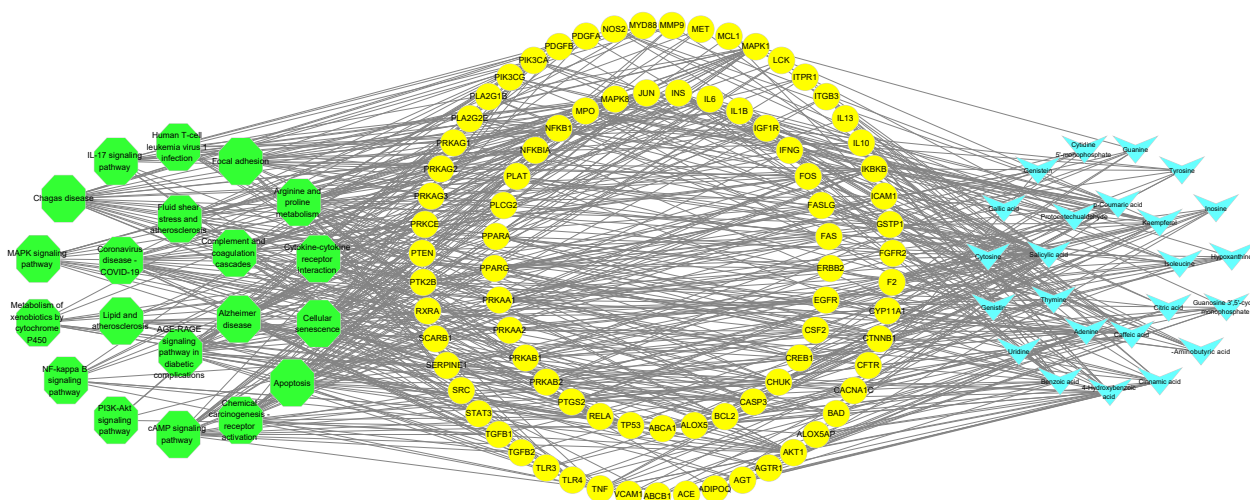


图7 成分-靶点-通路图

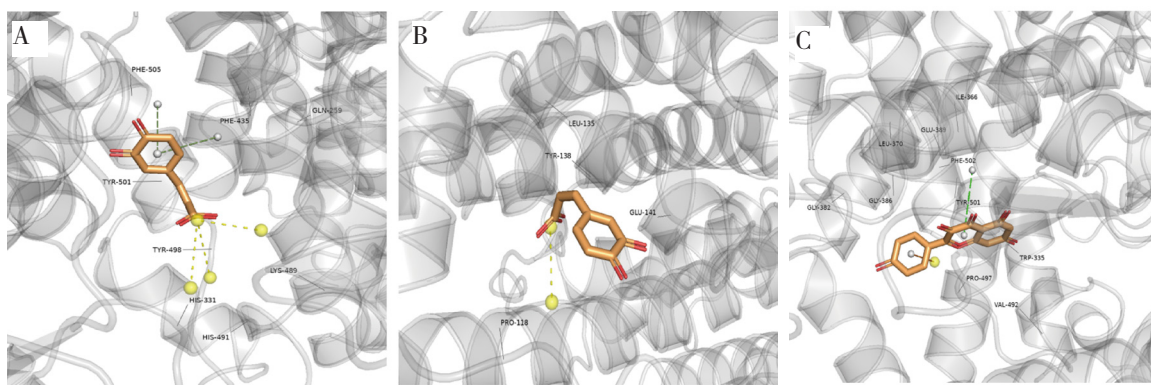
Figure 7. Diagram of ingredients-targets-pathways

注：图中绿色八边形代表信号通路，橙色椭圆代表关键靶点，蓝色V型代表活性成分，灰色背景线为三者之间的相互作用连线。

表4 关键成分和核心靶点的结合能

Table 4. The binding energies of key components and core targets

化合物	结合能 (kcal/mol)				
	ACE	CRP	IL6	TNF	ALB
腺嘌呤	-5.8	-5.4	-4.6	-5.4	-5.3
水杨酸	-6.3	-5.5	-4.2	-5.0	-6.0
对香豆酸	-6.0	-5.3	-4.5	-5.0	-5.6
胸腺嘧啶	-6.1	-5.2	-4.1	-5.3	-5.5
山奈酚	-8.4	-8.0	-6.6	-7.6	-8.7
柠檬酸	-5.4	-5.8	-5.1	-5.8	-5.5
原儿茶酸	-5.5	-5.2	-5.6	-5.0	-5.7
咖啡酸	-6.8	-5.6	-5.4	-5.3	-6.4
异亮氨酸	-4.8	-4.7	-3.4	-3.9	-4.8



