

基于分子对接及生物网络功能模块识别的复方丹参滴丸的网络药理学研究

袁文锋^{1,2,3}, 涂铭扬^{1,2,3}, 陈超^{1,2,3*}, 王淑美^{1,2,3}, 梁生旺^{1,2,3*} (1. 广东药科大学中药学院, 广州 510006; 2. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室, 广州 510006; 3. 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广州 510006)

摘要:目的 运用分子对接及生物网络功能模块识别等网络药理学技术, 阐述复方丹参滴丸治疗动脉粥样硬化的物质基础和作用机制。方法 首先通过分子对接技术确定复方成分和靶点的对应关系, 结合由分子相似性构建的复方成分-成分网络, 以及靶点相互作用网络, 建立了二阶异质网络; 然后经模式分析, 将二阶异质网络拆解为不同功能的模块。结果 模块分析结果显示, 复方丹参滴丸治疗动脉粥样硬化的机制涉及炎症、免疫和氧化应激; 进一步分析复方成分作用通路, 得出了复方主要作用成分, 包括丹参素、原儿茶醛、丹参酮Ⅵ等。结论 本方法为阐释中药复方多成分、多靶点、多途径的作用机制等同类研究提供了参考。

关键词: 分子对接; 网络药理; 复方丹参滴丸; 动脉粥样硬化; 作用机制

doi: 10.11669/cpj.2017.09.006 中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2017)09-0743-07

Network Pharmacology Study of Compound Danshen Dropping Pill Based on Molecular Docking and Recognition of Biological Network Function Modules

YUAN Wen-feng^{1,2,3}, TU Ming-yang^{1,2,3}, CHEN Chao^{1,2,3*}, WANG Shu-mei^{1,2,3}, LIANG Sheng-wang^{1,2,3*} (1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. The Key Unit of Chinese Medicine Digitalization Quality Evaluation of SATCM, Guangzhou 510006, China; 3. The Research Center for Quality Engineering Technology of Traditional Chinese Medicine in Guangdong Universities, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study material basis and mechanism of compound danshendropping pills (CDDP) in the treatment of atherosclerosis (AS) using network pharmacology techniques such as molecular docking and recognition of biological network function modules in this paper. **METHODS** Firstly, interactions between ingredients of CDDP and targets were determined through molecular docking technique; secondly 2-layered heterogeneous network (2-HN) was established from compounds-compounds interaction networks and targets-targets interaction networks, which were constructed by their molecular similarity and from UniHI database, respectively; finally, 2-HN was divided into different modules with various functions through module analysis. **RESULTS** The mechanism of CDDP for AS treatment was correlated with inflammation, immune dysfunction and oxidative stress. Pathway analysis was further employed, and showed that main components of CDDP are danshensu, protocatechuic aldehyde, tanshinone VI, etc. **CONCLUSION** The present study provides a reference for similar studies such as exploration of multi-component, multi-target, multi-pathway mechanism of traditional Chinese medicine.

KEY WORDS: molecular docking; network pharmacology; compound danshen dropping pills; atherosclerosis; mechanism

中药复方具有多成分、多靶点、多通路的作用特点, 目前从整体上全面阐述中药复方成分与靶点间相互作用机制的研究较少。网络药理学是以“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络为基础, 通过网络分析, 系统的观察药物对疾病的影响, 揭示多分子药物协同作用人体的奥秘^[1], 为剖析中药复方的作用机

制提供了新方法。

复方丹参滴丸是临床上治疗冠心病、心绞痛等心血管疾病的常用药物, 动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是诱发心血管疾病的关键因素, 临床显示复方丹参滴丸具有活血化瘀、理气止痛、改善血流变性、保护血管及心肌等功效, 对AS可以消除粥样斑

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81274059); 广东省自然科学基金资助项目(S2012010009166); 广州市珠江科技新星基金(2014J2200021); 广东省教育厅优秀青年教师基金资助项目(Yq2013102)

作者简介: 袁文锋, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药质量控制; * 通讯作者: 陈超, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药信息技术研究
Tel: (020) 39352181 E-mail: gdpuchenchao@163.com; 梁生旺, 男, 教授, 研究方向: 中药质量控制 Tel: (020) 39352172 E-mail: swliang371@163.com

