

基于UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS和网络药理学的紫贝颗粒治疗感染后咳嗽的药效物质基础及作用机制

张紫岚¹, 王 婷^{2, 3, 4}, 亢倩丽⁵, 邓方圆⁵, 林红梅^{3, 4, 6*}

1. 北京中医药大学 生命科学学院, 北京 100029

2. 国家中医药管理局名医名方重点实验室, 北京 100029

3. 北京中医药大学 北京中医药研究院 中药新药研发中心, 北京 100029

4. 国家药品监督管理局中医药研究与评价重点实验室, 北京 100029

5. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100029

6. 北京中医药大学 北京中医药研究院, 北京 100029

摘要: **目的** 基于UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS技术鉴定紫贝颗粒(ZBG)水提取物中化学成分,并结合网络药理学和分子对接方法分析ZBG治疗感染后咳嗽(PIC)的药效物质基础及作用机制。**方法** 采用UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS技术,表征ZBG的化学成分,并导入中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、PharmMapper数据库检索药物成分靶点;利用GeneCards、OMIM数据库收集PIC相关疾病靶点,取交集后利用STRING数据库、Cytoscape软件构建“ZBG成分-共有靶点”蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络并筛选核心成分与核心靶点。利用DAVID数据库对共同靶点进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,借助分子对接预测核心成分和关键靶点的结合能力。**结果** 通过质谱分析鉴定得到ZBG水提取物化学成分109个,结合数据库筛选得到ZBG治疗PIC的潜在活性成分90个,与PIC治疗相关的作用靶点122个。其中,芦丁、柚皮苷、黄芩苷、异绿原酸A、香叶木苷、甘草酸等14个成分为ZBG治疗PIC的核心成分,表皮生长因子受体(EGFR)、非受体酪氨酸蛋白激酶(SRC)、丝氨酸和苏氨酸激酶1(AKT1)、磷脂酰肌醇3-激酶调控亚基(PIK3R1)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK8)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)等6个靶点为ZBG治疗PIC的关键靶点。结合KEGG富集结果表明,ZBG治疗PIC的机制与EGFR信号通路、MAPK信号通路和PI3K-Akt信号通路有关。分子对接结果表明ZBG中14个核心成分与6个关键靶点均有较好的结合活性,其结合模式主要以氢键为主。**结论** ZBG可通过多成分、多靶点、多通路治疗PIC,为后续深入揭示其药效物质基础及作用机制提供了参考。

关键词: 紫贝颗粒; 感染后咳嗽; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS; 网络药理学; 分子对接; 芦丁; 柚皮苷; 黄芩苷; 异绿原酸A; 香叶木苷; 甘草酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2024)12-2726-19

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.12.004

Study on pharmacodynamic substances and mechanism of Zibei Granules in treatment of postinfectious cough based on UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS and network pharmacology

ZHANG Zilan¹, WANG Ting^{2, 3, 4}, KANG Qianli⁵, DENG Fangyuan⁵, LIN Hongmei^{3, 4, 6}

1. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. Key Laboratory of Famous Doctors and Famous Prescriptions of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China

3. Centre for the Development of New Chinese Medicines, Beijing Research Institute of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

4. National Medical Products Administration Key Laboratory for Research and Evaluation of Traditional Chinese Medicine,

收稿日期: 2024-06-19

基金项目: 北京中医药大学“解码中医”协同攻关项目(90010961020145)

第一作者: 张紫岚(1999—),女,硕士研究生,研究方向为中药新药研发。E-mail: Zz19990312@163.com

*通信作者: 林红梅,女,副研究员,研究方向为中药新药研发与中药药效物质基础。E-mail: Lhmei1014@163.com

Beijing 100029, China

5. School of Chinese Materia Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

6. Beijing Research Institute of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To identify the chemical constituents in Zibei Granules (ZBG) by ultrahigh performance liquid chromatography-electrostatic field Orbitrap MS (UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS), and to analyze the pharmacological basis of its efficacy in the treatment of postinfectious cough (PIC) and its mechanism of action by combining with network pharmacology and molecular docking. **Methods** UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS was used to characterize the chemical constituents of ZBG. TCMSP and PharmMapper databases were used to screen the active components and related targets. The targets of PIC were searched using GeneCards and OMIM databases. The intersection of the main components of ZBG and the targets related to PIC was taken, and the "ZBG components-common targets" network and protein-protein interaction network were constructed by STRING database and Cytoscape software to screen for core components and core targets. Gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed by DAVID database. Finally, the binding ability of core components and potential key targets were predicted by molecular docking. **Results** A total of 109 ingredients were identified from the water extract of ZBG by UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS. 90 potential active ingredients and 122 targets of ZBG for the treatment of PIC were screened out through network pharmacology analysis, of which 14 core components include rutin, naringin, baicalin and so on. The six key targets of PIC involved EGFR, SRC, AKT1, PIK3R1, MAPK8, MMP-9. The KEGG enrichment results indicated that the key mechanism of ZBG against PIC may through the synergistic regulation of EGFR, MAPK and PI3K-Akt signaling pathway. Molecular docking results showed that the core components have a good affinity with the key targets, and their binding modes were mainly based on hydrogen bonding. **Conclusion** ZBG has the characteristics of multi-components, multi-targets and multi-pathways effects on the treatment of PIC. It would provide a scientific foundation for the further research on active components and mechanisms of ZBG in treating PIC.

Key words: Zibei Granules; postinfectious cough; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS; network pharmacology; molecular docking; rutin; naringin; baicalin; isochlorogenic acid A; diosmin; glycyrrhizic acid

感染后咳嗽(PIC)常继发于呼吸道感染,在急性期症状消失后,咳嗽仍迁延难愈,虽胸片检查无明显异常,但仍存在刺激性干咳或咳少量白色黏痰等,通常持续3~8周,甚至发展为难治性慢性咳嗽^[1]。据统计,上呼吸道感染的发病率为42.83%^[2],其中约1/4的患者被诊断为PIC,在上呼吸道感染高发季节,PIC发病率可高达50%^[3]。随着空气污染的加重、新型病原体的侵袭等多种因素的影响,PIC发病率逐年升高。目前,临床上西医治疗PIC以改善症状为主,常用镇咳药、抗组胺药、白三烯受体拮抗剂等进行治疗,但易反复发作且常伴有较多不良反应,如耐药性、成瘾性、胃肠道反应等^[4]。

PIC在中医学中被称为“久咳”,主要病机为风邪恋肺所致的肺失宣降、肺气上逆^[5]。“祛风宣肺”是治疗PIC的基础疗法^[6]。中医药以辨证论治治疗PIC,在缓解症状及缩短病程方面被越来越多的患者认可,已成为治疗PIC药物研究的热点。紫贝颗粒(ZBG)是基于经典名方二陈汤、止嗽散加减化裁而来的临床经验方,共由紫菀、化橘红、浙贝母、法半夏、荆芥、百部、桔梗、白前、蒲公英、茯苓10味药材组成,全方在“祛风宣肺”的基础上兼治痰湿,治

疗PIC疗效显著。但ZBG治疗PIC的药效物质基础及作用机制尚不明确,因此,本研究利用质谱鉴定ZBG水提物的化学成分,并结合网络药理学及分子对接技术分析ZBG治疗PIC的作用机制,为深入探讨ZBG的药效物质基础提供理论依据。

1 材料

1.1 试药

紫菀、化橘红、荆芥、浙贝母、法半夏、百部、茯苓、蒲公英、桔梗、白前(批号:20220120、20220519、20220420、20220613、20220527、20220121、20220427、20220611、20220321、20211027,均购自北京本草方源药业有限公司),上述饮片均经北京中医药大学中药学院王晶娟教授鉴定,分别为菊科植物紫菀 *Aster tataricus* L.f. 的干燥根和根茎、芸香科植物化州柚 *Citrus grandis* ‘Tomentosa’ 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮、唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq. 的干燥地上部分、百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎、天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎的炮制加工品、百部科植物直立百部 *Stemona sessilifolia* (Miq.) Miq. 的干燥块根、多

孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核、菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz. 的干燥全草、桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根、萝藦科植物柳叶白前 *Cynanchum stauntonii* (Decne.) Schltr. ex Levl. 的干燥根茎和根。

柚皮苷、桔梗皂苷 D、咖啡酸(批号:110722-202116、111851-202209、110885-201703,质量分数93.5%、97.3%、99.7%,中国食品药品检定研究院);绿原酸、隐绿原酸、新绿原酸、原儿茶酸(批号:A22GB158496、M06GB147634、D23GB172337、W10D10B104178,源叶生物科技有限公司,质量分数均 $\geq 98\%$);木犀草素(批号:13537,质量分数 $\geq 98\%$,上海诗丹德标准技术服务有限公司);流动相所用甲醇、乙腈、甲酸(色谱级,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);水(杭州娃哈哈集团有限公司);其余试剂为分析纯。

1.2 仪器

Q-Exactive-Orbitrap 四极杆-静电场轨道阱质谱仪:配有热喷雾离子源(HESI)、Xcalibur 4.1 质谱工作站、Vanquish 超高效液相色谱系统:含四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、DAD 检测器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),RE-3000A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-III 循环水真空泵(上海亚荣生化仪器厂),DJB-1030 低温恒温槽(常州普天仪器制造有限公司),KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),SQP 型电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司),ME204/02 系列分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司),电热套(北京科伟永兴仪器有限公司)。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C_{18} (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m),流动相为 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~10 min, 5%~25%B; 10~25 min, 25%~50%B; 25~40 min, 50%~85%B; 40~42 min, 85%~100%B; 42~45 min, 100%B; 45~46 min, 100%~5%B; 46~50 min, 5%B; 柱温:30 $^{\circ}$ C; 体积流量:0.3 mL $\cdot$ min $^{-1}$;进样量:5 μ L。

2.2 质谱条件

离子源为电喷雾离子源(HESI),采用正负离子检测模式,正离子模式:离子源温度 400 $^{\circ}$ C,喷雾电压 3 500 V, S-Lens RF Level 55,毛细管温度 320 $^{\circ}$ C,

鞘气和辅助气均为高纯氮气(纯度 $>99.99\%$),鞘气体积流量:40 arb,辅助气体积流量:20 arb。负离子模式:离子源温度 350 $^{\circ}$ C,电离源电压 3 000 V, S-Lens RF Level 55,鞘气和辅助气均为高纯氮气(纯度 $>99.99\%$),鞘气体积流量:35 arb,辅助气体积流量:10 arb。扫描模式:一级全扫描(Full Scan, m/z 100~1 500)与数据依赖性二级质谱扫描(data-dependent acquisition) ddMS 2 ;分辨率:70 000(Full Scan),17 500(MS/MS);阶梯碰撞能量 20、40、60 V。

2.3 ZBG 样品制备

ZBG 处方由紫菀、化橘红、浙贝母、荆芥、百部、法半夏、茯苓、桔梗、白前、蒲公英(各 6.67 g)组成。称取 2 倍处方量饮片,加 10 倍量水,回流提取 2 次,每次 1.5 h,200 目滤过,采用连续浓缩的方式进行浓缩,60 $^{\circ}$ C 减压浓缩至相对密度为 1.25~1.30,减压干燥(80 $^{\circ}$ C),粉碎,过 4 号筛,得干膏粉。

2.4 ZBG 化学成分分析

2.4.1 供试品溶液的制备 取干膏粉 1 g,精密称定,置于 50 mL 锥形瓶中,加入 80% 甲醇 20 mL,称定质量,超声处理 20 min,冷却后补重,摇匀,滤过,即得。