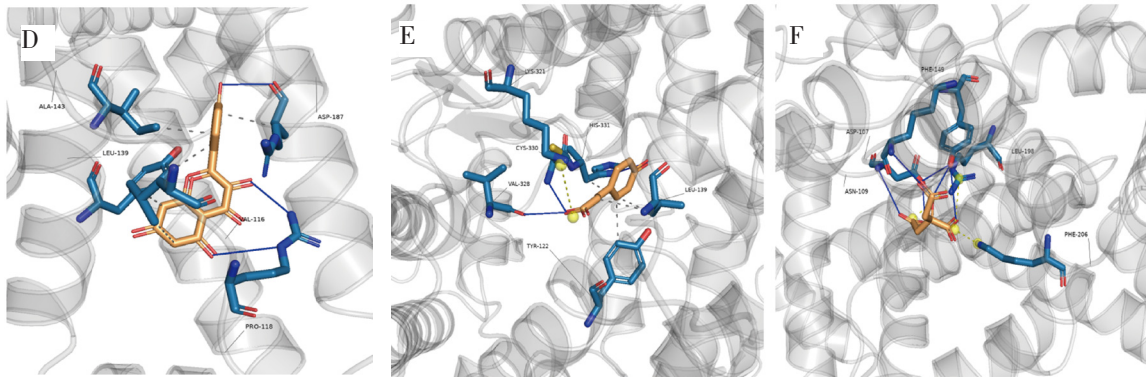


图8 分子对接图

Figure 8. Diagram of molecular docking

注: A. 咖啡酸-ACE; B. 咖啡酸-ALB; C. 山奈酚-ACE; D. 山奈酚-ALB; E. 对香豆酸-ACE; F. 柠檬酸-ALB。

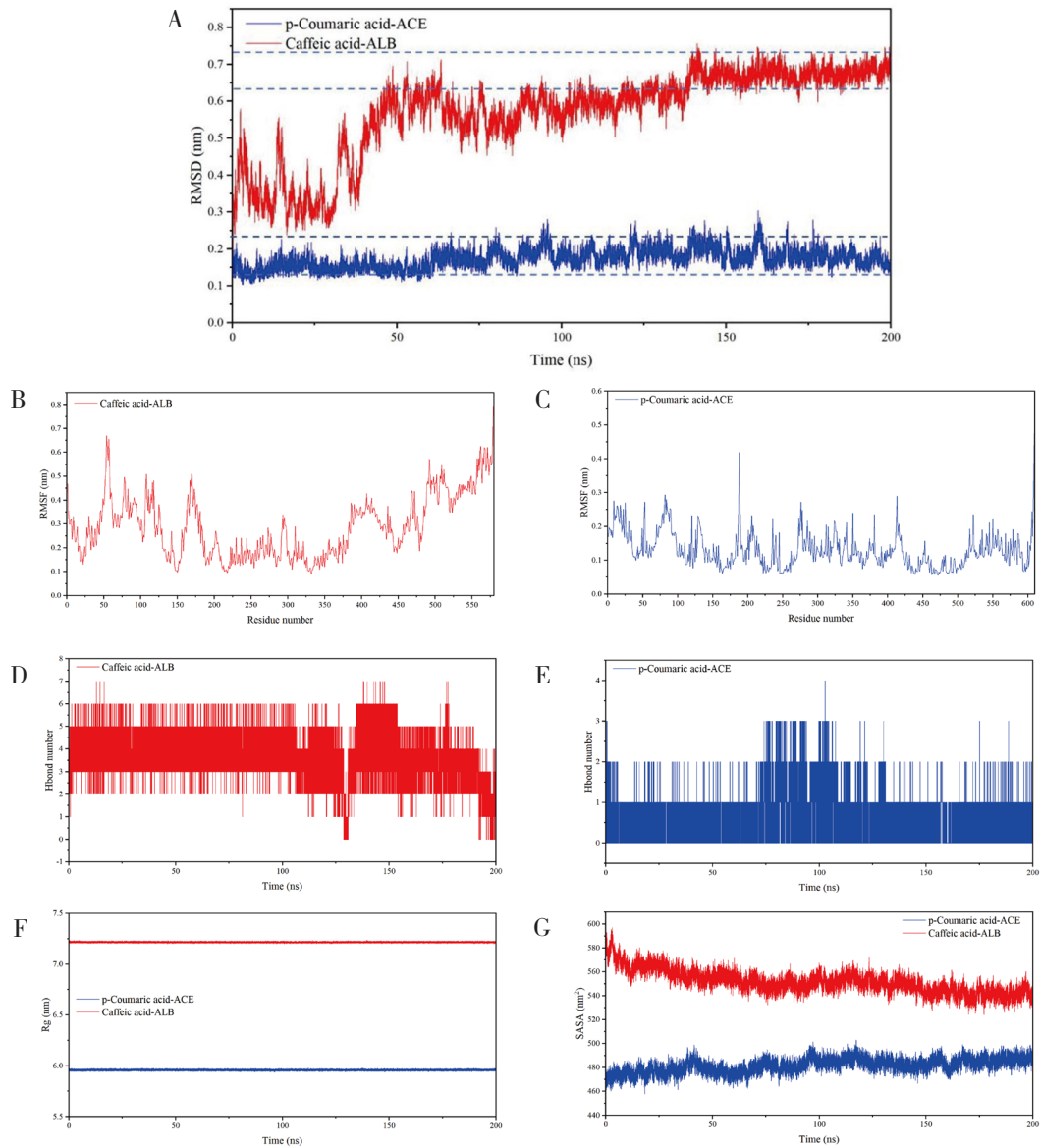


图9 分子动力学模拟分析

Figure 9. Molecular dynamics simulation analysis

注: *p*-Coumaric acid, 对香豆酸; Caffeic acid, 咖啡酸; A. 均方根偏差 (RMSD); B. 咖啡酸-ALB的均方根波动 (RMSF); C. 对香豆酸-ACE的均方根波动 (RMSF); D. 咖啡酸-ALB的平均氢键数; E. 对香豆酸-ACE的平均氢键数; F. 回转半径 (Rg); G. 溶剂可及表面积 (SASA)。

稳定波动,并在 100 ns 后维持平台期,稳定在 0.12~0.22 nm 范围内,振幅在 0.1 nm 左右,符合平衡标准。咖啡酸-ALB 的 RMSD 值则处于相对剧烈波动状态,在 0~40 ns 短时间内陡增至 0.35 nm 后周期波动,提示结构出现显著重构,40~60 ns 持续上升至 0.57 nm 左右,60~150 ns 波动逐步平缓,在约 150 ns 突跃至 0.67 nm 左右,之后至 200 ns,基本稳定在 0.62~0.72 nm 范围内,振幅在 0.1 nm 左右,且无明显上升或下降趋势,提示达到平衡。

RMSF 反映蛋白质氨基酸残基的波动,如图 9-B 和图 9-C 所示,在模拟过程中,两种复合物中大多数氨基酸的构象变化较小,仅少数残基经历了大的构象变化,可能是由于它们处于蛋白质的铰链区的位置。其中对香豆酸-ACE 的 RMSF 值波动较咖啡酸-ALB 少,且波动较小。氢键是最强的非共价键相互作用之一,在模拟过程中,氢键的数量反映了结合强度。对蛋白质配体进行氢键分析,如图 9-D 和图 9-E 所示,咖啡酸-ALB 和对香豆酸-ACE 的平均氢键数分别为 0.896 和 3.908,表明蛋白质与小分子之间存在氢键相互作用,但两者间有所不同。 R_g 是在给定的时间间隔内所有原子的质心与其末端之间的距离,用于表示蛋白质结构的整体紧凑程度,同时也可以衡量分子的亲和性。如图 9-F 所示,模拟