点,降低血脂和抑制血管硬化^[2]。近年来,对于其作用的物质基础多采用动物及细胞实验进行药理学研究,并未能揭示中药复方多成分-多靶点-多通路协同作用的特点。李翔等^[3]采用网络药理学方法构建了复方丹参方中9种主要物质的多成分-多基因-多疾病网络模型,验证了9种活性成分可调控心血管病相关的42个基因的表达。

本研究以分子对接及生物网络功能模块识别等网络药理学技术为手段,从丹参、三七、冰片所含的216种成分出发,进一步研究复方丹参滴丸治疗AS的物质基础和作用机制。首先,通过分子对接技术确定复方成分与AS靶点的作用关系,构建成分-靶点网络;然后,计算复方成分分子指纹及Tanimoto系数,得出各成分间相似度,构建成分-成分网络;再以成分-靶点网络为中心,成分网络和靶点作用网络为子网络,构建二阶异质网络;最后,应用模块分析技术分解二阶异质网络,并对其中的主要功能模块进行检测,通过GO注释和kyoto encyclopedia of genes and genomes(KEGG)通路分析研究复方丹参滴丸治疗AS的物质基础和作用机制,为同类研究提供方法学参考。

1 材料

1.1 复方成分

复方丹参滴丸由丹参、三七、冰片3味中药组成,其化学成分可由TCMSP数据库(<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>)检索获得,并根据Lipinski规则筛选。Lipinski规则是药物分子设计和药物筛选中最常用的规则之一,如果化合物满足以下条件,那么此化合物的吸收或渗透性会更好^[4]:①氢键供体数目(以NH和OH键数目之和计)不大于5;②相对分子质量不大于500;③脂水分配系数logP不大于5;④氢键受体数目不大于10。按此规则共收集到216个复方成分(表1),从PubChem数据库下载其三维结构,保存为sdf文件。

1.2 AS相关靶点

毒性与基因比较数据库CTD(Comparative Toxicogenomics Database,<http://ctdbase.org/>)收集了化合物与基因、化合物与蛋白、化合物与疾病以及基因与疾病之间的相互作用关系。本研究使用CTD数据库,以“Atherosclerosis”为关键词检索AS相关靶点,其中以“M”标记的为经过实验验证、可信度较高的疾病靶点。为保证实验结果的可靠性,本研究仅选择该类靶点,共计49个。根据靶点的基因名称,

在PDB网站(<http://www.rcsb.org>)中查找其对应的蛋白质三维结构,并选择分辨率高的晶体结构,下载获得pdb文件共41个(表2)。

2 方法

2.1 分子对接

分子对接技术广泛运用于预测受体-配体复合物^[5],是药物设计中比较成熟的技术,目前已有研究者开发了众多软件用于分子对接和虚拟筛选。本实验采用Discovery Studio2.5软件(简称DS)进行分子对接,确定复方成分与AS靶点的作用关系。

2.1.1 对接前分子及靶点处理 在DS中打开全部复方成分,加氢,赋予CHARMM力场,保存为一个sdf文件。分别打开靶点蛋白pdb文件,去除水分子和配体,加氢,加电荷,赋予CHARMM力场,定义为对接受体。活性位点的定义采用两种方法:①本身含有配体的靶点,直接定义配体所在位置为靶点的活性位点;②不含配体的靶点,使用软件自带的活性位点查找程序“Find Sites from Receptor Cavities”查找受体空腔,并将最大的空腔定义为受体的对接活性位点。

2.1.2 对接过程 实验采用了LibDock、LigandFit、CDOCKER3种对接方法,参数采用默认设置。LigandFit对接后产生“LigScore1、LigScore2、PLP1、PLP2、Jain、PMF、DOCK_SCORE”7种评价分数,本研究使用一致性评价函数“Consensus Score”对7种评价函数进行一致性评价。

2.1.3 对接结果处理 为降低对接结果的假阳性率,本研究同时考察LibDock、CDOCKER以及“Consensus Score”3种对接得分,以至少同时在两种方法中得分排名占全部复方成分的前20%为对接结果有效,以此提高对接结果准确性。

2.2 分子相似度

PaDEL-Descriptor是用于计算分子描述符及分子指纹的一款软件,可以计算797种描述符及10种分子指纹^[6]。分子指纹常用于定量描述分子结构和物理化学特征,根据构效关系,结构相似的分子具有相似的作用靶点,可由此找到分子和靶点的潜在作用关系。将复方成分导入软件中计算“Pubchem Fingerprint”分子指纹,然后导入Matlab,自编写程序计算Tanimoto相似度,相似度大于等于0.8,可认为分子相似度高。