2.4.2 对照品溶液的制备 称取各对照品适量,精密称定,分别置于 10 mL 量瓶中,加入适量 80% 甲醇,超声使溶解,室温静置后 80% 甲醇定容至 10 mL,摇匀,制得每毫升分别含原儿茶酸 1.012 mg、新绿原酸 1.024 mg、绿原酸 0.999 mg、隐绿原酸 0.987 mg、咖啡酸 1.006 mg、木犀草素 0.979 mg、柚皮苷 0.767 mg、桔梗皂苷 D 0.582 mg 的对照品母液。分别吸取各对照品母液 2 mL 至 25 mL 容量瓶,80% 甲醇定容至刻度,制得混合对照品溶液。0.22 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4.3 化合物的鉴定 将数据导入 Xcalibur 软件进行分析,并查阅相关文献,建立方中 10 味中药化学成分数据库。利用质谱测得各化合物的精确相对分子质量,结合各化合物峰的二级质谱碎片信息及保留时间,并结合已知化合物对照品的特征离子、质谱裂解特征和保留时间进行鉴定。无对照品的化合物通过其质谱裂解特征、对比同类化合物的质谱裂解规律,并参考文献进行推测。

2.5 网络药理学分析

2.5.1 ZBG 化学成分作用靶点筛选 将“2.4.3”项已鉴定的化学成分在 Pubchem (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库进行检索,查询并下载相应化学成分 2D 结构的 SDF 文件,用于靶点的预测。在

中药系统药理学数据库与分析平台 TCMSP 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 中检索成分靶点; 将 SDF 格式文件导入 PharmMapper 数据库 (<https://stitch.embl.de>), 选择“Human protein targets only”, 将上述结果通过 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org>) 转化成标准化的基因名称并删去重复靶点, 即得 ZBG 化学成分的潜在靶点。

2.5.2 PIC 疾病相关靶点及药物-疾病靶点筛选 在 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org>) 中选择“Gene Map”并以“postinfectious cough”“cough after infection”为关键词, 以“Homo sapiens”为限定词进行检索; 以相同的关键词及限定词在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org>) 中检索, 筛选“relevance score” $\geq$ 中位数的疾病靶点, 删除重复靶点, 获得 PIC 相关靶点。利用 Venny 绘制工具 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 获得 ZBG 化学成分与 PIC 的共同靶点。

2.5.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建 将共同靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org>) 进行分析, 物种设置为“Homo sapiens”, 蛋白交互参数评分“medium confidence >0.7 ”, 结果保存为 tsv 格式文件并导入 Cytoscape 3.9.1 软件中, 进行可视化处理, 构建 PPI 网络, 利用插件 Centiscape 2.2 计算度中心性(DC)、中介中心性(BC)、紧密中心性(CC), 选择3个参数值均排名前20的靶点为核心靶点, 气道上皮细胞的受损、气道炎症和呼吸道黏液高分泌是 PIC 的主要发病机制^[7], 因此选择参与修复受损上皮细胞、调控气道炎症及呼吸道黏液高分泌的核心靶点为关键靶点。

2.5.4 “ZBG 成分-共同靶点”网络的构建 将共同靶点对应的化学成分与共同靶点整合处理, 导入 Cytoscape 3.9.1 软件构建“ZBG 成分-共同靶点”网络, 计算 DC、BC、CC 3 个参数值, 选取 DC、BC、CC 均排名前20的成分为核心成分。

2.5.5 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将共同靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov>), 物种设置为“Homo sapiens”, 利用“Functional Annotation”功能, 进行 GO 和 KEGG 通路富集分析, 并将结果导入微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>), 对 GO 富集结果中 P 值排序前10的条目与 KEGG 富集结果中 P 值排序前20的条目分别绘制可视化网络图。

2.6 分子对接验证

选择 ZBG 中核心成分与参与修复受损上皮细胞、调控气道炎症及气道黏液高分泌的关键靶点蛋白进行分子对接。将 ZBG 中化学成分 2D 结构的 SDF 格式输入 Chem3D 软件进行处理, 保存能量最小化。通过 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 获取蛋白 3D 结构, 运用 Discovery Studio 2019 软件对蛋白进行去水和配体、加氢等预处理, 优化蛋白。利用 AutoDockTools 1.5.7 软件检测小分子配体的扭转中心和扭转键, 并确保“grid box”全包裹蛋白后, 借助 AutoDock Vina 对蛋白和小分子配体进行半柔性对接(设置对接参数为“cpu=3”、“exhaustiveness=10”、“num modes=20”, 其余参数默认), 获取结合能值。以结合能值为评价指标, 将“Affinity <-25.1 kJ $\cdot$ mol $^{-1}$ ”的结合能数值作为阈值, 数值越小表明该化合物与靶点的结合活性越好。将不同靶点与各化合物结合最稳定的结合模式于 Pymol 中可视化处理。

3 结果

3.1 基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术鉴定 ZBG 化学成分

对 ZBG 水提取物中的化学成分进行分析鉴定, 共鉴定出 109 个化合物, 其中黄酮类化合物 27 个、三萜类化合物 27 个、生物碱类化合物 17 个、苯丙素类化合物 22 个、肽类化合物 7 个及其他类化合物 9 个, 见表 1。ZBG 水提取物及对照品溶液总离子流图见图 1。

表 1 ZBG 中化学成分鉴定结果

Table 1 Identification of components in ZBG

序号	成分名称	t_R /min	分子式	m/z		误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子模式	MS/MS	分类
				理论值	实际值				
1	异夏佛塔苷 ^[8]	7.52	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.140 1	563.140 4	0.57	[M-H] ⁻	503.120 1, 473.106 8, 443.097 7, 383.075 8, 353.065 8	A
2	甘草苷 ^[9]	8.60	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	417.118 6	417.119 9	3.22	[M-H] ⁻	255.067 5, 119.050 7, 135.008 9	A
3	芦丁 ^[10]	8.71	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609.145 6	609.148 4	4.66	[M-H] ⁻	300.029 2, 151.003 2	A

表1 (续)

序号	成分名称	t_R/min	分子式	m/z		误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子模式	MS/MS	分类
				理论值	实际值				
4	异甘草苷 ^[9]	8.80	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	417.118 6	417.119 8	2.98	[M-H] ⁻	255.067 4, 135.008 9, 119.050 7	A
5	木犀草素-7- <i>O</i> -芸香糖苷 ^[11]	8.84	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.150 6	593.154 0	5.66	[M-H] ⁻	285.039 3, 151.003 7, 133.029 5	A
6	异龙脑苷 ^[12]	8.87	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	551.175 4	551.175 3	-0.13	[M+H] ⁺	257.080 2, 137.022 5	A
7	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[13]	9.06	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.087 7	463.089 0	2.91	[M-H] ⁻	301.036 6, 300.029 8, 151.003 8	A
8	山柰酚-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 ^[8]	9.14	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.107 9	449.107 9	0.05	[M+H] ⁺	287.056 3, 153.017 3	A
9	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷/木犀草素-7-半乳糖醛酸苷 ^[13]	9.22	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.092 7	447.095 0	5.06	[M-H] ⁻	285.039 4, 133.029 6, 151.003 8	A
10	山柰酚-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖-7- <i>O</i> -α- <i>L</i> -鼠李糖苷 ^[14]	10.26	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	593.150 1	593.153 9	6.41	[M-H] ⁻	285.039 9, 257.045 7, 429.087 1	A
11	山柰酚-3- <i>O</i> -洋槐糖苷 ^[8]	9.26	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.165 2	595.162 9	-3.86	[M+H] ⁺	287.053 0, 153.017 4	A
12	异鼠李素-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖 ^[14]	10.31	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₂	477.102 8	477.104 7	4.08	[M-H] ⁻	315.053 1, 300.029 3	A
13	野漆树苷 ^[10]	10.38	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	579.170 3	579.172 3	3.48	[M+H] ⁺	271.060 9	A
14*	柚皮苷 ^[15]	10.49	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	579.171 4	579.170 8	-1.04	[M-H] ⁻	271.063 8, 459.115 1, 151.003 4, 119.051 0	A
15	柚皮素 ^[16]	10.54	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	273.075 2	273.075 4	0.73	[M+H] ⁺	153.018 8, 147.044 3	A
16	香叶木苷 ^[17]	10.57	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	607.166 3	607.168 0	2.81	[M-H] ⁻	299.056 4, 284.032 5	A
17	黄芩苷 ^[8]	10.62	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	447.091 6	447.092 3	1.48	[M+H] ⁺	271.060 7	A
18	新橙皮苷 ^[10]	10.74	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	611.196 5	611.196 4	-0.16	[M+H] ⁺	449.144 1, 245.043 3, 303.086 2	A
19	橙皮苷 ^[8]	10.94	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	611.197 1	611.195 9	-1.93	[M+H] ⁺	303.085 9, 263.055 2, 177.053 7	A
20	甘草素 4'-邻-阿朴糖基-邻-葡萄糖苷 ^[12]	11.99	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	551.175 4	551.175 3	-0.13	[M+H] ⁺	257.080 2, 137.022 4	A
21*	木犀草素	13.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285.039 9	285.041 3	4.87	[M-H] ⁻	133.029 4, 151.003 6, 175.041 7	A
22	槲皮素 ^[14]	13.30	C ₁₅ H ₉ O ₇	301.034 3	301.035 8	5.05	[M-H] ⁻	151.003 4, 178.999 1, 257.045 5, 273.039 7	A
23	香叶木素 ^[18]	15.73	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301.070 1	301.070 5	1.27	[M+H] ⁺	301.068 6, 286.046 2, 229.049 2, 153.017 3	A
24	羟基芫花素 ^[19]	13.58	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	299.055 6	299.056 9	4.47	[M-H] ⁻	284.033 4, 256.037 0, 227.034 9	A
25	染料木素 ^[8]	10.35	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.059 6	271.058 7	-3.14	[M+H] ⁺	153.018 4, 91.054 7	A
26	甲基槲皮素 ^[14]	16.12	C ₁₆ H ₁₁ O ₇	315.049 9	315.051 8	5.94	[M-H] ⁻	300.028 7, 271.026 9, 151.003 4	A
27	芹菜素 ^[8]	15.26	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.060 1	271.060 0	-0.37	[M+H] ⁺	243.068 2, 197.059 2, 153.017 2, 165.069 2	A
28	桔梗皂苷 G ₁ ^[20]	11.39	C ₆₄ H ₁₀₄ O ₃₄	1 415.633 1	1 415.634 6	1.08	[M-H] ⁻	1 005.502 7, 843.435 5, 681.392 0, 519.332 2	B

表1 (续)

