

基于网络药理学与分子对接技术的鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”机制及其质量标志物预测分析

张雨恬^{1,2}, 伍振峰¹, 黄 艺³, 章 俊⁴, 张 询¹, 林瑞华¹, 万 娜^{3*}, 杨 明^{1*}

1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004
2. 江西中医药大学附属医院, 江西 南昌 330004
3. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004
4. 南昌大学第一附属医院, 江西 南昌 330006

摘要: **目的** 应用网络药理学和分子对接方法, 对鲜竹沥发挥“咳、喘、痰”作用的机制及潜在的质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 预测分析。**方法** 采用干馏法和火烤法制备鲜竹沥, 对鲜竹沥的指纹图谱进行研究, 筛选并预测其中 14 个成分的潜在作用靶点及通路, 结合文献数据库分析确定“咳、喘、痰”病症的靶基因; 取药物与疾病交集基因, 将交集基因上传 String 数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 分析, 利用 Rstudio 的 clusterProfiler 功能对交集基因进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及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; 预测鲜竹沥的 Q-Marker, 并运用分子对接软件对部分关键靶点及其对应成分进行分子对接, 验证网络分析结果。**结果** 采用指纹图谱研究得到 8 批干馏法、火烤法的鲜竹沥主要活性成分, 经网络药理学及分子对接分析鲜竹沥对“咳、喘、痰”病症的治疗作用, 推测鲜竹沥的 Q-Marker 为香草酸、对乙基苯酚、丁香醛、二氢丁香酚、对乙烯基愈创木酚, 主要通过调节炎症反应、环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 信号通路、缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 信号通路、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号通路等重要生物通路来发挥止咳、平喘、化痰的作用。**结论** 通过预测鲜竹沥的 Q-Marker, 为提升其质量控制标准奠定了基础, 同时也为鲜竹沥功效关联物质的研究及作用机制的阐释提供参考, 为其二次开发以及扩大临床使用范围提供参考依据。

关键词: 鲜竹沥; 网络药理学; 质量标志物; 分子对接; 止咳; 化痰; 平喘; 香草酸; 对乙基苯酚; 丁香醛; 二氢丁香酚; 对乙烯基愈创木酚

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)24-7538-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.24.016

Predictive analysis of mechanism and quality marker of fresh bamboo sap on “cough, asthma, sputum” based on network pharmacology and molecular docking technology

ZHANG Yu-tian^{1, 2}, WU Zhen-feng¹, HUANG Yi³, ZHANG Jun⁴, ZHANG Xun¹, LIN rui-hua¹, WAN Na³, YANG Ming¹

1. Key Laboratory of Modern Preparations of Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
3. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
4. The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To predict and analyze the mechanism and potential quality marker (Q-Marker) of fresh bamboo sap in the treatment of “cough, asthma, sputum” based on network pharmacology and molecular docking methods. **Methods** Fresh bamboo sap

收稿日期: 2021-08-05

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1707203); 江西省科学技术协会项目 (赣科协字[2018]117 号); 国家级大学生创新创业计划项目 (202010412011); 江西省中医药管理局科技计划项目 (2019A031); 江西省教育厅科学研究青年项目 (GJJ180692)

作者简介: 张雨恬 (1990—), 女, 博士, 研究方向为中药药剂及中药质量分析研究。Tel: (0791)87118658 E-mail: rainyzyt@163.com