2.3 生物网络功能模块识别

研究证明生物网络具有模块组织结构,即网络局部某些分子共同执行某种特殊的生物功能,生物网络功能模块识别即将生物网络分解为具有相对独立功能、内部联系紧密而外界连接松散的模块,为传统中医药复杂网络的研究提供了一个全新的视角^[7]。

2.3.1 构建异质网络 ①以相似度大于0.8的成分构建复方成分-成分网络(CSN);②由分子对接的结果构建复方成分—AS相关靶点网络(PSN);③UniHI数据库(<http://www.unihi.org>)^[8]用于构建靶点-靶点相互作用网络(GSN);④以PSN网络为基础,删除CSN、GSN子网络的无效信息,共同构建二阶异质网络2-HN。

2.3.2 检测功能模块 目前,依据算法特性可将功能模块的识别算法分为基于层次聚类的算法、基于图划分的聚类算法、基于密度的局部搜索聚类算法、基于网络比对的聚类算法以及其他聚类算法^[9]。本研究采用的MCL算法是一种快速、简单、易扩展的聚类算法,核心思想是模拟图中的随机游走过程,能够快速、准确地识别蛋白质网络中的蛋白质复合体,具有非常好的鲁棒性,抗噪声能力强。该算法可应用Cytoscape软件中分析插件clusterMaker2实现。从复杂网络中识别出的功能模块,可根据模块的度量指标Modularity和Ratio of preserved CPIs,评价其重要性。

网络模块性(Modularity)是Newman和Grivan在2004年提出的网络模块结果强弱的评价指标^[10],计算公式如下: $Q(C) = \frac{L_c}{m} - (\frac{D_c}{2m})^2$,各符号的含义为: m ,图中总边数; L_c ,社区 c 中所有内部边的条数; D_c ,社区 c 中所有顶点的度之和, D_c 也可写成 $D_c = 2l_c + O_c$ (O_c 是模块 c 与其他模块之间的边)。

Ratio of preserved CPIs是各模块包含成分与靶点连接数和网络中成分-靶点总连接数的比值。

Modularity是衡量网络模块划分质量的度量方式,值越大表示模块内部链接密度越高,模块内部各节点关系越紧密,即为更重要的功能模块;Ratio of preserved CPIs是控制模块内成分-靶点相互作用比率的评价指标,模块内应至少同时含有成分和靶点,值越大说明含有成分和靶点的信息越多,越有利于后续的物质基础和作用机制分析。

2.4 基因GO注释和KEGG通路分析

DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)用

于注释基因的功能和生物学过程。将上述得到的关键功能模块所含基因导入到DAVID中,进行GO注释和通路分析。

3 结果与讨论

3.1 分子对接结果

为降低对接结果的假阳性率,本研究将216个复方成分分别采用3种对接方法与41个AS靶点对接,仅统计至少在两种方法中对接得分同时排名前20%的结果。共计获得成分-靶点作用关系1142对,涉及151个成分和40个靶点,以此建立成分-靶点网络(PSN)。

3.2 分子相似度结果

对216个复方成分计算分子指纹和相似度,以Tanimoto系数大于0.8为结构相似,共获得765对,涉及145个复方成分,以此建立成分-成分网络(CSN)。

3.3 生物网络功能模块识别结果

3.3.1 网络的拓扑信息 以复方成分-靶点网络(PSN)为基础,删去成分-成分网络(CSN)中多余的成分,结合靶点-靶点网络(GSN),构建二阶异质网络(2-HN),计算网络拓扑结构信息,见表1。

3.3.2 MCL算法分析GSN,genomic subnetwork; CCI, compound-compound interactions; CPI, compound-protein interactions; PPI, protein-protein interaction 模块分析结果 使用MCL算法分析二阶异质网络(2-HN),Granularity参数设置为1.8,其他参数默认设置。分析结果见图1。