序号	成分名称	t_R/min	分子式	m/z		误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子模式	MS/MS	分类
				理论值	实际值				
29	去芹糖桔梗皂苷 $D_3^{[21]}$	12.58	$C_{58}H_{94}O_{29}$	1 253.580 3	1 253.577 5	-2.19	$[M-H]^-$	843.446 9, 519.334 9, 825.432 4, 1163.539 8, 471.315 4	B
30	桔梗皂苷 $D_3^{[21]}$	12.76	$C_{63}H_{102}O_{33}$	1 385.622 5	1 385.623 6	0.79	$[M-H]^-$	1 295.578 6, 843.433 1, 469.155 3, 1 253.580 1, 519.331 1	B
31	桔梗皂苷 K ^[20]	12.78	$C_{42}H_{68}O_{17}$	845.452 4	845.451 9	-0.57	$[M+H]^+$	683.391 1, 521.346 9, 485.325 9	B
32	远志皂苷 $D_3^{[21]}$	13.25	$C_{63}H_{102}O_{32}$	1 369.627 6	1 369.630 3	1.97	$[M-H]^-$	1 279.608 3, 827.437 4, 469.158 3, 1 237.572 1, 503.336 0	B
33	桔梗皂苷 F ^[20]	13.40	$C_{47}H_{76}O_{20}$	1 005.489 8	1 005.490 2	0.39	$[M+COOH]^-$	943.479 9, 519.330 2, 471.311 4, 383.122 2, 457.337 0	B
34	桔梗皂苷 K 异构体 ^[20]	13.44	$C_{42}H_{68}O_{17}$	845.452 4	845.452 3	-0.09	$[M+H]^+$	683.404 1, 521.347 1, 485.326 1	B
35	去芹糖桔梗皂苷 $D_2^{[21]}$	14.26	$C_{58}H_{94}O_{29}$	1 253.580 3	1 253.585 6	4.27	$[M-H]^-$	1 163.556 3, 843.445 4, 519.334 2, 825.425 4, 471.314 8	B
36	桔梗二酸 A ^[20]	14.30	$C_{57}H_{90}O_{29}$	1 239.563 5	1 239.567 3	3.06	$[M+H]^+$	697.382 1	B
37	去芹糖桔梗皂苷 D ^[21]	14.34	$C_{52}H_{84}O_{24}$	1 093.542 0	1 093.540 8	-1.08	$[M+H]^+$	485.326 7, 503.339 4, 763.430 2	B
38	3"-O-乙酰-桔梗皂苷 J ^[21]	14.48	$C_{59}H_{92}O_{30}$	1 279.559 5	1 279.559 4	-0.09	$[M-H]^-$	1 237.548 5, 695.359 1, 519.333 7	B
39	桔梗皂苷 $D_2^{[21]}$	14.48	$C_{63}H_{102}O_{33}$	1 385.622 5	1 385.622 4	-0.08	$[M-H]^-$	1 253.578 4, 843.432 2, 519.330 6, 1 295.576 8, 469.154 9	B
40*	桔梗皂苷 D	14.57	$C_{57}H_{92}O_{28}$	1 225.584 2	1 225.580 4	-3.13	$[M+H]^+$	683.402 2, 521.345 9, 485.325 0	B
41	远志皂苷 $D_2^{[21]}$	14.62	$C_{63}H_{102}O_{32}$	1 369.627 6	1 369.631 8	3.07	$[M-H]^-$	503.341 2, 1 279.585 8, 827.448 2, 469.155 7, 665.398 1	B
42	桔梗皂苷 C ^[21]	14.74	$C_{59}H_{94}O_{29}$	1 265.580 3	1 265.584 9	3.67	$[M-H]^-$	1 223.574 1, 681.389 0, 723.392 0, 469.154 6	B
43	远志皂苷 D ^[21]	14.80	$C_{57}H_{92}O_{27}$	1 207.574 8	1 207.577 3	2.09	$[M-H]^-$	1 057.516 4, 665.398 3, 469.155 9	B
44	桔梗皂苷 L ^[20]	14.85	$C_{42}H_{68}O_{17}$	845.452 4	845.452 2	-0.21	$[M+H]^+$	683.388 3, 521.345 0, 485.326 8	B
45	3"-O-乙酰-远志皂苷 D ^[21]	15.02	$C_{59}H_{94}O_{28}$	1 249.585 3	1 249.586 6	1.01	$[M-H]^-$	1 207.572 7, 1 189.577 0, 665.399 0, 469.158 7, 707.402 6	B
46	2"-O-乙酰-桔梗皂苷 J ^[21]	15.29	$C_{59}H_{92}O_{30}$	1 279.559 5	1 279.561 1	1.24	$[M-H]^-$	1 237.560 8, 695.359 9, 519.334 3, 427.321 5	B
47	Astersaponin A ^[8]	15.47	$C_{67}H_{108}O_{34}$	1 455.664 4	1 455.672 2	5.38	$[M-H]^-$	1 323.625 2, 781.440 0, 673.218 7	B
48	桔梗皂苷 A ^[21]	15.49	$C_{59}H_{94}O_{29}$	1 265.580 3	1 265.588 3	6.36	$[M-H]^-$	1 223.572 5, 681.388 3, 723.391 3, 469.156 6	B
49	2"-O-乙酰-远志皂苷 D ^[21]	15.76	$C_{59}H_{94}O_{28}$	1 249.585 3	1 249.587 7	1.89	$[M-H]^-$	1 207.575 6, 1 189.560 4, 665.396 1, 469.157 0, 707.403 9, 1 159.544 1	B
50	3-O-β-D-葡萄糖醛酸-桔梗皂苷元 ^[21]	16.83	$C_{36}H_{56}O_{13}$	695.364 3	695.366 0	2.49	$[M-H]^-$	519.332 7, 471.313 5, 453.300 5, 391.304 2	B

表1 (续)

序号	成分名称	t_R/min	分子式	m/z		误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子模式	MS/MS	分类
				理论值	实际值				
51	甘草酸 ^[9]	19.70	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$	823.410 5	823.409 8	-0.87	$[\text{M}+\text{H}]^+$	647.376 9、471.346 6、453.336 2	B
52	甘草酸铵 ^[9]	19.71	$\text{C}_{42}\text{H}_{65}\text{NO}_{16}$	840.437 1	840.438 3	1.47	$[\text{M}+\text{H}]^+$	647.374 1、471.347 3、453.336 9	B
53	茯苓酸B ^[22]	30.06	$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_5$	483.311 0	483.313 2	4.45	$[\text{M}-\text{H}]^-$	409.274 0、211.150 1、362.724 2	B
54	熊果酸 ^[18]	37.09	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	455.352 5	455.353 9	3.03	$[\text{M}-\text{H}]^-$	162.960 4	B
55	金刚大碱 ^[23]	5.44	$\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{NO}_4$	322.201 3	322.201 4	0.36	$[\text{M}+\text{H}]^+$	248.165 1、136.112 1	C
56	新对叶百部碱 ^[23]	8.80	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_4$	376.247 7	376.247 3	-1.03	$[\text{M}+\text{H}]^+$	302.211 5	C
57	西贝母碱昔 ^[14]	8.20	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{NO}_8$	592.383 8	592.383 7	-0.25	$[\text{M}+\text{H}]^+$	574.376 2、138.127 6	C
58	对叶百部碱 ^[23]	9.19	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_4$	376.247 7	376.245 7	-5.28	$[\text{M}+\text{H}]^+$	302.211 3、84.081 3	C
59	浙贝宁昔 ^[24]	9.39	$\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{NO}_8$	594.400 1	594.399 4	-1.14	$[\text{M}+\text{H}]^+$	576.391 8、414.338 8、396.325 3、 112.112 5、98.096 8	C
60	浙贝酮葡萄糖昔 ^[25]	9.55	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{NO}_8$	592.383 8	592.383 8	-0.08	$[\text{M}+\text{H}]^+$	574.376 0、412.322 4	C
61	贝母辛 ^[26]	10.02	$\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{NO}_3$	428.315 9	428.316 8	2.16	$[\text{M}+\text{H}]^+$	410.306 8、114.091 3、126.127 2、 67.055 1	C
62	贝母素甲 ^[24]	10.54	$\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{NO}_3$	432.347 2	432.347 1	-0.18	$[\text{M}+\text{H}]^+$	432.348 0、414.340 3、398.306 0、 112.112 5、98.096 8	C
63	异浙贝宁昔 ^[24]	11.03	$\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{NO}_8$	594.400 1	594.399 2	-1.47	$[\text{M}+\text{H}]^+$	576.390 9、414.338 3、396.324 8、 112.112 7、98.096 8	C
64	对叶百部碱H ^[23]	11.10	$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_4$	376.247 7	376.247 3	-1.03	$[\text{M}+\text{H}]^+$	302.210 3、136.112 4	C
65	贝母素乙 ^[24]	11.12	$\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_3$	430.331 6	430.331 7	0.29	$[\text{M}+\text{H}]^+$	412.323 0、396.286 6、175.147 5、 98.096 7、68.640 6	C
66	湖贝昔 ^[26]	12.04	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{NO}_8$	592.384 4	592.383 7	-1.14	$[\text{M}+\text{H}]^+$	574.374 8、412.321 7、147.116 7、 98.096 8	C
67	伊贝碱昔A ^[24]	12.20	$\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{NO}_7$	576.389 5	576.390 1	1.08	$[\text{M}+\text{H}]^+$	414.338 8、396.323 4、98.096 6	C
68	异贝母甲素 ^[24]	12.90	$\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{NO}_3$	432.347 2	432.347 5	0.75	$[\text{M}+\text{H}]^+$	432.347 8、414.338 1、398.305 8、 112.111 9、98.097 0	C
69	浙贝甲素昔 ^[25]	13.77	$\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{NO}_7$	578.404 6	578.404 0	-1.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	416.353 8、98.096 8、398.344 0	C
70	去氢鄂贝定碱 ^[27]	13.93	$\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_2$	414.336 7	414.335 8	-2.12	$[\text{M}+\text{H}]^+$	414.338 7、396.325 1、322.869 4、 98.097 0、87.070 1	C
71	浙贝丙素 ^[27]	14.48	$\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_2$	414.336 7	414.335 8	-2.12	$[\text{M}+\text{H}]^+$	414.340 3、396.324 8、112.112 7、 98.096 8、81.070 3	C
72	单咖啡酰酒石酸 ^[11]	3.48	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_9$	311.040 8	311.042 2	4.43	$[\text{M}-\text{H}]^-$	179.035 9、149.009 4	D
73	3-O-对香豆酰基奎宁酸 ^[28]	4.50	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_8$	337.092 3	337.093 1	2.25	$[\text{M}-\text{H}]^-$	163.040 9、191.058 3、119.050 9、 337.093 3	D
74*	新绿原酸	3.76	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	353.087 3	353.090 4	8.90	$[\text{M}-\text{H}]^-$	135.043 1、179.038 2、191.058 4	D
75*	绿原酸	4.75	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	355.102 4	355.102 4	0.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	135.043 4、163.038 5	D
76	3-O-阿魏酸奎宁酸 ^[28]	5.00	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$	367.102 9	367.103 6	1.89	$[\text{M}-\text{H}]^-$	193.050 6、173.043 7、134.037 9、 111.046 3、93.034 7	D
77*	隐绿原酸	4.98	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	355.102 4	355.102 2	-0.56	$[\text{M}+\text{H}]^+$	135.043 3、163.038 4、193.048 8	D
78*	咖啡酸	5.51	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	179.034 4	179.035 0	3.16	$[\text{M}-\text{H}]^-$	135.045 6	D
79	5-O-对香豆酰基奎宁酸 ^[28]	6.28	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_8$	337.092 3	337.094 0	4.92	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.056 6、163.041 0、119.050 7、 337.092 1、93.034 8	D

表1 (续)