***通信作者:** 万 娜, 讲师, 从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: wanna988@163.com

杨 明, 博士生导师, 教授, 从事中药药剂及炮制技术研究。E-mail: lab215@163.com

was prepared by dry distillation and fire roasting. The fingerprint of fresh bamboo sap was studied, and the potential targets and pathways of 14 components were screened and predicted. Target genes of “cough, asthma, sputum” disease were determined by combining literature database. Intersection genes of drug and disease were taken, protein-protein interaction (PPI) analysis was performed by String database, gene ontology (GO) functions and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis on intersection genes were performed by clusterProfiler function of Rstudio. Q-Markers of fresh bamboo sap were predicted, and molecular docking software was used to perform molecular docking on key targets and its corresponding components to verify the network analysis results. **Results** Eight batches of main active ingredients of fresh bamboo sap which prepared by dry distillation and fire roasting were obtained by fingerprint study. The therapeutic effects of fresh bamboo sap on “cough, asthma, sputum” symptoms were analyzed by network pharmacology and molecular docking. Q-Markers were vanillic acid, *p*-ethylphenol, syringaldehyde, dihydroeugenol and *p*-vinylguaiaicol, which mainly regulated inflammation, cyclic adenosine monophosphate (cAMP) signaling pathway, hypoxia-inducible factor hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) signaling pathway, vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway and other important biological pathways to play the role of relieving cough, asthma and phlegm. **Conclusion** By predicting the Q-Markers of fresh bamboo sap, it has laid a research foundation for improving its quality control standards, and provides a reference for study of related substances of fresh bamboo sap and explanation of mechanism. It provides a reference basis for its secondary development and the potential to expand the scope of clinical use.

Key words: fresh bamboo sap; network pharmacology; quality marker; molecular docking; relieving cough; resolving phlegm; relieving asthma; vanillic acid; *p*-ethylphenol; syringaldehyde; dihydroeugenol; *p*-vinylguaiaicol

竹子为禾本科多年生常绿乔木状植物，其分布广、品种多，在世界范围内约 87 个属、1500 多个种。鲜竹沥为禾本科植物粉绿竹 *Phyllostachys glauca* McClure、净竹 *P. nuda* McClure 及同属数种植物的鲜杆经加热后自然沥出的液体，性味甘、苦、寒，入心、胃经，具有清热化痰、镇惊利窍之功效，鲜竹沥在古代被中医誉为“痰家圣剂”，《神农本草经》记载：“竹叶，味苦平，主咳逆上气溢筋急，恶疡，小虫；竹根，益气止渴，补虚下气；竹汁，主风痙实，通神明，轻身益气”^[1]。临床多用于治疗肺热咳嗽痰多、气喘胸闷、中风舌强、痰涎壅盛、小儿痰热惊风等症^[2]。鲜竹沥是中药品种鲜竹沥口服液、复方鲜竹沥液的主要原料药，也是竹类植物在临床上常用的药用制剂。鲜竹沥的古法炮制工艺有烧制法和干馏法，分别载于唐朝《急备千金药方》^[3]：“取淡竹断两头节，火烧中央，器盛两头得汁”；明朝《本草纲目》^[4]：“以竹截长五六寸，以瓶盛，倒悬，下用一器承之，周围以炭火逼之，其油沥于器也”。

鲜竹沥化学成分复杂，主要含有挥发性成分、氨基酸、黄酮类成分、维生素及微量元素等。据国家药品监督管理局统计，处方中含鲜竹沥的中成药有 16 种（包括去痰灵口服液、沥水调脂胶囊等），含鲜竹沥的中药方剂有 81 条（包括阿胶饮子、八仙膏、白术和中汤等）。同时，鲜竹沥也被开发成具有一定食用价值的饮料（包括鲜竹沥饮料、蛇胆枇杷沥、无花果饮料等）。但目前鲜竹沥现行质量标准水平较低，导致市售产品存在炮制方法混乱、物质成

分不清晰等问题，严重影响了鲜竹沥临床用药的安全性和有效性。

中药的临床疗效取决于其所含化学成分（群）的特征，采用多种分析技术手段构建整体质量评价体系成为近年来中药标准化的发展方向。中药质量标志物（quality marker, Q-Marker）是刘昌孝院士^[5]近年来提出的中药质量评价与质量控制的核心概念，其基于有效、特有、传递与溯源、可测和处方配伍的“五原则”^[6]，目前已用于药材、饮片、复方 Q-Marker 的研究。Q-Marker 概念的提出，为中药的质量控制研究指明了方向，为后续研究中药发挥作用的机制奠定了基础。