分别计算各功能模块的Modularity和Ratio of preserved CPIs,计算结果见表2。

以Modularity大于0.100和Ratio of preserved CPIs大于0.100为标准,筛选得到2个关键子网络,即表2中模块1和模块2。

表1 2-HN的拓扑结构信息

Tab. 1 Topological properties of the 2-HN

Item	Property	CSN	PSN	GSN	2-HN
Node	Compounds	145	151	0	175
	Proteins	0	40	32	40
Edge	CCIs	671	0	0	671
	CPIs	0	1142	0	1142
	PPIs	0	0	36	36
	Connected components	23	1	3	1
	Isolated nodes	0	0	0	0
	Clustering coefficient	0.582	0	0.072	0.313
	Network density	0.05	0.063	0.069	0.08
	Network heterogeneity	0.993	0.961	0.642	0.734

表5 模块1 GOMF 分类结果

Tab.5 GOMF classification results of module 1

GO No.	Term	Gene count	P-Value
GO:0005125	Cytokine activity	5	1.28E-04
GO:0008034	Lipoprotein binding	3	1.05E-03
GO:0008009	Chemokine activity	3	1.81E-03
GO:0016209	Antioxidant activity	3	1.89E-03
GO:0042379	Chemokine receptor binding	3	2.05E-03
GO:0030169	Low-density lipoprotein binding	2	2.87E-02
GO:0032403	Protein complex binding	3	2.96E-02
GO:0005509	Calcium ion binding	5	3.43E-02

模块2的GO注释结果中,GOBP分类显示涉及204个重要的生物学过程($P < 0.05$),主要是细胞增殖调控、多细胞生物过程的负性调控、类固醇代谢过程的调节、脂质代谢过程的调节、细胞凋亡的调控等;GOCC分类结果显示,涉及6个细胞组分类别($P < 0.05$),主要包括细胞外隙、球形高密度脂蛋白颗粒、核膜等;GOMF分析显示,涉及11个分子功能类别($P < 0.05$),包括同质蛋白结合、脂质结合、花生四烯酸结合等。

动脉粥样硬化成因复杂,目前存在众多学说,其中炎症学说和内皮损伤及脂质的沉积是目前主流学说。综合模块1和模块2GO注释结果,可见其中炎症反应、防御应答、外部刺激调节以及细胞组分中的细胞外隙、核膜功能类别中的花生四烯酸结合、同质蛋白结合等结果和炎症学说的结论一致;类固醇的调节、脂质代谢的调节的生物学过程,球形高密度脂蛋白颗粒、高密度脂蛋白颗粒等细胞组分均与脂质沉积学说吻合。

3.4.2 KEGG 通路分析 模块1的KEGG通路分析结果显示,涉及3条重要通路,分别为Toll样受体信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用和花生四烯酸代谢通路。Toll样受体信号通路主要作用于系统免疫反应中,Toll样受体是最重要的先天免疫受体,负责识别外来病原体以及一些内源性分子。内源性和外源性的TLR激动剂可能存在于动脉粥样硬化的斑块中,免疫反应中的Toll样受体和血管表皮细胞能够在动脉粥样硬化中影响这些受体下游的信号,从而引起促炎细胞因子释放、脂质吸收、泡沫细胞的形成,进而激活适应性免疫系统的细胞^[11]。细胞因子-细胞因子受体相互作用通路的细胞活素是一类细胞外蛋白,沿着细胞间调整、移动细胞,参与先天或适应性免疫反应、细胞增殖、分化、凋亡以及血管生成和修复。花生四烯酸代谢通路中花生四烯酸是炎症反应中的一个重要产物。由此可

见,模块1揭示了动脉粥样硬化的炎症作用和免疫功能异常作用机制。

模块2的KEGG通路分析结果涉及2条重要通路,分别为PPAR信号通路和癌症通路。PPAR信号通路中过氧化物酶体是核膜受体,能够被脂肪酸及其衍生物激活, α -过氧化物酶体通过调节基因表达参与肝脏和骨骼肌中脂质代谢, β -过氧化物酶体和 α -过氧化物酶体还参与脂质氧化和细胞增殖,促进脂肪细胞的分化,加强血糖吸收^[12]。癌症通路涉及血管生成、细胞增殖等过程。可知,模块2揭示了动脉粥样硬化的氧化应激作用机制,见表6。

3.4.3 复方成分作用通路 由以上通路分析结果,可以做出主要复方成分的作用通路图(图2.3),其中矩形为复方成分,椭圆为作用通路,它们包含的相同靶点数目越多,之间的连线就越宽。