过程中两种蛋白质的 R_g 均保持相对稳定。SASA 描述的是蛋白质分子与周围水分子之间的相互作用,体现蛋白质亲疏水性的变化。如图 9-G 所示,对香豆酸-ACE 基本保持稳定,而咖啡酸-ALB 的结合前 10 ns 略有下降后达到了平衡,显示了整个模拟过程的稳定性和可靠性,提示两组复合物在模拟时间内均能形成稳定结合,但在动态行为上存在差异。

在 MM/PBSA 方法的应用中,总蛋白质结合的能量分解为四个独立部分:静电相互作用、范德华相互作用、极性溶剂化和非极性溶剂化作用,具有非极性溶剂化项通常被称为疏溶剂化项。两组蛋白质与配体的结合能测定结果见表 5。在蛋白质配体复合体系统中,咖啡酸-ALB 和对香豆酸-ACE 的结合自由能分别为 -23.16 kcal/mol 和 -17.06 kcal/mol。其中,对香豆酸-ACE 结合自由能的主要贡献是范德华相互作用能,而咖啡酸-ALB 结合自由能的主要贡献者包括范德华相互作用能和静电相互作用能。结果表明,咖啡酸-ALB 的结合亲和力略强于对香豆酸-ACE。综上,两组复合物体系均能形成稳定结合,且分子动力学模拟结果与分子对接基本一致,也提示两体系在动态行为上的差异可能是由分子结构及相互作用力上的差异造成的。

表5 MM/PBSA预测的结合自由能和能量成分 (kcal/mol)

Table 5. Binding free energies and energy components predicted by MM/PBSA (kcal/mol)

活性成分-靶点	ΔE_{bonded}	ΔE_{vdw}	ΔE_{ele}	ΔE_{GB}	ΔE_{surf}	ΔG_{gas}	ΔG_{solv}	ΔG_{bind}
咖啡酸-ALB	0	-24.53	-19.32	24.38	-3.690	-43.85	20.69	-23.16
对香豆酸-ACE	0	-23.85	-6.700	16.73	-3.230	-30.55	13.49	-17.06

注: ΔE_{bonded} , 键合能变化; ΔE_{vdw} , 范德华相互作用能变化; ΔE_{ele} , 静电相互作用能变化; ΔE_{GB} , 广义波恩 (Generalized Born) 模型中的极性溶剂化能变化; ΔE_{surf} , 非极性溶剂化能变化; ΔG_{gas} , 气相中的自由能变化; ΔG_{solv} , 溶剂化自由能变化; ΔG_{bind} , 结合自由能变化。