网络药理学是建立在系统生物学和网络生物学基础上的研究方法，能够推动对药物作用机制的认识，加速药物靶点筛选以及生物标志物的发现^[7-8]，清华大学李梢教授于 1999 年首次以“网络靶标”为特点进行了一系列开拓性探索^[9]；2002 年提出中药方剂发挥“多因微效”的整体疗效调节作用机制^[10]；2007 年利用生物信息学方法首次构建出中医寒热证生物分子网络及其网络调节效应及框架^[11-13]，2013 年提出中药网络药理学的理论、方法论与应用，并使用网络药理学方法进行中药复方作用机制解析的研究工作^[14]，随着网络药理学的影响力和应用日益广泛，研究者通过运用各大数据库进行药物与疾病相关靶点信息的搜集、预测与筛选，构建药物-靶点-疾病相互作用网络，进行靶标基因富集分析，从分子机制方面揭示成分在疾病预防或治疗方

面发挥效用的途径,阐明中药“多成分-多靶点-多途径”的治疗特点^[15],是解析药物及治疗对象之间的分子关联规律,符合中医药特色的科学研究方法。

鲜竹沥作为临床上常用止咳、平喘、祛痰的中药,其功效已明确,但该中药发挥治疗作用的药效物质基础、作用机制却不甚清晰,因此本研究从 Q-Marker 的“五原则”出发,通过对鲜竹沥的目标化学成分潜在病症靶点进行映射,结合传统功效进行分组,结合网络药理学方法,从化学和生物信息角度预测分析鲜竹沥功效的潜在 Q-Marker 及分子机制,为鲜竹沥的质量控制及后续研究开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器

7890A/5975C 型气质联用色谱仪(GC-MS, 美国 Agilent 公司); MS-105DU 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); KQ-500B 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); H1650-W 型台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); TD5001C 型电子天平(天津天马衡基仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

竹子采自江西南昌湾里区,经江西中医药大学曹岚副教授鉴定为 2~3 年生禾本科刚竹属毛竹 *P. heterocycla* (Carr.) Mitford cv. *Pubescens* 的茎秆。对照品愈创木酚(质量分数 100%, 批号 100491-201902)、苯甲酸(质量分数 99.9%, 批号 100419-201703)购自中国食品药品检定研究院; 4-乙基愈创木酚对照品(质量分数≥99%, 批号 Y03M8C30736)购自上海源叶生物科技有限公司; 对照品醋酸(批号 CHB201106)、糠醛(批号 CHB210222)、糠醇(批号 CHB210223)、4-甲基愈创木酚(批号 CHB210223)、对乙基苯酚(批号 CHB210123)、对乙烯基愈创木酚(批号 CHB210111)、紫丁香醇(批号 CHB201107)、二氢丁香酚(批号 CHB210308)、香兰素(批号 CHB210107)、香草酸(批号 CHB210305)、丁香醛(批号 CHB201130)购自成都克洛玛生物科技有限公司,质量分数均≥98%; 乙腈、甲醇(色谱纯)购自德国 Merck 公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司; 其他试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

2 方法

2.1 GC-MS 方法

2.1.1 色谱条件 123-1334 Agilent DB-624 毛细管色谱柱(30 m×320 μm×1.8 μm); 载气为氦气,柱

体积流量为 1.0 mL/min; 进样口温度为 280 °C; 分流比 5:1; 程序升温: 起始温度 30 °C, 保持 5 min; 以 3 °C/min 升温至 40 °C, 保持 4 min; 以 5 °C/min 升温至 60 °C, 保持 2 min; 以 10 °C/min 升温至 80 °C, 保持 2 min; 以 10 °C/min 升温至 110 °C, 保持 3 min; 以 5 °C/min 升温至 120 °C, 保持 2 min; 以 5 °C/min 升温至 144 °C, 保持 0 min; 以 3 °C/min 升温至 180 °C, 保持 0 min; 以 8 °C/min 升温至 280 °C, 保持 1 min; 以 5 °C/min 升温至 300 °C, 保持 0 min; 进样量为 1.0 μL。

2.1.2 质谱条件 四极杆温度 150 °C; 电离源为标准电子轰击源(EI), 离子源温度 230 °C; 电子倍增管电压 2 447.06V; 扫描范围 *m/z* 50~650。