根据图2中的连线宽度,以及模块1中各成分所处节点的拓扑参数(包括度和介数)综合分析得出丹参素(danshensu)、原儿茶醛(protocatechualdehyde)、咖啡酸(caffeic acid)等成分作用较强。由以往研究表明,丹参素主要通过抑制单核细胞活化和泡沫细胞形成、减少促炎因子的释放和抑制血管平滑肌细胞的增殖发挥抗动脉粥样硬化的作用^[13]。原儿茶醛是丹参中具有心血管活性的主要成分,韩纯洁等^[14]观察原儿茶醛对ox-LDL诱导的人脐静脉血管内皮细胞株损伤的保护作用,验证了原儿茶醛对ox-LDL诱导的血管内皮细胞损伤具有保护作用,机制可能与CD40/CD40L抗炎途径有关;同时,研究表明,原儿茶醛具有抑制炎症、抑制细胞凋亡、抑制白细胞趋化游走、抗氧化、促进微循环等作用^[15]。咖啡酸是一种天然的酚类化合物,属于羟基肉桂酸类,具有很强的抗氧化能力,对心脏的氧化应激损伤有较好的保护作用^[16];炎症反应时,中性粒细胞和巨噬细胞释放ROS造成组织炎性损伤,引起疼痛反应,咖啡酸对此具有保护作用,同时咖啡酸是核转录因子(NF)- κ B抑制剂,具有调节炎性介质释放和免疫功能的活性^[17]。

表6 KEGG 通路分析结果

Tab.6 Results of KEGG pathway analysis

Module	KEGG No.	KEGG Term	Gene count	P-Value
Module 1	hsa04620	Toll-like receptor signaling pathway	4	3.53E-03
	hsa04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	5	7.67E-03
	hsa00590	Arachidonic acid metabolism	3	1.29E-02
Module 2	hsa03320	PPAR signaling pathway	3	1.29E-02
	hsa05200	Pathways in cancer	4	4.69E-02