3 讨论

传统中医药在中国乃至世界范围内被广泛应用。然而,由于中药材成分复杂,其在体内的生物代谢过程及分子机制尚未完全明确,成为其应用开发的瓶颈。近年来,快速发展的代谢组学、网络药理学及分子模拟技术为深入揭示其作用机理提供了新研究途径^[15-18]。

本研究采用 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术对淡豆豉水煎液中化学成分进行了定性分析,共鉴定出 40 个化学成分,其中 15 个成分属于有机酸及酚酸类、6 个成分属于黄酮类、3 个

成分属于氨基酸类、11 个成分属于核苷类、5 个成分属于其他类。根据相关文献报道,淡豆豉的主要活性成分为有机酸及酚酸类、黄酮类和核苷酸类^[19],与本研究结果相符。该结果能够为淡豆豉进一步的科学研究提供参考,并为后续淡豆豉的网络药理学研究提供化学物质基础。

网络药理学分析结果显示,腺嘌呤、水杨酸、山奈酚、异亮氨酸、咖啡酸、柠檬酸、胸腺嘧啶、原儿茶醛和对香豆酸为淡豆豉抗凝血的潜在活性成分。研究表明,对香豆酸能够延长凝血酶原时间和凝血酶时间,表现出良好的抗凝血活性^[20]。咖啡酸能够通过调控环磷酸腺苷 (cyclic

adenosine monophosphate, cAMP) 生成而抑制血凝块回缩, 具有一定抗凝功效^[21-22]。有研究报道, 添加了柠檬酸的配方可有效防止血小板黏附, 并通过调控干扰信号激活血小板及内皮细胞功能两个主要途径来发挥抗血栓作用^[23]。柠檬酸钠具有较强的抗凝血作用, 其抗凝机制主要是整合血液中的 Ca^{2+} , 阻断凝血级联反应, 从而发挥抗凝效果^[24]。 Ca^{2+} 在凝血级联反应中影响多个凝血因子的活化, 因此整合血液中的 Ca^{2+} 可以有效阻止血液凝固^[25]。本研究提示 ALB、IL6、TNF、INS、AKT1、IL1B、IL10、AGT、CRP 和 ACE 这 10 个靶点主要通过炎症反应、内皮损伤和代谢异常等途径影响凝血。其中 IL-6、TNF、CRP 和 ACE 在临床中已被明确与血栓性疾病相关, 并成为治疗干预的重要方向。ALB 是人体血浆中最主要的蛋白质, 维持机体营养与渗透压。药物与 ALB 结合率高表明药物在血液中可以充分转运, 持续释放, 从而维持药物浓度稳定性, 有利于其发挥药物治疗效果。通过分子对接技术将所预测得到的关键成分和关键靶点进行对接, 结果显示活性成分与核心靶点之间均具有较好的结合稳定性。分子动力学模拟进一步验证了分子对接结果。结合靶点生物学背景分析, 最终筛选出 ACE、CRP、IL6、TNF 和 ALB 关键核心靶点。

核心靶点显著富集的信号通路包括糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路、脂质和动脉粥样硬化通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化通路、补体和凝血级联通路、新型冠状病毒通路等, 提示淡豆豉可能通过调控这些通路起到抗凝血作用。糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路与血糖调节、炎症和氧化应激等密切相关^[26-28]。AGE 可诱导巨噬细胞极化, 增加氧化应激及 IL-1 β 、IL-6、TNF 等炎症因子释放, 从而加速糖尿病引起的动脉粥样硬化斑块^[29-31]。研究表明, 通过抑制 AGE-RAGE 轴可以缓解高血糖对心肌微血管内皮细胞的损伤, 从而有助于防治糖尿病心肌微血管病变^[32]。脂质和动脉粥样硬化通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化通路的富集也较为显著。凝血系统与动脉粥样硬化密切相关^[33-37]。同时, 补体和凝血级联通路富集较高。补体激活有 3 种途径, 包括经典途径、凝集素途径和替代途径, 该过程会引起病原体的疏松化、炎症细胞和免疫功能细胞的募集以及病原体的直接杀灭。凝血级联反应是机体防止

血管破损出血的重要过程^[38]。此外, 关键靶点在新型冠状病毒通路也显著富集。新型冠状病毒是一种具极强传染性的呼吸道感染病毒^[39-40]。严重急性呼吸综合征冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 感染会导致内皮炎和血管损伤^[41], 这是由于病毒引起细胞因子释放^[42-43]、免疫细胞激活和促凝级联反应激活等因素, 而最终影响凝血系统并引起凝血功能障碍。这进一步提示淡豆豉可能通过调控这些通路起到抗凝血作用, 也印证了中药的多成分、多靶点和多通路的协同作用机制^[44-46]。