序号	成分名称	t_R/min	分子式	m/z		误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子模式	MS/MS	分类
				理论值	实际值				
80	4- <i>O</i> -对香豆酰基奎宁酸 ^[28]	6.64	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	337.092 3	337.093 1	2.25	[M-H] ⁻	173.046 1、163.041 1、119.049 8、191.053 6、337.092 4、155.035 4	D
81	3,4-二咖啡酰奎宁酸 ^[8]	6.89	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 5	515.121 3	3.45	[M-H] ⁻	353.090 7、335.076 2、191.057 9、179.033 2	D
82	4- <i>O</i> -阿魏酸奎宁酸 ^[28]	7.07	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	367.102 9	367.103 7	2.16	[M-H] ⁻	191.056 6、173.046 1、134.037 7、111.045 1、93.034 6	D
83	对香豆酸 ^[11]	7.44	C ₉ H ₈ O ₃	163.040 0	163.040 2	1.08	[M-H] ⁻	119.050 7	D
84	菊苣酸 ^[11]	8.40	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂	473.072 0	473.073 3	2.75	[M-H] ⁻	149.009 4、179.035 9、135.046 0、293.031 8	D
85	3,5-二咖啡酰奎宁酸 ^[8]	9.84	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 5	515.121 7	4.23	[M-H] ⁻	353.091 0、191.053 6、179.037 9、173.044 1、135.046 9	D
86	异毛蕊花糖苷 ^[29]	9.99	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.197 6	623.199 8	3.54	[M-H] ⁻	161.026 0、179.038 2、461.167 6	D
87	洋蓟素 ^[30]	10.02	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 5	515.121 5	3.84	[M-H] ⁻	353.090 3、335.075 8、191.056 5、179.037 6	D
88	4,5-二咖啡酰奎宁酸 ^[8]	10.83	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	515.119 5	515.120 1	1.12	[M-H] ⁻	353.090 6、191.053 5、179.037 7、173.043 9	D
89	迷迭香酸 ^[31]	10.98	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	359.076 7	359.078 6	5.31	[M-H] ⁻	161.024 3、197.045 4、179.038 0、135.047 0	D
90	葵花苷 A ^[28]	11.01	C ₃₂ H ₃₈ O ₁₇	693.203 1	693.205 9	4.08	[M-H] ⁻	517.160 6、499.150 0、193.053 3、175.040 8、160.017 1	D
91	橙皮内酯 ^[15]	11.58	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	261.111 6	261.112 5	3.50	[M+H] ⁺	189.053 9、159.044 7、131.049 0	D
92	蛇床子素 ^[19]	16.16	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	245.116 7	245.117 1	1.74	[M+H] ⁺	189.054 0、131.049 4、103.054 4	D
93	异橙皮内酯 ^[15]	18.22	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	261.111 6	261.111 8	0.82	[M+H] ⁺	189.053 9、131.049 3、159.045 1、147.586 7	D
94	Astin G ^[8]	8.84	C ₂₅ H ₃₅ N ₅ O ₆	502.266 0	502.265 5	-0.95	[M+H] ⁺	474.269 5、270.144 3、183.113 4、155.117 6	E
95	Astin I ^[8]	9.81	C ₂₅ H ₃₄ ClN ₅ O ₇	552.221 4	552.224 8	6.15	[M+H] ⁺	524.227 3、449.154 6、320.104 8、106.066 0	E
96	Astin F ^[8]	10.77	C ₂₅ H ₃₄ ClN ₅ O ₆	536.227 1	536.226 7	-0.70	[M+H] ⁺	508.229 2、451.174 7、304.104 2、106.065 2	E
97	Asterinin A ^[8]	11.37	C ₂₅ H ₃₃ N ₅ O ₈	532.240 2	532.239 8	-0.71	[M+H] ⁺	338.170 0、264.098 8、235.108 0、131.049 0、94.029 5	E
98	Astin A ^[8]	12.32	C ₂₅ H ₃₃ Cl ₂ N ₅ O ₇	586.183 0	586.183 0	0.04	[M+H] ⁺	558.186 6、336.050 8、106.065 1	E
99	Astin J ^[8]	13.22	C ₂₅ H ₃₃ N ₅ O ₇	516.245 3	516.245 9	1.21	[M+H] ⁺	498.234 4、338.170 5、235.108 3、179.082 5	E
100	Astin C ^[8]	13.59	C ₂₅ H ₃₃ Cl ₂ N ₅ O ₆	570.188 1	570.189 4	2.32	[M+H] ⁺	485.135 7、338.064 0、251.034 4、106.065 2、319.073 4、542.190 4	E
101	苹果酸 ^[32]	1.01	C ₄ H ₆ O ₅	133.013 7	133.014 6	6.78	[M-H] ⁻	115.003 7、89.024 5、71.013 8、133.014 8	F
102	原儿茶酸 [*]	2.89	C ₇ H ₆ O ₄	153.018 8	153.019 0	1.41	[M-H] ⁻	109.029 7、91.018 7、108.021 7、81.034 7	F
103	高泛酸 ^[25]	3.55	C ₁₀ H ₁₉ NO ₅	232.118 5	232.119 3	3.46	[M-H] ⁻	102.056 4	F

表1 (续)

序号	成分名称	t_R/min	分子式	m/z		误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子模式	MS/MS	分类
				理论值	实际值				
104	荆芥苷 E ^[18]	8.3	C ₁₆ H ₂₈ O ₈	393.175 0	393.177 8	7.19	[M+ COOH] ⁻	191.053 0, 149.044 1, 119.036 6	F
105	林丹内酯 ^[19]	16.35	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	245.116 7	245.116 9	0.93	[M+H] ⁺	227.107 7, 199.111 8, 173.096 0, 128.026 7, 115.054 4	F
106	青蒿酸 ^[19]	16.70	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.168 7	235.169 3	2.52	[M+H] ⁺	217.158 2, 93.070 3, 91.054 8, 79.054 8	F
107	半夏酸 ^[14]	17.61	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.232 8	329.233 6	2.43	[M-H] ⁻	229.144 1, 211.135 7, 171.102 2	F
108	3-O-(-D-arabinopyranosyl)-(16)-glucopyranosyl)-2,3,16-trihydroxyolcan-12-en-28-oic acid ^[8]	18.94	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₄	783.452 0	783.454 0	2.57	[M+H] ⁺	453.336 6, 407.333 6, 259.082 2	F
109	asterbatanocide C ^[8]	19.97	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₅	811.448 0	811.450 1	2.59	[M-H] ⁻	765.448 9	F

A-黄酮类化合物; B-三萜类化合物; C-生物碱类化合物; D-苯丙素类化合物; E-肽类化合物; F-其他类化合物; *对对照品标定。

A-flavonoids; B-triterpenoids; C-alkaloids; D-phenylpropanoids; E-peptides; F-other compounds; *control calibration.

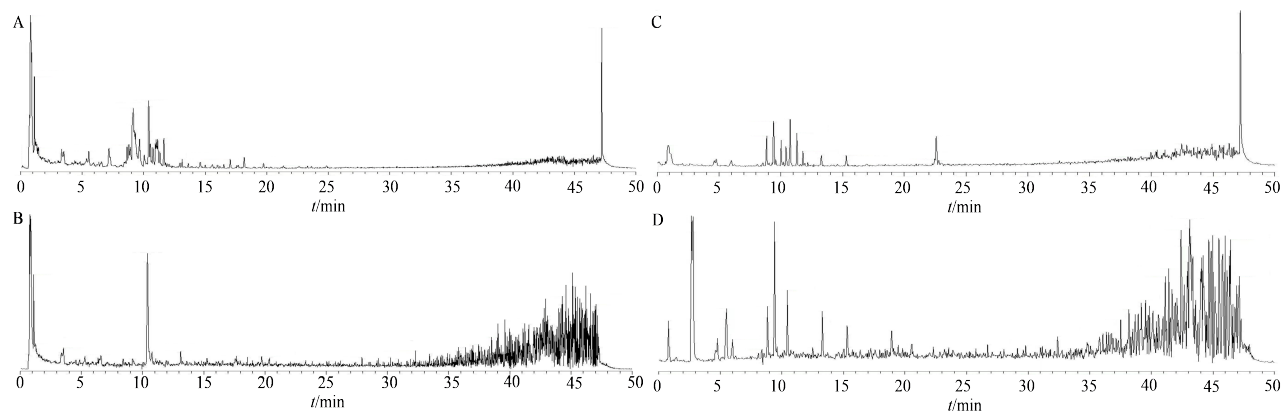
3.2 网络药理学分析

3.2.1 ZBG 化学成分作用靶点的获取 将 ZBG 水提物中鉴定的 109 个化学成分输入 TCMSP、PharmMapper 数据库, 检索作用靶点, 合并去重后得到 381 个靶点。

3.2.2 药物-疾病交集靶点的获取 在 GeneCards、OMIM 数据库中收集得到 PIC 相关靶点 1 155 个, 与 ZBG 化学成分靶点取交集, 筛选出 ZBG 治疗 PIC 的

潜在靶点 122 个(图 2)。

3.2.3 PPI 网络分析 PPI 网络分析结果表明, 该网络共有节点 116 个, 相互作用关系连线 590 条(图 3)。其中, 节点代表靶点, 节点越大, 颜色越深, 靶点的度中心性越大。根据 DC、BC、CC 值进行筛选, 得到 12 个核心靶点, 分别为丝氨酸和苏氨酸激酶 1(AKT1)、非受体酪氨酸蛋白激酶(SRC)、热休克蛋白(HSP90AA1)、表皮生长因子受体(EGFR)、



A、B-ZBG 水提物正、负离子图; C、D-对照品溶液正、负离子图。

A, B-ZBG aqueous extract in positive and negative ion modes; C, D-control solution in positive and negative ion modes

图1 ZBG 及对照品溶液正、负离子模式下总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of ZBG and control solution in positive and negative ion modes

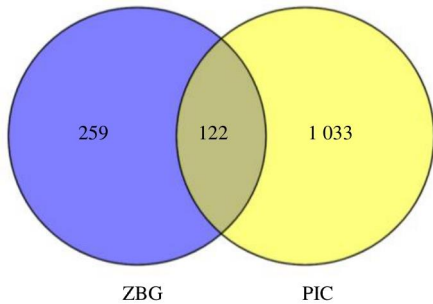


图 2 ZBG-PIC 靶点 Venn 图
Fig. 2 Venn diagram of ZBG and PIC targets

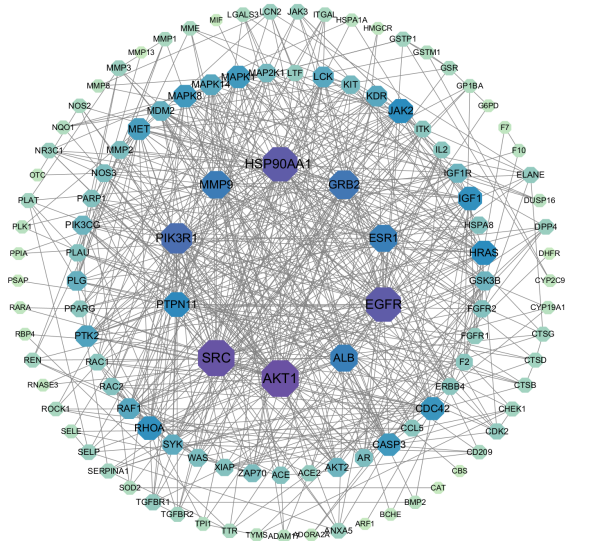


图 3 ZBG 治疗 PIC 的 PPI 网络图
Fig. 3 PPI network of ZBG in treatment of PIC

磷脂酰肌醇 3-激酶调控亚基(PIK3R1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、白蛋白(ALB)、雌激素受体 1(ESR1)、胰岛素样生长因子 1(IGF1)、细胞分裂周期蛋白 42(CDC42)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK8)、胱天蛋白酶 3(CASP3),选取 DC、BC、CC 均排名前 20 的交集靶点($BC>265$, $DC>17$, $CC>0.0039$),共 12 个,见表 2。研究表明,EGFR 与气道上皮细胞的损伤与修复相关^[33],SRC 是气道平滑肌增殖与迁移的重要蛋白^[34],AKT1、PIK3R1、MMP-9、MAPK8 对气道炎症及气道黏液分泌具有调节作用^[35-37],推测上述 6 个靶点可能是 ZBG 干预 PIC 的关键靶点,因此选择 6 个关键靶点进行分子对接验证。