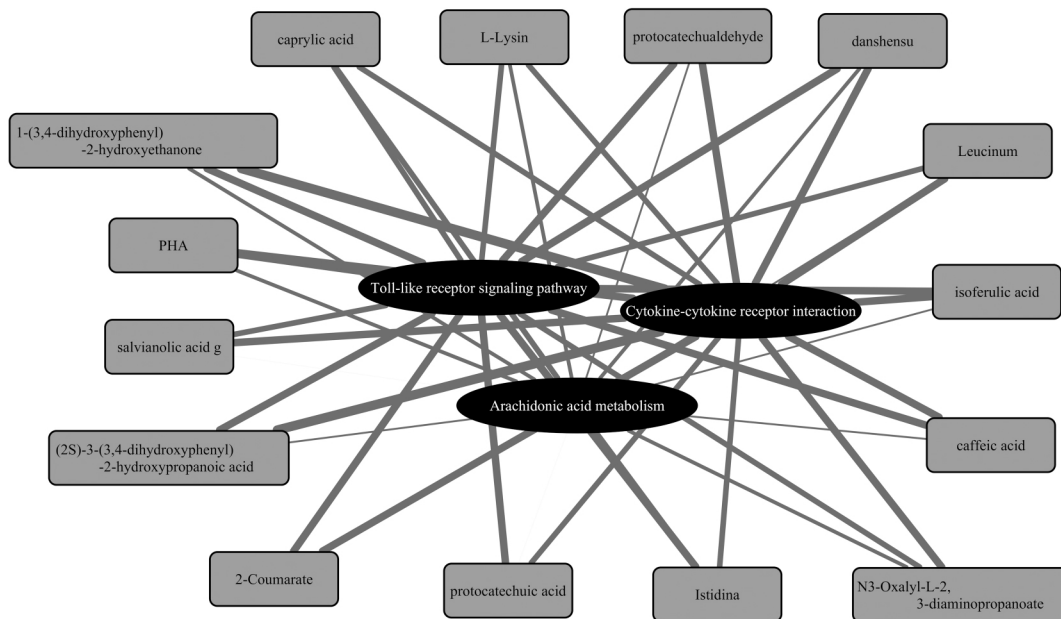


图2 模块1得到的主要成分作用通路图

Fig.2 Pathway of main components obtained from module 1

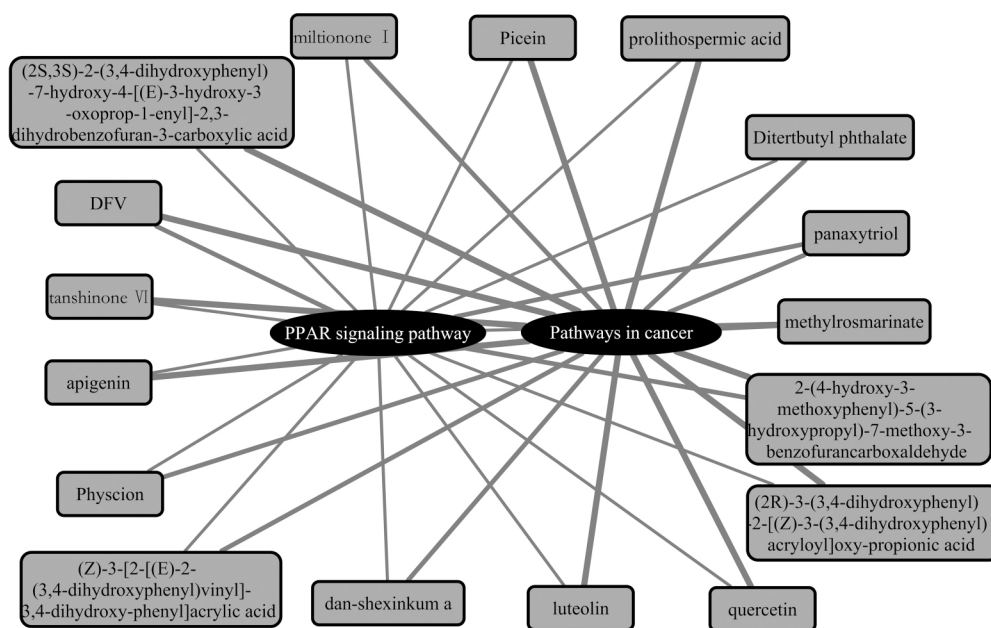


图3 模块2得到的主要成分作用通路图

Fig.3 Pathway of main components obtained from module 2

同理得到模块2中丹参酮VI(tanshinone VI)、原紫草酸(prolithospermic acid)、芹菜素(apigenin)、槲皮素(quercetin)和木犀草素(luteolin)等成分作用较强。其中丹参酮VI能显著降低内膜增厚,抑制细胞增殖和迁移,抑制丝裂活化蛋白激酶(MAPK),下调 c-fos 表达^[18],抑制血管平滑肌细胞增殖,从而显著改善动脉粥样硬化。原紫草酸是丹参的主要酚酸类

成分,可抑制脂质过氧化,引起主动脉舒张^[19]。史婷婷等^[20]采用大鼠缺血/再灌注实验证实芹菜素具有扩张血管、调节血压、调节血脂、保护内皮细胞和改善血管舒缩功能等心血管药理作用。槲皮素有保护损伤细胞、抗炎、抗氧化活性、抑制心肌纤维化等^[21]多种作用机制见诸报道。木犀草素属于黄酮类,具有抗氧化活性,能增强生物体内抗氧化酶系统

的活性,此外,木犀草素还有一定的抗炎活性^[22]。

4 结 论

本研究运用分子对接技术构建出复方成分-靶点网络,由分子相似性构建复方成分-成分网络,根据UniHI数据库构建了靶点-靶点网络,在此基础上构建了二阶异质网络,并通过模式分析,将网络分解为功能各异的模块,对模块进行了分析,得出复方主要成分作用通路图,初步解析了复方的物质基础和作用机制。

然而,君药丹参中被广泛认为有效的丹参酚酸A和丹参酮II A并未在结果中显示很强的活性,其原因可能是:①实验中没有量化成分和靶点的作用强度关系,导致作用多个靶点的成分比强烈作用单个靶点的成分更突出,例如槲皮素、芹菜素,特异性不强,对众多靶点都有作用,反而更易被发现;②没有考虑各成分在药物中含量的差异,致使一些主成分作用不明显。为求改进,可考虑采用加权网络构建二阶异质网络,分析药物中各成分含量比例及对靶点作用的强弱关系,量化后,赋予成分-靶点权重;同时优化生物系统功能模式识别算法,使模块划分更符合生物系统特点。