综上所述, 本研究发现淡豆豉水煎液中具有抗凝血活性成分有 9 种, 分别为腺嘌呤、水杨酸、山奈酚、异亮氨酸、咖啡酸、柠檬酸、胸腺嘧啶、原儿茶醛和对香豆酸; 涉及关键靶点 5 个, 分别为 ACE、CRP、IL6、TNF 和 ALB; 关键通路有糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路、脂质和动脉粥样硬化通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化通路、补体和凝血级联通路及新型冠状病毒通路等。分子对接和分子动力学模拟证实了关键有效成分与核心靶点间能形成稳定结合, 表明淡豆豉可能通过多成分、多靶点和多通路发挥抗凝血作用, 为其后续的临床应用提供了参考依据。未来有待进一步研究验证相关成分、靶点和信号通路。

参考文献

- 1 果卉. 栀子豉汤神经保护作用及其化学物质基础研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2018. [Guo H. Study on neuroprotection and chemical substance foundation of Zhi-Zi-Chi decoction[D]. Shanghai: Naval Medical University, 2018.] <https://d.wanfangdata.com.cn/thesis/CiBUaGVzaXNOZXdTmJyNTA2MTMyMDI1MDYxMzE2MTkxNnIiIiwTMzODIwMDUaCGU4ZHdma m9u>
- 2 刘会, 董文婷, 孙国东, 等. 豆豉对雄激素源性脱发小鼠的血液代谢组学研究 [J]. 中南药学, 2020, 18(3): 389-395. [Liu H, Dong WT, Sun GD, et al. Blood metabolomics of soybean meal on androgenetic alopecia in mice[J]. Central South Pharmacy, 2020, 18(3): 389-395.] DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2020.03.010.
- 3 张进召, 刘松, 潘双, 等. 淡豆豉提取物通过调控 LncRNA miR155 HG/miR-409-3p 表达抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(14): 3077-3082. [Zhang JZ, Liu S, Pan S, et al. The extract of light douchi inhibits the proliferation, migration and invasion of lung cancer cells by regulating the expression of LncRNA miR155 HG/miR-409-3p[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2021, 41(14): 3077-3082.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2021.14.045.