3.2.4 “ZBG 成分-共同靶点”网络分析 “ZBG 成分-共同靶点”网络中共有 212 个节点,5 152 条关系连线,说明 ZBG 治疗 PIC 有 90 个潜在活性成分,既展现了中药治疗多成分、多靶点的特点,又凸显了

表 2 ZBG 治疗 PIC 的核心靶点信息
Table 2 Core target information of ZBG for treatment of PIC

靶点	DC	BC	CC
AKT1	44	1 821.420 9	0.005 0
SRC	43	969.798 8	0.004 7
HSP90AA1	40	1 556.225 2	0.004 5
EGFR	40	1 479.565 6	0.004 9
PIK3R1	33	369.606 7	0.004 2
MMP-9	28	1 631.122 9	0.004 6
ALB	27	2 142.919 1	0.004 5
ESR1	27	726.420 3	0.004 5
IGF1	21	303.562 5	0.004 1
CDC42	20	333.139 5	0.0040
MAPK8	19	634.447 0	0.004 2
CASP3	19	402.655 2	0.004 3

整体性优势(图 4)。甘草酸、甘草酸铵、木犀草素-7-O-芸香糖苷、芦丁、单咖啡酰酒石酸、菊苣酸和异毛蕊花糖苷等 15 个化学成分,与多个共同靶点连接密切,推测可能为 ZBG 的主要药效成分,选取 DC、BC、CC 均排名前 20 的交集成分($BC>448$, $DC>76$, $CC>0.0025$),共 15 个,见表 3。而甘草酸铵是甘草酸的铵盐形式,因此,在分子对接验证中选择除甘草酸铵外的 14 个核心成分与关键靶点进行对接验证。

3.2.5 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 GO 功能富集分析共获得 361 条富集条目($P<0.01$),其中生物过程(BP)264 条、细胞组成(CC)43 条、分子功能(MF)54 条,分别取排名前 10 的条目可视化,结果见图 5。其中,BP 主要涉及凋亡的负向调控、蛋白质磷酸化、调节细胞迁移、正向调控 MAPK 级联反应等,CC 主要集中在细胞外、细胞表面、胞质等区域,MF 主要涉及蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、ATP 结合等。

KEGG 通路富集结果显示,122 个靶点显著富集在 126 条通路上($P<0.01$),按照 P 值排序,对前 20 条通路可视化分析,由图 6 可知,主要包括 VEGF、EGFR、MAPK、PI3K-Akt、T 细胞受体等信号通路,均与炎症密切相关。其中 EGFR、MAPK 及 PI3K-Akt 信号通路在气道上皮组织的损伤与修复、气道炎症以及气道黏液分泌的调控中起到重要作用^[38-39]。因此推测这些信号通路可能是 ZBG 治疗 PIC 的关键机制。

3.3 分子对接分析验证

为了进一步明确 ZBG 治疗 PIC 的作用机制及

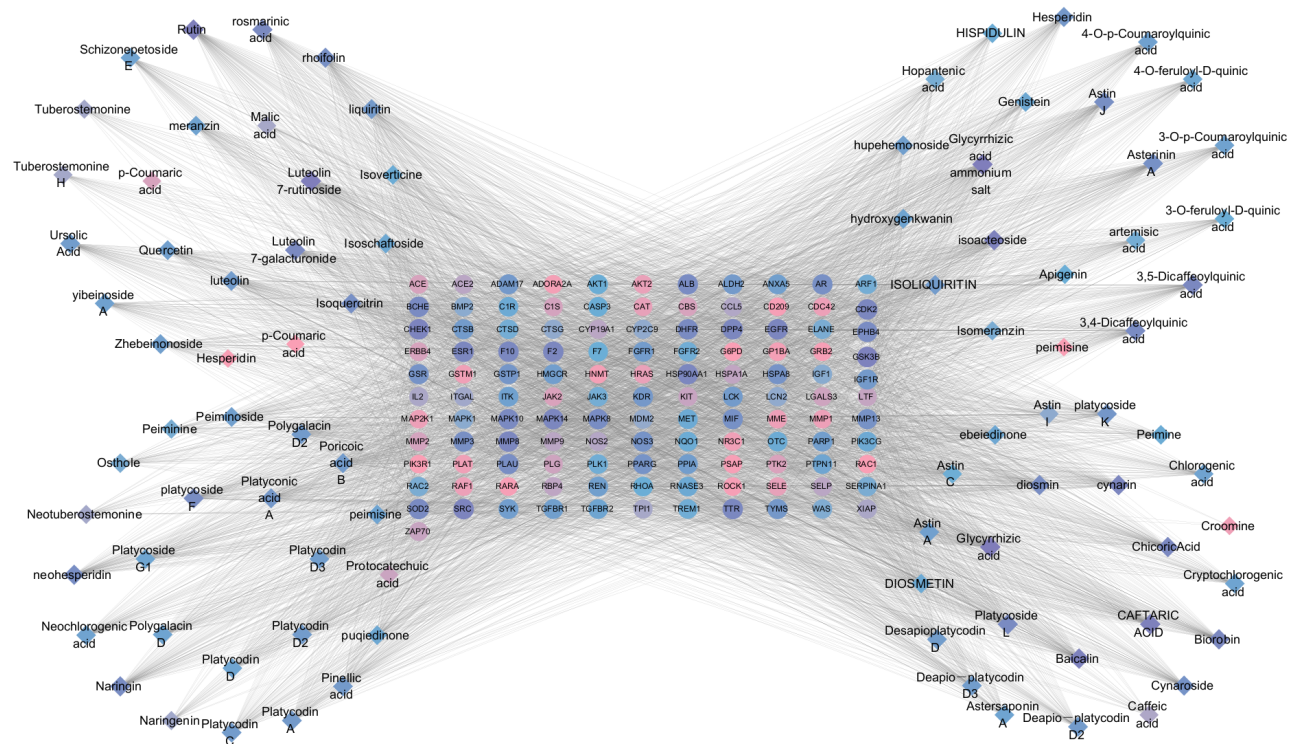


图4 “ZBG成分-共同靶点”网络图

Fig. 4 “ZBG components-common targets” network diagram

表3 ZBG治疗PIC的核心成分信息

Table 3 Information on ore ingredients of ZBG for treatment of PIC

成分	DC	BC	CC
甘草酸	92	1 867.072 2	0.002 8
甘草酸铵	91	1 706.396 7	0.002 7
木犀草素-7-O-芸香糖苷	91	1 014.083 2	0.002 7
芦丁	90	711.864 5	0.002 7
单咖啡酰酒石酸	88	1 083.822 3	0.002 7
异毛蕊花糖苷	87	680.891 8	0.002 7
黄芩苷	87	664.752 8	0.002 7
洋蓟素	84	527.753 9	0.002 6
菊苣酸	82	1 247.084 7	0.002 6
山柰酚-3-O-洋槐糖苷	82	629.127 9	0.002 6
异绿原酸A	82	582.977 4	0.002 6
迷迭香酸	80	851.068 7	0.002 6
platycoside F	77	541.398 5	0.002 6
香叶木苷	77	501.264 8	0.002 6
柚皮苷	77	448.253 5	0.002 6

药效物质基础,对柚皮苷、甘草酸等14个核心成分及EGFR等6个关键靶点进行分子对接,计算各成分与靶点之间的结合能,结合能的值越小表示结合能力越强,活性成分越容易与受体结合。一般认为,结合能 $<-20.9\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 说明具有较好的结合活

性^[40]。结果表明,14个核心成分与6个关键靶点均有较好的结合活性(表4)。由此证明,14个核心成分对6个关键靶点的干预在ZBG治疗PIC的过程中起重要作用。

通过Pymol软件对分子对接结果中6个关键靶点与核心成分结合最稳定的构象可视化(图7),结果表明,6个小分子配体均在对应目标蛋白的活性口袋中结合,结合模式主要以氢键为主,且形成氢键的氨基酸多为目标蛋白的关键氨基酸。其中,木犀草素-7-O-芸香糖苷与SRC共形成10个氢键,结合能为 $-48.53\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。SRC的关键氨基酸Met341与母核吡喃酮O原子形成2个氢键^[41],键长分别为 2.1Å ($1\text{Å}=1\times 10^{-10}\text{ nm}$)和 3.2Å ;同时,氨基酸Lys295能够与母核C环及糖基上的羟基形成氢键,键长分别为 2.7Å 及 2.2Å 。此外,Gln275、Cys277、Arg388、Asn391等氨基酸与糖基形成氢键,有助于配体与受体的稳定结合,见图7。香叶木苷与MAPK8共形成4个氢键,结合能为 $-43.10\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。其中,香叶木苷母核与氨基酸残基形成3个氢键,吡喃酮O原子与氨基酸Met111形成2个氢键,键长仅为 1.8Å 和 3.2Å ;C环上的羟基与氨基酸Asn114形成1个氢键,键长为 2.4Å 。木犀草素-7-O-芸香糖苷完全嵌入AKT1的活性口袋,结合能为 $-41.84\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。