本研究采用的分子对接结合模式分析的网络药理学方法具有高通量筛选,以及能够解析生物网络多成分、多靶点作用的特点,适合于阐述中药复方的物质基础及作用机制,为同类研究提供了方法学参考。

REFERENCES

- [1] LIU Z H, SUN X B. Network pharmacology: new opportunity for the modernization of traditional Chinese medicine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报) 2012 47(6): 696-703.
- [2] YU W Y. A randomized controlled study on Compound Danshen Dripping Pills in treating atherosclerosis [J]. *J Pract Tradit Chin Int Med* (实用中医内科杂志) 2013 27(3s): 119-121.
- [3] LI X, WU L H, FAN X H *et al.* Study on network pharmacology of the main active ingredients in Compound Salvia Miltiorrhiza [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 2011 36(21): 2911-2915.
- [4] YANG E B, LI Z M. The Lipinski's rules in drug discovery [J]. *Chemistry* (化学通报) 2006 69(1): 16-19.
- [5] CHENG T, LI Q, ZHOU Z *et al.* Structure-based virtual screening for drug discovery: a problem-centric review [J]. *AAPS J*, 2012 14(1): 133-141.
- [6] CHUN W Y. PaDEL-Descriptor: an open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints [J]. *J Comput Chem* 2010 32(7): 1466-1474.
- [7] ZHANG Y Y. Identify and compare the core module from network of protein-protein interaction after different compound of Qingkailing treatments on cerebral ischemia models [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences 2014.
- [8] KALATHUR R K R, PINTO J P, HEMANDEZ-PIETO M A *et al.* UniHI 7: an enhanced database for retrieval and interactive analysis of human molecular interaction networks [J]. *Nucleic Acids Res* 2014 42(Database issue): 408-414.
- [9] YU L. Modular structure identification in protein interaction networks [D]. Xi'an: Xidian University 2011.
- [10] SONG J L, ZHANG F B, TANG S H *et al.* A module analysis approach to investigate molecular mechanism of TCM formula: a trial on Shu-feng-jie-du formula [J]. *Evid Bas Compl Alter Med*, 2013 2013: 731370.
- [11] JENNIFER E C, EKTORAS G, CLAUDIA M. The expression and functions of toll-like receptors in atherosclerosis [J]. *Mediators Inflamm*, 2010 2010: 393946.
- [12] NEVE B P, FRUCHART J C, BART S. Role of the peroxisome proliferator activateds (PPAR) in atherosclerosis [J]. *Biochem Pharmacol* 2000 60(8): 1245-1250.
- [13] WANG B Y, WU X Y, FAN G W. Pharmacologic mechanism for protective effects of danshensu on cardiovascular system [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药) 2014 45(17): 2571-2575.
- [14] HAN C J, LIN R, LIU J T *et al.* Protection of vascular endothelial cells from ox-LDL induced injury by Protocate chualdehyde [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药) 2007 30(12): 1541-1544.
- [15] ZHANG C Y, GUO L L, WANG J. Advance of pharmacological studies on protocatechuic aldehyde [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志) 2013 19(23): 338-342.
- [16] TANG X L, LIU J X, LI L. Pharmacological effects of organic acids in Chinese herbs and its application in cardiovascular diseases [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志) 2012 18(5): 243-246.
- [17] YANG J L, ZHU X L, LI C W *et al.* Advances in pharmacological studies of caffeic acid and its derivatives [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志) 2013 48(8): 577-582.
- [18] CHEN F Y, GUO R, ZHANG B K. Advances in cardiovascular effects of tanshinone II_A [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 2015 40(9): 1649-1653.
- [19] JING R W, LAU K M, HON P M *et al.* Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Current Med Chem* 2005 12(2): 237-246.
- [20] SHI T T, BAI J P, LIANG Y Q *et al.* Effects of apigenin on apoptosis and the expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3 in rats with myocardial ischemia / reperfusion injury [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报) 2011 27(5): 666-671.
- [21] SUN J, YU S C. Research progress of quercetin [J]. *Chin Med J Res Prac* (现代中药研究与实践) 2011 25(3): 85-88.
- [22] LIU Y, LI Y Y, FENG T T *et al.* Experimental study on the anti-inflammatory and analgesic effects of luteolin [J]. *J Qiqihar Med Coll* (齐齐哈尔医学院学报) 2010 31(15): 2368-2370.

(收稿日期: 2016-10-19)