- 4 Shirabe R, Saito E, Sawada N, et al. Fermented and nonfermented soy foods and the risk of breast cancer in a Japanese population-based cohort study[J]. *Cancer Med*, 2021, 10(2): 757–771. DOI: [10.1002/cam4.3677](https://doi.org/10.1002/cam4.3677).
- 5 王安军, 王兴华. 栀子豉汤及其组成中药近 5 年研究进展[J]. 江西中医学院学报, 2013, 25(5): 97–100. [Wang AJ, Wang XH. Progress in study on Zhizichi decoction and its ingredients in the past five years[J]. *Journal of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine*, 2013, 25(5): 97–100.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/CiBQZXJpb2RpY2FsQ0hJU29scjkyMDI1MTExNzE2MDEwNzI1Ranh6eXh5eGlyMDEzMDUwMzQaCDQxemVkZWd3>
- 6 Zhang J, Wang J, Wang Y, et al. Phytochemistry and antioxidant activities of the rhizome and radix of *Millettia speciosa* based on UHPLC–Q–exactive orbitrap–MS[J]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7398. DOI: [10.3390/molecules27217398](https://doi.org/10.3390/molecules27217398).
- 7 李梢, 牛明, 张博. 网络药理学学科的发展与规范[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(z1): 4–5. [Li S, Niu M, Zhang B. The development and regulation of the discipline of network pharmacology[J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2023, 37(z1): 4–5.] DOI: [10.3867/j.issn.1000-3002.2023.z1.004](https://doi.org/10.3867/j.issn.1000-3002.2023.z1.004).
- 8 张代峰, 胡晨骏, 胡孔法. 网络药理学在中药领域的应用和展望[J]. 医学信息学杂志, 2024, 45(6): 30–36, 56. [Zhang DF, Hu CJ, Hu KF. Application and prospect of network pharmacology in the field of traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Medical Informatics*, 2024, 45(6): 30–36, 56.] DOI: [10.3969/j.issn.1673-6036.2024.06.006](https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-6036.2024.06.006).
- 9 Zhao L, Zhang H, Li N, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116306. DOI: [10.1016/j.jep.2023.116306](https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116306).
- 10 赵祖国, 赵汉宁, 冯胜军, 等. 分子模拟技术在医学免疫学教学中的应用探索[J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(9): 1951–1955. [Zhao ZG, Zhao HN, Feng SJ, et al. Application of molecular simulation in teaching of Medical Immunology[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2024, 40(9): 1951–1955.] DOI: [10.3969/j.issn.1000-484X.2024.09.026](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-484X.2024.09.026).
- 11 牟彦竹, 肖文惠, 张莉雯, 等. 淡豆豉水煎液对体外凝血酶活性抑制作用[J]. 湖北工业大学学报, 2025, 40(2): 62–67. [Mou YZ, Xiao WH, Zhang LW, et al. Study on the inhibitory effect of water decoction from Dandouchi on thrombin activity in vitro[J]. *Journal of Hubei University of Technology*, 2025, 40(2): 62–67.] DOI: [10.3969/j.issn.1003-4684.2025.02.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1003-4684.2025.02.010).
- 12 Cao DM, Liang QF, Zhang ZT, et al. Combination of UHPLC–Q exactive–orbitrap MS, bioinformatics and molecular docking to reveal the mechanism of Huan–Lian–Jie–Du decoction in the treatment of diabetic encephalopathy[J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20(9): e202300434. DOI: [10.1002/cbdv.202300434](https://doi.org/10.1002/cbdv.202300434).
- 13 Li Y, Li Z, Ye T, et al. Mechanism of Erzhiwan in treating osteoporosis based on molecular docking technology and molecular dynamics simulation[J]. *J Mol Model*, 2022, 29(1): 21. DOI: [10.1007/s00894-022-05418-y](https://doi.org/10.1007/s00894-022-05418-y).
- 14 Dong Q, Huang YJ, Tao ZY, et al. Discussion on the mechanism of Lingguizhugan decoction in treating hypertension based on network pharmacology and molecular simulation technology[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2025, 43(4): 2159–2170. DOI: [10.1080/07391102.2023.2294172](https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2294172).
- 15 都丽娜, 杨德志, 乌兰, 等. 液质联用技术联合网络药理学探讨苏格木勒–4 汤治疗失眠的作用机制[J]. 世界科学技术–中医药现代化, 2023, 25(12): 3866–3889. [Du LN, Yang DZ, Wu L, et al. Study on the mechanism of Sugemule–4 decoction in treating insomnia by liquid chromatography/mass spectrometry and network pharmacology[J]. *World Science and Technology–Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*, 2023, 25(12): 3866–3889.] DOI: [10.11842/wst.20230107003](https://doi.org/10.11842/wst.20230107003).
- 16 冉倩, 梁鸽, 张翠涵, 等. 基于液质联用技术和网络药理学的附子理中汤干预溃疡性结肠炎的活性成分和作用机制研究[J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(12): 1393–1402. [Ran Q, Liang G, Zhang CH, et al. Study on the active ingredients and mechanism of Fuzi lizhong decoction in the intervention of ulcerative colitis based on UPLC–MS and network pharmacology[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2023, 48(12): 1393–1402.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-8689.2023.12.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-8689.2023.12.008).
- 17 王逸飞, 王佳茜, 胡小艳, 等. 基于网络药理学及液质联用技术的三黄益肾颗粒医院制剂质量标志物预测研究[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(17): 1899–1906. [Wang YF, Wang JQ, Hu XY, et al. Predictive study on Q–Marker of hospital preparation Sanhuang Yishen Granules based on network pharmacology and UPLC–Q–TOF–MS/MS[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2023, 43(17): 1899–1906.] DOI: [10.13286/j.1001-5213.2023.17.03](https://doi.org/10.13286/j.1001-5213.2023.17.03).
- 18 Zhang M, Lu XL, Mi LL, et al. Investigation of amino acid profile alterations in maternal serum for early diagnosis of anembryonic pregnancy with high performance liquid chromatography–mass spectrometry[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2024, 294: 49–54. DOI: [10.1016/j.ejogrb.2024.01.007](https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.01.007).
- 19 林王敏, 翁倩倩, 邓爱平, 等. 基于文献的淡豆豉发酵过程成分转化分析[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(9): 2119–2132. [Lin WM, Weng QQ, Deng AP, et al. Literature–based analysis of conversion of components in fermentation process of Sojae Semen Praeparatum[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2021, 46(9): 2119–2132.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjmm.20210115.601](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20210115.601).
- 20 唐进法, 冯科冉, 王晓艳, 等. 基于多指标成分定量和凝血活性评价的丹红注射液质量标志物预测分析[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(11): 1209–1215, 1238. [Tang JF, Feng KR, Wang XY, et al. Prediction analysis of Danhong Injection quality markers based on multi–index component quantification and coagulation activity evaluation[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2023, 43(11): 1209–1215, 1238.] DOI: [10.13286/j.1001-5213.2023.11.05](https://doi.org/10.13286/j.1001-5213.2023.11.05).
- 21 陈洪流, 李超乾. cAMP/Epac 信号通路在 ARDS 中的作用研究进展[J]. 医学研究杂志, 2023, 52(5): 180–183. [Chen HL, Li CQ. Research progress on the role of cAMP/Epac signaling pathway in ARDS[J]. *Journal of Medical Research*, 2023, 52(5): 180–183.] DOI: [10.11969/j.issn.1673-548X.2023.05.038](https://doi.org/10.11969/j.issn.1673-548X.2023.05.038).