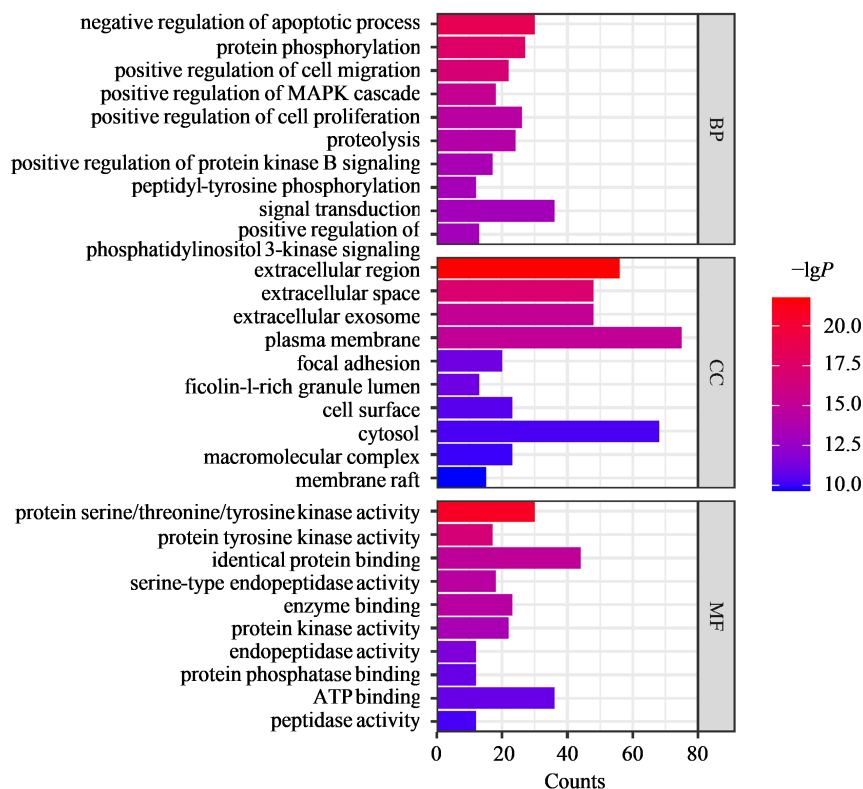


图5 ZBG 治疗 PIC 的 GO 功能富集

Fig. 5 GO enrichment analysis of ZBG in the treatment of PIC

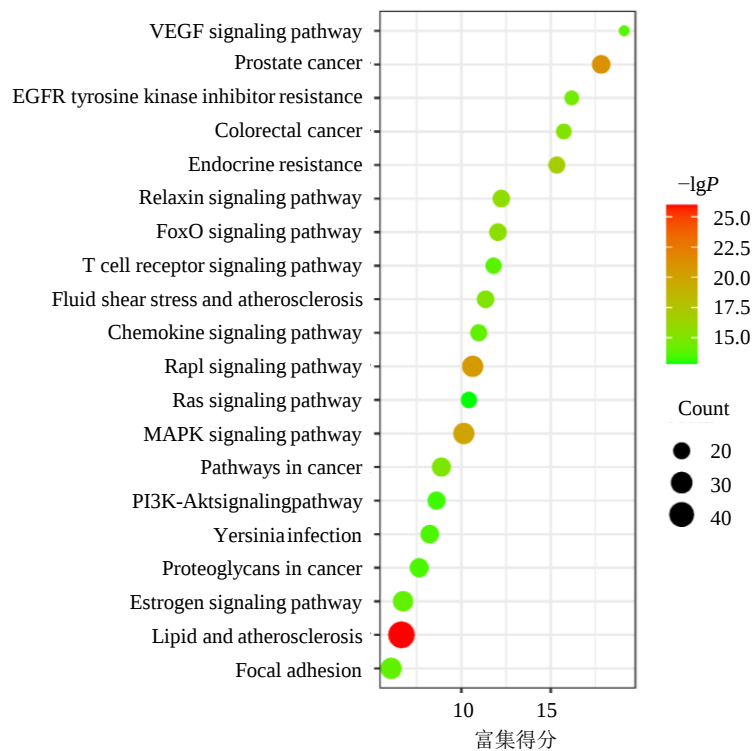


图6 ZBG 治疗 PIC 的 KEGG 通路富集

Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis of ZBG in treatment of PIC

表4 核心成分与关键靶点的结合能

Table 4 Binding energy of core ingredients and key targets

化学成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)					
	SRC	AKT1	EGFR	PIK3R1	MAPK8	MMP-9
甘草酸	-46.02	-38.49	-36.40	-38.49	-35.98	-34.31
木犀草素-7-O-芸香糖苷	-48.53	-41.84	-39.33	-33.89	-41.84	-41.84
芦丁	-44.77	-38.91	-36.40	-35.56	-41.00	-35.98
单咖啡酰酒石酸	-32.22	-30.96	-29.71	-25.10	-30.54	-37.66
黄芩苷	-41.84	-36.40	-41.42	-31.38	-39.33	-41.00
异毛蕊花糖苷	-40.58	-38.49	-35.98	-29.29	-39.33	-40.17
洋蓟素	-38.91	-40.17	-34.73	-31.38	-37.24	-38.07
异绿原酸 A	-39.75	-40.17	-35.15	-30.96	-41.42	-41.00
山柰酚-3-O-洋槐糖苷	-37.66	-40.17	-38.91	-33.05	-40.58	-35.15
迷迭香酸	-38.49	-32.64	-30.54	-27.20	-32.22	-38.91
菊苣酸	-35.15	-34.31	-31.38	-29.71	-35.15	-40.58
香叶木苷	-48.12	-41.00	-38.07	-34.31	-43.10	-40.17
柚皮苷	-45.61	-41.00	-37.24	-35.56	-41.00	-38.07
platicoside F	-41.00	-33.05	-33.05	-33.05	-30.96	-33.47

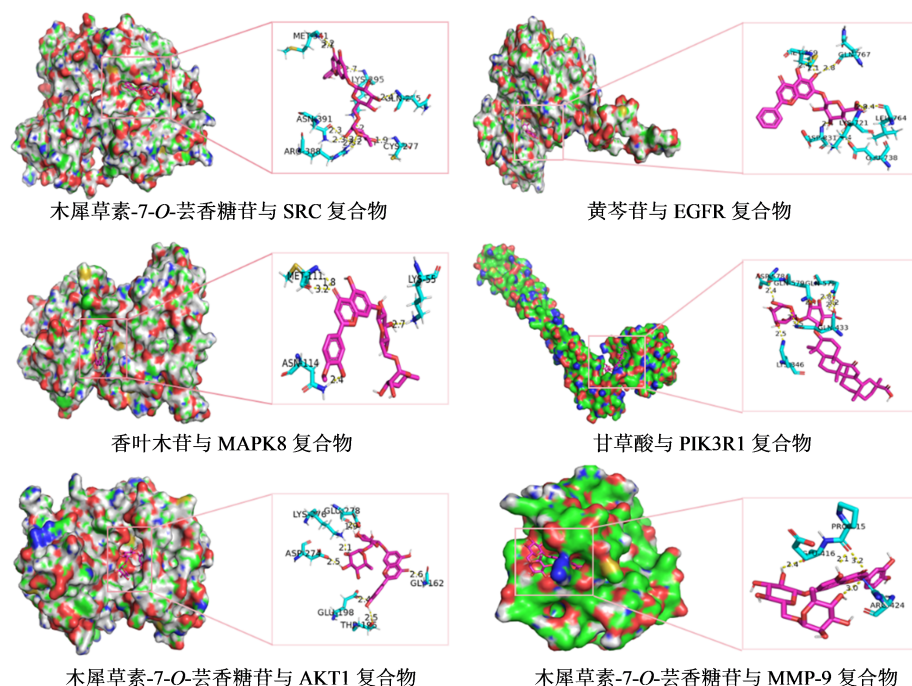


图7 部分核心成分与关键靶点的结合构象

Fig. 7 Combination conformation of some core components and key targets

氨基酸 Gly162 与母核吡喃酮 O 原子形成氢键, 键长为 2.6 Å; 氨基酸 Glu198、Thr195 分别与母核 C 环上的 2 个羟基形成氢键, 键长为 2.4 Å 和 2.5 Å; 氨基酸 Glu278 等则与糖基结合形成氢键。黄芩苷与 EGFR 共形成 7 个氢键, 结合能为 -41.42 kJ·mol⁻¹。氨基酸 Met769 是 EGFR 的关键结合位点^[42], 与黄芩苷的邻苯酚羟基形成 2 个氢键, 键长分别为 2.4 Å 和 2.1 Å;

氨基酸 Gln767 与母核上羟基形成 1 个氢键, 键长为 2.8 Å; 此外, Lys721 和 Asp831 等多个氨基酸也参与了与黄芩苷糖基部分的氢键形成。PIK3R1 的 Lys346、Gln572、Gln433、Asp578 等氨基酸与甘草酸的糖基共形成 6 个氢键, 结合能为 -38.49 kJ·mol⁻¹。木犀草素-7-O-芸香糖苷的母核完全嵌入 MMP-9 的活性口袋, 结合能为 -41.84 kJ·mol⁻¹。复合体中仅形

成4个氢键,但形成氢键的氨基酸均为MMP-9的关键氨基酸^[42]。其中,氨基酸Pro415可与母核吡喃酮O原子及母核羟基形成氢键,键长分别为3.2Å和2.1Å;氨基酸Glu416、Arg424分别与糖基上的羟基形成氢键。

4 讨论

PIC发病机制复杂,呼吸道感染导致气道上皮细胞损伤与脱落,从而对气道黏膜造成伤害,并进一步激活免疫细胞,释放多种炎症介质和细胞因子,触发免疫炎症反应,引起气道炎症。而气道炎症也会使气道黏膜进一步受损,致使黏膜下感觉神经末梢(主要是无髓鞘C纤维)暴露,释放相关神经肽及递质,刺激咳嗽感受器引发咳嗽。同时,大量炎症介质的分泌和释放促进了气道杯状细胞的增生,黏蛋白的表达也随之增加,导致气道出现黏液高分泌状态,从而诱发咳嗽。气道炎症、感觉神经末梢暴露以及气道黏液高分泌等因素均会引起呼吸道对低水平刺激表现出异常的高敏感性。这种高敏感性将使支气管过度收缩,引起支气管狭窄,甚至通气不足,从而引发气道高反应性,导致咳嗽不止^[38-39]。气道上皮细胞受损引起的气道炎症是导致咳嗽的关键环节,气道炎症及黏液高分泌则是引起气道高反应性的主要原因。因此,修复受损的气道上皮细胞、减轻气道炎症、降低黏液高分泌是治疗PIC的主要途径。

采用UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS技术对ZBG水提物进行鉴定,共鉴定得到109个化学成分,包括黄酮、三萜、生物碱等化合物。在成分分析的基础上结合网络药理学的方法筛选得到90个ZBG治疗PIC的活性成分。对“ZBG成分-共有靶点”网络、PPI网络、KEGG富集结果整合分析,发现AKT1、SRC、HSP90AA1、EGFR、PIK3R1、MMP-9等12个蛋白为ZBG治疗PIC的共有靶点且在PPI网络中具有较高的DC、BC、CC值;EGFR信号通路、PI3K-Akt信号通路和MAPK信号通路为ZBG治疗PIC的共有通路,其中,EGFR、SRC、AKT1、PIK3R1、MMP-9、MAPK8等6个关键靶点与PIC的发病机制密切相关,且位于上述通路。分子对接结果表明关键靶点与ZBG的核心成分均有较好的结合活性,并形成多个氢键,进一步验证了关键靶点在ZBG治疗PIC过程中的重要性。EGFR广泛存在于上皮细胞,位于上皮细胞膜表面,对修复气道上皮细胞受损至关重要^[33]。气道上皮损伤后,将释放表皮生长因子(EGF)等信号分子,与EGFR结合,促