- 22 司徒莹,陈聪,杨超燕,等. 鸿茅药酒抗凝血及抗血栓作用研究[J]. 北方药学, 2023, 20(11): 5–10. [Situ Y, Chen C, Yang CY, et al. Effects of Hongmao Medication Wine on hemorheology in acute blood stasis model rat and related indexes of thrombosis[J]. Journal of North Pharmacy, 2023, 20(11): 5–10.] DOI: 10.3969/j.issn.1672-8351.2023.11.002.
- 23 杨冬梅. 柠檬酸处理血小板表面 HLA 抗原的可行性研究[D]. 泸州: 西南医科大学, 2019. [Yang DM. Study on the effectiveness of Citric acid stripping HLA-I antigens off the platelets[D]. Luzhou: Southwest Medical University, 2019.] <https://d.wanfangdata.com.cn/thesis/CiBUaGVzaXNOZXdTMjAyNTA2MTMyMDI1MDYxMzE2MTkxNjJRDAXzE3MzEyGghsbHFhdjY0Yw%3D%3D>.
- 24 王海芳,王艳,高淑霞,等. 局部柠檬酸钠与小剂量低分子肝素联合抗凝方案在连续性静-静脉血液滤过中的运用效果评估[J]. 山西医药杂志, 2016, 45(21): 2514–2516. [Wang HF, Wang Y, Gao SX, et al. Evaluation of the application effect of the combined anticoagulation regimen of local sodium citrate and low-dose low-molecular-weight heparin in continuous veno-venous hemofiltration[J]. Shanxi Medical Journal, 2016, 45(21): 2514–2516.] DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2016.21.018.
- 25 韦磊. 浅谈钙离子的生理作用[J]. 科技信息, 2011, (27): 571. [Wei L. A Brief Discussion on the Physiological Functions of Calcium Ions[J]. Science & Technology Information, 2011, (27): 571.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-9960.2011.27.441.
- 26 蒋淑娟,邢美艳. 亚精胺下调 AGE/RAGE 信号通路改善糖尿病大鼠认知功能障碍[J]. 河北医药, 2023, 45(9): 1326–1329, 1334. [Jiang SJ, Xing MY. Spermidine improves cognitive dysfunction of diabetic rats by down-regulating the hippocampal AGE/RAGE signaling pathway[J]. Hebei Medical Journal, 2023, 45(9): 1326–1329, 1334.] DOI: 10.3969/j.issn.1002-7386.2023.09.009.
- 27 史珊珊. 补阳还五汤通过调控 AGEs—RAGE 信号通路对糖尿病创面的治疗作用研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2023. [Shi SS. The study on the therapeutic effect of Buyang Huanwu Decoction on diabetes wounds by regulating AGEs—RAGE signal pathway[D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2023.] DOI: 10.27282/d.cnki.gsdzu.2023.001083.
- 28 孙跃先,王九妹,崔新刚,等. 穿心莲内酯调节 HMGB1/RAGE 信号通路对糖尿病周围神经病变大鼠坐骨神经功能损伤的影响[J]. 中国药房, 2024, 35(5): 572–577. [Sun YX, Wang JM, Cui XG, et al. Impacts of andrographolide on sciatic nerve function damage in diabetic peripheral neuropathy rats by regulating HMGB1/RAGE signaling pathway[J]. China Pharmacy, 2024, 35(5): 572–577.] DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.05.11.
- 29 易兴阳,袁光固,余昌明,等. 脑梗死及颈动脉粥样硬化患者外周血 IL-1、IL-6 和 TNF 水平研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 1998, (3): 144–147. [Yi XY, Yuan GG, Yu CM, et al. The study of IL-1, IL-6 and TNF in peripheral blood of patients with cerebral infarct and carotid atherosclerosis[J]. Chinese Journal of Neuroimmunology and Neurology, 1998, (3): 144–147.] <https://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTOTAL-ZSMB199803004.htm>.
- 30 张丽,王江,王秀艳,等. 动脉粥样硬化大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 以及冠状动脉巨噬细胞 CD68 的变化[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(21): 5391–5393. [Zhang L, Wang J, Wang XY, et al. The changes of serum IL-1 β , IL-6 and coronary macrophage CD68 in atherosclerotic rats[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2013, 33(21): 5391–5393.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2013.21.085.
- 31 赵子聪. 动脉粥样硬化患者中医体质分型与血清 IL-1 β 、IL-6 水平的相关性研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019. [Zhao ZC. Correlation between TCM constitution and classification of serum IL-1 β and IL-6 in patients with atherosclerosis[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2019.] DOI: 10.27044/d.cnki.ggzuz.2019.000475.
- 32 许笑雯,储全根,储俊,等. 痰瘀同治法对糖尿病大鼠心肌微血管病变 AGEs/RAGE 轴及氧化应激的影响[J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(10): 1527–1533. [Xu XW, Chu QG, Chu J, et al. Effect of dissipating phlegm and blood stasis simultaneously on AGEs/RAGE axis and oxidative stress in rats with diabetic myocardial microangiopathy[J]. Journal of Southern Medical University, 2021, 41(10): 1527–1533.] DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2021.10.11.
- 33 秦合伟,孙孟艳,王梦楠,等. 黄芪甲苷控 Nrf2/HO-1/GPX4 通路抑制铁死亡改善 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(13): 3619–3626. [Qin HW, Sun MY, Wang MN, et al. Mechanism of astragaloside IV modulation of Nrf2/HO-1/GPX4 pathway to inhibit ferroptosis and ameliorate atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(13): 3619–3626.] DOI: 10.19540/j.cnki.cjzmm.20240321.702.
- 34 张帮献,梁盛华,贾绍府,等. 血栓素 B2、氧化型低密度脂蛋白、脂蛋白(a) 在后循环脑梗死患者中的水平及临床意义[J]. 心脑血管病防治, 2022, 22(2): 50–52, 84. [Zhang BX, Liang SH, Jia SF, et al. The levels and clinical significance of thromboxane B2, oxidized low density lipoprotein lipoprotein (a) in patients with posterior circulation infarction[J]. Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral- Vascular Disease, 2022, 22(2): 50–52, 84.] DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2022.02.013.
- 35 Akhmedov A, Sawamura T, Chen CH, et al. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a crucial driver of atherosclerotic cardiovascular disease[J]. Eur Heart J, 2021, 42(18): 1797–1807. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa770.
- 36 Wang Z, Chen G, Zhu WW, et al. Activation of nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in the basilar artery after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Ann Clin Lab Sci, 2010, 40(3): 233–239. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20689134/>.
- 37 Fabjan A, Bajrović FF. Novel direct anticoagulants and atherosclerosis[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2019, 17(1): 29–34. DOI: 10.2174/1570161116666180206111217.
- 38 Pedersen H, Jensen RK, Hansen AG, et al. A C3-specific nanobody that blocks all three activation pathways in the human and murine complement system[J]. J Biol Chem, 2020, 295(26): 8746–8758. DOI: 10.1074/jbc.RA119.012339.
- 39 崔倩,李庆海,王宁. 新型冠状病毒肺炎与严重急性呼吸