使EGFR磷酸化,EGFR的活化将会激活MAPK8(亦称JNK1),从而加强活化蛋白-1(AP-1)的活性,提高MMP-9的表达水平,导致炎症细胞的侵袭和上皮细胞的脱落,增加黏蛋白5AC(MUC5AC)的表达,从而加重呼吸道炎症与损伤,并导致气道黏液高分泌^[43-44]。另有研究表明在哮喘急性发作时,不仅炎症细胞会产生MMP-9,肺组织细胞和支气管上皮细胞也会大量表达MMP-9,使其表达水平升高,进一步加剧咳嗽^[35,45]。同时,EGFR的磷酸化也可进一步激活PI3K-Akt信号通路。PI3K被激活后催化磷脂酰肌醇二磷酸生成PIP3,PIP3与下游的AKT中的PH结构域作用,诱导AKT活化,从而促进呼吸道嗜酸性粒细胞、中性粒细胞等炎症细胞释放多种炎症因子,触发免疫、炎症反应^[36-37,46]。炎症反应与气道高分泌可相互作用,一方面炎症反应诱发气道杯状细胞增生并释放大量MUC5AC,诱导气道黏液高分泌;另一方面,黏液高分泌增加黏液凝胶层的黏稠度,导致气道阻塞、肺功能下降等,造成或者加重气道炎症。值得注意的是,SRC不仅参与调节气道平滑肌细胞的增殖和迁移,还能抑制EGFR的过度表达^[34]。有研究表明,EGFR或SRC抑制剂可以同等程度地减轻气道炎症^[33]。目前临床常用于治疗PIC的中药有苏黄止咳胶囊、止嗽散、二陈汤等。苏黄止咳胶囊可通过降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 β 和IL-6等炎症介质的表达来减轻气道炎症^[47]。止嗽散可以通过减少IL-8、TNF- α 、P物质等表达水平,从而有效降低气道炎症,修复呼吸道黏膜损伤,缓解患者咳嗽症状^[48]。二陈汤在治疗呼吸系统疾病方面有显著疗效,其可通过抑制NF- κ B信号通路、下调MUC5AC蛋白表达等机制来达到抗炎、止咳、改善气道黏液分泌等作用^[49]。ZBG则综合了已有临床中药治疗PIC的优势,通过调节EGFR信号通路、PI3K-Akt信号通路和MAPK信号通路,既可以在源头上修复气道上皮细胞受损,又在疾病发展过程中减轻气道炎症、降低黏液高分泌,以达到治疗PIC的目的。

分子对接可预测药物候选分子与目标蛋白的结合亲和力和结合模式,常用于筛选具有潜在药效的化合物。本研究结果表明ZBG中14个潜在有效成分具有治疗PIC的作用,其中9个来源于方中君、臣药,4个来源于佐使药,进一步证实了ZBG组方的合理性。柚皮苷及芦丁均来源于君药化橘红,与SRC、AKT1、MAPK8等关键靶点的

结合能均小于 $-37.66 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,与靶点有强结合活性。研究表明柚皮苷可通过调控EGFR和MAPK信号通路减轻气道炎症,并减少黏蛋白的分泌^[50-51]。芦丁可有效减少气道炎症细胞浸润,抑制MMP-9的表达,降低气道高反应性^[52]。来源于君药紫菀的核心成分有黄芩苷、洋蓟素、山柰酚-3-*O*-洋槐糖苷及异绿原酸A。其中,黄芩苷与EGFR、SRC、MAPK8、MMP-9的结合能均小于 $-37.66 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,与靶点有强结合活性。异绿原酸A、山柰酚-3-*O*-洋槐糖苷和洋蓟素同样与SRC、MAPK8等蛋白表现出较好的结合能力。已有文献证实,黄芩苷能够直接作用于气道上皮细胞,通过降低EGFR的活性和抑制MAPK信号通路减少黏蛋白的产生,并减少IL-13等炎症因子的表达^[53-54]。异绿原酸A具有抗炎和祛痰的效果^[55],但其作用机制尚未阐明,本研究结果表明其可能通过调控MAPK信号通路达到抗炎和祛痰的作用。目前尚未有研究表明山柰酚-3-*O*-洋槐糖苷和洋蓟素具有治疗PIC的作用,本研究首次提示上述2种成分可能为治疗PIC的有效成分。甘草酸来自于臣药法半夏,与SRC、AKT1、PIK3R1的结合能均小于 $-37.66 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,其可能通过调控PI3K-Akt信号通路,减少炎症因子的生成,发挥治疗PIC作用^[56]。甘草酸为半夏炮制品法半夏的特有成分,半夏炮制后,可增强止咳之效^[57],本研究进一步阐明甘草中甘草酸通过抑制PI3K-Akt信号通路增强半夏的止咳作用。迷迭香酸及香叶木苷来源于臣药荆芥,分子对接的结果表明其与SRC、MMP-9等关键靶点有强结合活性。已有研究证实香叶木苷可降低炎症因子的水平,减轻气道炎症,但其具体的作用靶点及机制尚不完全明确^[58],本研究结果提示上述作用机制可能与调控EGFR、PI3K-Akt、MAPK等信号通路密切相关。迷迭香酸已被证实可阻断MAPK通路从而减轻气道炎症^[59]。此外,木犀草素-7-*O*-芸香糖苷、单咖啡酰酒石酸、异毛蕊花糖苷、platycoside F等4个核心成分均来源于佐使药,与SRC、AKT1、MMP-9等关键靶点亦较好的结合活性,可协助君药、臣药发挥治疗PIC作用。

综上所述,柚皮苷、芦丁、黄芩苷、洋蓟素、山柰酚-3-*O*-洋槐糖苷、异绿原酸A等核心成分可能是ZBG干预PIC的潜在药效物质,其作用机制可能与调节EGFR、SRC、MAPK8等关键靶蛋白相关。本研究初步预测了ZBG治疗PIC的药效物

质基础及作用机制,符合中药复方多成分、多靶点、多通路协同调控的特点。为ZBG在临床上的应用提供理论支撑,并为后续深入研究奠定了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 袁胜男, 张新庄, 刘婧, 等. 杏贝止咳颗粒对豚鼠感染后咳嗽的治疗作用 [J]. 中草药, 2023, 54(10): 3197-3204.
Yuan S N, Zhang X Z, Liu J, et al. Therapeutic effect of Xingbei Zhike Granules on post-infectious cough in guinea pigs [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(10): 3197-3204.
- [2] Jin X T, Ren J J, Li R H, et al. Global burden of upper respiratory infections in 204 countries and territories, from 1990 to 2019 [J]. E Clin Med, 2021, 37: 100986.
- [3] Braman S S. Postinfectious cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines [J]. Chest, 2006, 129(1 Suppl): 138S-146S.
- [4] 赖克方, 聂怡初. 感染后咳嗽发病机制、诊断与治疗研究进展 [J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2014, 7(5): 481-485.
Lai K F, Nie Y C. Research progress of pathogenesis, diagnosis and treatment of post-infectious cough [J]. Chin J Lung Dis Electron Ed, 2014, 7(5): 481-485.
- [5] 曾江楠, 叶廷林, 熊广, 等. 中医药治疗感染后咳嗽的研究进展 [J]. 中国中医急症, 2024, 33(1): 166-168, 175.
Zeng J N, Ye T L, Xiong G, et al. Research progress of treating post-infection cough with traditional Chinese medicine [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2024, 33(1): 166-168, 175.
- [6] 屈毓敏. 晁恩祥学术思想总结及疏风解痉法治感染后咳嗽临床观察 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2016.
Qu Y M. Summary of Chao Enxiang's academic thought and clinical observation on treating post-infection cough by dispelling wind and spasm [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2016.
- [7] Choudhary R, Walhekar V, Muthal A, et al. Machine learning facilitated structural activity relationship approach for the discovery of novel inhibitors targeting EGFR [J]. J Biomol Struct Dyn, 2023, 41(22): 12445-12463.
- [8] Sun Y P, Li L, Liao M, et al. A systematic data acquisition and mining strategy for chemical profiling of *Aster Tataricus Rhizoma* (Ziwan) by UHPLC-Q-TOF-MS and the corresponding anti-depressive activity screening [J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 154: 216-226.
- [9] 杨彬, 王媛, 田梦, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS研究

- 法半夏中甘草化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3): 45-49.
- Yang B, Wang Y, Tian M, et al. Analysis on chemical constituents of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* in *Pinelliae Rhizoma Praeparatum* by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2017, 23(3): 45-49.
- [10] 赵鸿鹏. 清金化痰汤物质基准药效物质基础研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2022.
- Zhao H P. Study on the material basis of material standard efficacy of Qingjin Huatan decoction [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- [11] 赵利娟, 高文雅, 顾欣如, 等. 蒲地蓝消炎口服液化学成分鉴定及归属研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(8): 1573-1587.
- Zhao L J, Gao W Y, Gu X R, et al. Identification and attribution of chemical compounds of Pudilan Antiphlogistic Oral Liquid [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44(8): 1573-1587.
- [12] 崔美娜, 钟凌云, 兰泽伦, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS分析多物料多流程炮制对半夏化学成分的影响[J]. 中草药, 2021, 52(24): 7428-7437.
- Cui M N, Zhong L Y, Lan Z L, et al. Effect of multi-material and multi-process processing on chemical composition of *Pinellia ternata* based on UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(24): 7428-7437.
- [13] 张松保, 孔令婕, 谷巍, 等. 基于HPLC-Q-TOF-MS/MS技术的蒲公英化学成分分析及其抗癌机制的网络药理学研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(2): 305-314.
- Zhang S B, Kong L J, Gu W, et al. Chemical composition analysis of *Taraxacum mongolicum* based on HPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology study on its anticancer mechanism [J]. Nat Prod Res Dev, 2022, 34(2): 305-314.
- [14] 崔明超, 张加余, 陈少军, 等. 浙贝母植株各部位中生物碱和黄酮的LC-LTQ-Orbitrap MSn分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2124-2130.
- Cui M C, Zhang J Y, Chen S J, et al. Identification of alkaloids and flavonoids in all parts of *Fritillaria thunbergii* using LC-LTQ-Orbitrap MSn [J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(11): 2124-2130.
- [15] 刘群娣, 谢春燕, 闫李丽, 等. 化橘红化学成分的HPLC-DAD-MS/MS分析[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2011, 13(5): 864-867.
- Liu Q D, Xie C Y, Yan L L, et al. High performance liquid chromatography-DAD-mass spectrometry analysis of *Citri Grandis Exocarpium* [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med, 2011, 13(5): 864-867.
- [16] 刘茜, 付娟, 胡军华, 等. 基于HPLC-Q-TOF-MS/MS技术咳喘宁颗粒化学成分分析及多指标定量测定[J]. 药物评价研究, 2023, 46(5): 1012-1023.
- Liu X, Fu J, Hu J H, et al. Chemical composition analysis and multi-index content determination of Kechuaning Granules based on HPLC-Q-TOF-MS/MS technology [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(5): 1012-1023.
- [17] 曲彤, 李宁, 任慧, 等. 基于UPLC-Q-Exactive Focus-MS/MS技术分析藤络宁胶囊中化学成分[J]. 中国药师, 2022, 25(12): 2158-2165.
- Qu T, Li N, Ren H, et al. Identification of chemical constituents in Tengluoning Capsules by UPLC-Q-exactive focus-MS/MS [J]. China Pharm, 2022, 25(12): 2158-2165.
- [18] 孙宏远. 四季感冒片的物质基础及质量标准提升研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- Sun H Y. Study on the material basis and quality standard improvement of Sijiganmao Tablets [D]. Changchun: Jilin University, 2023.
- [19] 孔佳琦. 青胶蒲公英中药用成分的质谱分析技术研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2021.
- Kong J Q. Study on mass spectrometry analysis technology of traditional Chinese medicine components of *Taraxacum mongolicum* [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2021.
- [20] 王兰欣. 复方鲜竹沥液止咳化痰的物质基础及作用机制预测研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- Wang L X. Study on the material basis and mechanism prediction of compound fresh bamboo juice for relieving cough and resolving phlegm [D]. Nanchang: Nanchang University, 2022.
- [21] 许伟辰, 罗子宸, 何钰, 等. 基于液质联用技术的南北产地桔梗药材皂苷谱差异研究[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(6): 541-549.
- Xu W C, Luo Z C, He Y, et al. Study on the difference of saponins profile of *Platycodonis Radix* from Northern and Southern Regions based on Liquid Chromatography-Mass Spectrometry [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2022, 38(6): 541-549.
- [22] 康安, 郭锦瑞, 谢彤, 等. UPLC-LTQ-Orbitrap质谱联用技术分析茯苓中的化学成分[J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(6): 561-565.
- Kang A, Guo J R, Xie T, et al. Analysis of the triterpenes in *Poria cocos* by UHPLC-LTQ-orbitrap MS/MS [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2014, 30(6): 561-565.
- [23] 罗点. 对叶百部总生物碱HPLC-UPLC-MS指纹图谱建立及其与产地相关性的研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2017.
- Luo D. Establishment of HPLC-UPLC-MS fingerprint of