- 综合征的回顾对比分析[J]. 医学新知, 2020, 30(4): 314-319. [Cui Q, Li QH, Wang N. A retrospective comparative analysis of COVID-19 and SARS[J]. New Medicine, 2020, 30(4): 314-319.] DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.2020.04.11.
- 40 王彤彤, 周学健, 唐琴, 等. 新型冠状病毒肺炎与传染性非典型肺炎的流行病学特征分析[J]. 中国热带医学, 2020, 20(11): 1108-1111. [Wang TT, Zhou XJ, Tang Q, et al. The comparative analysis of epidemiological characteristics between COVID-19 and SARS[J]. China Tropical Medicine, 2020, 20(11): 1108-1111.] DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2020.11.20.
- 41 Thacker VV, Sharma K, Dhar N, et al. Rapid endotheliitis and vascular damage characterize SARS-CoV-2 infection in a human lung-on-chip model[J]. EMBO Rep, 2021, 22(6): e52744. DOI: 10.15252/embr.202152744.
- 42 Walton ZE, Frigault MJ, Maus MV. Current and emerging pharmacotherapies for cytokine release syndrome, neurotoxicity, and hemophagocytic lymphohistiocytosis-like syndrome due to CAR T cell therapy[J]. Expert Opin Pharmacother, 2024, 25(3): 263-279. DOI: 10.1080/14656566.2024.2340738.
- 43 刘雪姣, 张晏洁. 新型冠状病毒引起的细胞因子释放综合征及其潜在治疗药物研究进展[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(10): 1087-1092. [Liu XJ, Zhang YJ. Advances in cytokine release syndrome caused by SARS-COV2 and its therapeutic drugs[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2020, 33(10): 1087-1092.] DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2020.10.015.
- 44 Laursen AS, Olesen MV, Folke J, et al. Systemic inflammation activates coagulation and immune cell infiltration pathways in brains with propagating α -synuclein fibril aggregates[J]. Mol Cell Neurosci, 2024, 129: 103931. DOI: 10.1016/j.mcn.2024.103931.
- 45 陈冬芹, 彭华华, 诸安蓉. 中医药多靶点干预对内分泌常见疾病的管理效果[J]. 中医药管理杂志, 2024, 32(4): 213-215. [Chen DQ, Peng HH, Zhu AR. The management effect of multi-target intervention of traditional Chinese medicine on common endocrine diseases[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine Management, 2024, 32(4): 213-215.] DOI: 10.16690/j.cnki.1007-9203.2024.04.087.
- 46 袁维, 孙克伟, 陈斌, 等. 鳖龙软肝汤抗肝纤维化-肝癌“多成分-多靶点”的网络药理学研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32(4): 341-346. [Yuan W, Sun KW, Chen B, et al. "Multi-component-multi-target" network pharmacology study of Bie Long Ruangan decoction against liver fibrosis-hepatocellular carcinoma[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Liver Diseases, 2022, 32(4): 341-346.] DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2022.04.015.

收稿日期: 2025 年 05 月 22 日 修回日期: 2025 年 11 月 25 日
本文编辑: 张苗 黄笛

引用本文: 陈家庚, 牟彦竹, 陈明月, 等. 基于液质联用技术、网络药理学和分子动力学模拟探究淡豆豉抗凝血机制[J]. 数理医药学杂志, 2025, 38(12): 894-909. DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202505063.
Chen JG, Mou YZ, Chen MY, et al. Exploring the anticoagulant mechanism of Sojao Semen Praeparatum based on liquid chromatography/mass spectrometry technology, network pharmacology and molecular dynamics simulation[J]. Journal of Mathematical Medicine, 2025, 38(12): 894-909. DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202505063.