- total alkaloids of *Stemona lobata* and its correlation with producing areas [D]. Nanning: Guangxi University of Chinese Medicine, 2017.
- [24] 周建良, 刘伟, 郭增喜, 等. 基于快速液相色谱-四级杆飞行时间串联质谱的浙贝母特征图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17): 2832-2837.
- Zhou J L, Liu W, Guo Z X, et al. Fingerprint analysis of *Fritillaria thunbergii* using rapid resolution liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. China J Chin Mater Med, 2013, 38(17): 2832-2837
- [25] 张宁, 高霞, 周宇, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速分析杏贝止咳颗粒化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(22): 4439-4449.
- Zhang N, Gao X, Zhou Y, et al. Rapid identification of chemical components in Xingbei Zhike Keli by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. China J Chin Mater Med, 2018, 43(22): 4439-4449.
- [26] 戢爽. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析川贝母与浙贝母化学成分的差异及代谢组学研究 [D]. 西宁: 青海师范大学, 2022.
- Ji S. Based on UPLC-Q-TOF-MS/MS technology, the difference of chemical composition between *Fritillaria cirrhosa* and *Fritillaria thunbergii* and its metabonomics study were analyzed [D]. Xining: Qinghai Normal University, 2022.
- [27] Zhou J L, Xin G Z, Shi Z Q, et al. Characterization and identification of steroidal alkaloids in *Fritillaria* species using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2010, 1217(45): 7109-7122
- [28] 沈杰. 舌叶紫菀化学成分的研究 [D]. 成都: 西南民族大学, 2022.
- Shen J. Studies on the chemical constituents of *Aster linguae* [D]. Chengdu: Southwest University for Nationalities, 2022.
- [29] 黄光强, 梁洁, 孙正伊, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术的止咳颗粒化学成分研究 [J]. 中南药学, 2021, 19(5): 856-864.
- Huang G Q, Liang J, Sun Z Y, et al. Chemical constituents in zhideke granules by UPLC-Q-orbitrap HRMS [J]. Cent South Pharm, 2021, 19(5): 856-864.
- [30] 陈奕君, 吴浩, 魏紫奕, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 的紫菀药材全成分解析 [J]. 药学学报, 2019, 54(9): 1645-1654.
- Chen Y J, Wu H, Wei Z Y, et al. Identification of chemical constituents in *Aster tataricus* by UHPLC-Q-TOF-MS [J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54(9): 1645-1654.
- [31] 赵毅萌, 张礼欣, 杨舒昀, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的中药荆芥穗化学成分表征与鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(2): 420-430.
- Zhao Y M, Zhang L X, Yang S Y, et al. Characterization of chemical constituents from traditional Chinese medicine *Schizonepetae Spica* based on UHPLC-Q-TOF-MS/MS technique [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(2): 420-430.
- [32] 吴红燕. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 及网络药理学研究桔梗汤治疗急性肺损伤的作用机制 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2023.
- Wu H Y. Study on the mechanism of Platycodon Grandiflorus decoction in the treatment of acute lung injury based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology [D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2023.
- [33] 李文宏, 雷婷, 马嘉鑫, 等. 麻杏石甘汤对哮喘模型大鼠气道损伤及 EGFR 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(7): 1-10.
- Li W H, Lei T, Ma J X, et al. Effect of Moxing Shigantang on airway injury and EGFR expression in asthma model rats [J]. Chin J Exp Tradit Med For, 2022, 28(7): 1-10.
- [34] Krymskaya V P, Goncharova E A, Ammit A J, et al. Src is necessary and sufficient for human airway smooth muscle cell proliferation and migration [J]. FASEB J, 2005, 19(3): 428-430.
- [35] Wang H, Liu Y, Shi J, et al. ORMDL3 knockdown in the lungs alleviates airway inflammation and airway remodeling in asthmatic mice via JNK1/2-MMP-9 pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 516(3): 739-746.
- [36] 陈晔, 李敏静, 王维斯, 等. MicroRNA-155 通过靶向调控 PIK3R1 在慢性阻塞性肺疾病中的作用及机制 [J]. 生理学报, 2022, 74(5): 737-750.
- Chen Y, Li M J, Wang W S, et al. Effect and mechanism of microRNA-155 in chronic obstructive pulmonary disease by targeting PIK3R1 [J]. Acta Physiol Sin, 2022, 74(5): 737-750.
- [37] 席建宏, 黄柯婷, 王志旺, 等. PI3K/Akt 信号通路调控哮喘气道黏液高分泌的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(22): 2779-2782.
- Xi J H, Huang K T, Wang Z W, et al. Research status of PI3K/Akt signal pathway regulating airway mucus hypersecretion in asthma [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022, 38(22): 2779-2782.
- [38] 罗菁. 基于肠道菌群调控 ERK 信号通路探讨泻白增液汤对感染后咳嗽肺热阴虚证幼年大鼠的作用机制 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2023.

- Luo J. Based on the regulation of ERK signal pathway by intestinal flora, this paper discusses the mechanism of Xiebai Zengye Decoction on young rats with cough, lung heat and *Yin* deficiency syndrome after infection [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2023.
- [39] 蒋春芳, 刘纯. 成人感染后咳嗽的发病机制 临床诊断与西医治疗进展 [J]. 现代医药卫生, 2016, 32(14): 2178-2182.
- Jiang C F, Liu C. Progress in pathogenesis, clinical diagnosis and western medicine treatment of adult post-infection cough [J]. J Mod Med Health, 2016, 32(14): 2178-2182.
- [40] 陈柳燕, 吴传梅, 梁潘, 等. 基于斑马鱼模型和网络药理学研究四方木皮的抗炎作用及其机制 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(11): 3070-3080.
- Chen L Y, Wu C M, Liang P, et al. Anti-inflammatory effect and its mechanism of *Saracae Cortex* based on zebrafish model and network pharmacology [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(11): 3070-3080.
- [41] Sakkiath S, Arullaperumal V, Hwang S, et al. Ligand-based pharmacophore modeling and Bayesian approaches to identify c-Src inhibitors [J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2014, 29(1): 69-80.
- [42] 戴勇琦. 天然黄酮类 MMP-2/MMP-9 抑制剂的虚拟筛选及分子动力学研究 [D]. 湘潭: 湘潭大学, 2021.
- Dai Y Q. Virtual screening and molecular dynamics study of natural flavonoids MMP-2/MMP-9 inhibitors [D]. Xiangtan: Xiangtan University, 2021.
- [43] Wu M, Yang J, Liu T, et al. Effect of Src tyrosine kinase on a rat model of asthma [J]. Exp Ther Med, 2022, 23(2): 172.
- [44] El-Hashim A Z, Khajah M A, Renno W M, et al. Src-dependent EGFR transactivation regulates lung inflammation via downstream signaling involving ERK1/2, PI3K δ /Akt and NF κ B induction in a murine asthma model [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 9919.
- [45] 董盈妹, 赵霞. 粘蛋白 5AC-EGFR 通路与哮喘关系及中医药研究进展 [J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(12): 1447-1450.
- Dong Y M, Zhao X. The relationship between EGFR signaling pathway of MUC5AC and asthma and progress in Chinese medicine research [J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2014, 38(12): 1447-1450.
- [46] Zhang Y L, Jing Y, Qiao J Y, et al. Activation of the mTOR signaling pathway is required for asthma onset [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 4532.
- [47] Liang R Y, Tong X Y, Dong Z K, et al. Suhuang antitussive capsule ameliorates post-infectious cough in mice through AhR-Nrf2 pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 283: 114664.
- [48] 杨光, 王祺. 止嗽散治疗感染后咳嗽的应用机制探析 [J/OL]. 实用中医内科杂志: 1-6 [2024-11-26]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1187.R.20240604.0932.002>.
- Yang G, Wang Q. An exploration of the application of Zhisou Powder in the treatment of post-infectious cough [J/OL]. J Practical Tradit Chin Intern Med, 2024, 1-6 [2024-11-26]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1187.R.20240604.0932.002>.
- [49] 杨万林, 张樱山. 二陈汤治疗呼吸系统疾病的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(8): 1236-1240.
- Yang W L, Zhang Y S. Research status of Erchen Decoction in the treatment of respiratory diseases [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2024, 40(8): 1236-1240.
- [50] Luo Y L, Zhang C C, Li P B, et al. Naringin attenuates enhanced cough, airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a guinea pig model of chronic bronchitis induced by cigarette smoke [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 13(3): 301-307.
- [51] Nie Y C, Wu H, Li P B, et al. Naringin attenuates EGF-induced MUC5AC secretion in A549 cells by suppressing the cooperative activities of MAPKs-AP-1 and IKKs-I κ B-NF- κ B signaling pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2012, 690(1/2/3): 207-213.
- [52] Liu L L, Zhang Y, Zhang X F, et al. Influence of rutin on the effects of neonatal cigarette smoke exposure-induced exacerbated MMP-9 expression, Th17 cytokines and NF- κ B/iNOS-mediated inflammatory responses in asthmatic mice model [J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2018, 22(5): 481-491.
- [53] Lee H J, Lee S Y, Kim Y S, et al. Effects of baicalin, baicalein and schizandrin on airway mucin production induced by epidermal growth factor and phorbol ester [J]. Biomol Ther, 2010, 18(4): 396-401.
- [54] Jelić D, Lower-Nedza A D, Brantner A H, et al. Baicalin and baicalein inhibit src tyrosine kinase and production of IL-6 [J]. J Chem, 2016, 2016: 2510621.
- [55] Wu Q Z, Zhao D X, Xiang J, et al. Antitussive, expectorant, and anti-inflammatory activities of four caffeoylquinic acids isolated from *Tussilago farfara* [J]. Pharm Biol, 2016, 54(7): 1117-1124.
- [56] Ma C H, Ma Z Q, Liao X L, et al. Immunoregulatory effects of glycyrrhizic acid exerts anti-asthmatic effects via modulation of Th1/Th2 cytokines and enhancement of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells in ovalbumin-sensitized mice [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 148(3): 755-762.

- [57] 杨冰月, 李敏, 敬勇, 等. 半夏及其炮制品化学成分及功效的差异研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4349-4355.
Yang B Y, Li M, Jing Y, et al. Difference of chemical constituents and efficacy between crude and processed *Pinelliae Rhizoma* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49 (18): 4349-4355.
- [58] Imam F, Al-Harbi N O, Al-Harbi M M, et al. Diosmin downregulates the expression of T cell receptors, pro-inflammatory cytokines and NF- κ B activation against LPS-induced acute lung injury in mice [J]. Pharmacol Res, 2015, 102: 1-11.
- [59] Liang Z M, Nie H Y, Xu Y F, et al. Therapeutic effects of rosmarinic acid on airway responses in a murine model of asthma [J]. Int Immunopharmacol, 2016, 41: 90-97.

[责任编辑 齐静雯]