2.2 样品制备

2.2.1 干馏法 选取 2~3 年生毛竹, 锯成约 40 cm 段, 去节, 将其置于干馏装置内, 固定温度, 从竹沥滴出开始计时, 收集鲜竹沥液, 于 4 °C 保存。

2.2.2 火烤法 选取 2~3 年生毛竹, 锯成约 40 cm 段, 去节, 用酒精喷灯加热中部, 收集两端流出的竹沥, 烤至竹变黑且无汁液流出, 收集鲜竹沥液, 于 4 °C 保存。

按以上方法各制备 8 批(S1~S8)鲜竹沥样品。

2.3 供试品溶液的制备

取样品 5 mL, 用萃取剂二氯甲烷(色谱级)以 1:1 萃取 2 次, 静置 20 min, 分层后取下层, 合并萃取液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 于 4 °C 保存, 即得。

2.4 对照品溶液的制备

精密称取对照品愈创木酚、苯甲酸、4-乙基愈创木酚、醋酸、糠醛、糠醇、4-甲基愈创木酚、对乙基苯酚、对乙烯基愈创木酚、紫丁香醇、二氢丁香酚、香兰素、香草酸、丁香醛适量, 以甲醇溶解, 得到适宜质量浓度的混合对照品溶液。

2.5 指纹图谱建立及相似度评价

各取 8 批干馏法、火烤法制得的鲜竹沥, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下方法进行检测, 记录鲜竹沥色谱图, 通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)软件, 以 S8 的指纹图谱作为参照图谱, 采用平均数法, 进行多点校正和色谱峰匹配, 自动匹配生成指纹图谱共有模式。相似度评价结果, 并对鲜竹沥的不同制备工艺的共有成分进行筛选。

2.6 鲜竹沥成分筛选方法

通过比对指纹图谱鲜竹沥 2 种工艺下的物质成

分,发现共有峰,并结合 TCMSP 中药系统药理学数据库 (<http://tcmbspw.com/tcmssp.php>)、PubChem 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) 中收录的化学成分,按以下方式进行筛选:(1) 该中药成分在部颁或局颁标准中规定的 Q-Marker;(2) 通过文献数据库可以搜索得到的已有明确药理活性的化合物;(3) 含量相对较高的化合物。

2.7 候选化合物靶点预测

通过化合物 CAS 号在 PubChem 数据库寻找化合物的 SMILES 号,将化合物 SMILES 上传至 SwissTargetPrediction (<http://swisstargetprediction.ch/>) 网站进行靶点预测,以“Probability” ≥ 0.05 作为标准筛选药物成分靶点。

2.8 “咳、喘、痰”疾病靶点获取

通过 CNKI 数据库与 Web of Science 数据库查阅文献发现“痰”与“气道黏液高分泌”存在着极为紧密的联系^[16],因此选择“phlegm”“hypersecretion of airway mucus”作为痰的检测,同时将咳嗽病症关键词“cough”、哮喘病症关键词“asthma”为检索条件输入,分别在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 数据库搜寻相关靶点,以“Relevance score”大于中位数作为标准筛选疾病靶点,获得疾病相关靶点。

2.9 药物-疾病靶点预测

搜集得到中药目标化合物靶点集合与病症靶点集合后,将成分靶点和疾病靶点相互映射上传至 Draw Veen 数据库取交集,从而获得交集基因。使用 Cytoscape 3.8.0 软件构建“药物-疾病”网络,根据化合物与靶点的连接情况筛选出鲜竹沥作用于“咳、喘、痰”病的关键化合物,并分析成分网络拓扑参数^[17]。

2.10 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析

为进一步研究鲜竹沥治疗咳喘痰的蛋白之间的相互作用,将获得的药物-疾病交集基因导入在线 STRING 11.0 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 进行 PPI 数据库的构建,物种选择为人 (homo sapiens),隐藏游离节点,将网络参数以“tsv”格式输出,将“tsv”文件导入 Cytoscape 3.8.0,并对网络进行分析。用节点大小和颜色反应反映度值的大小,节点越大则表明度值越大;边的粗细用于反映结合分数的大小,边越粗则结合分数越大,得到核心靶点的 PPI 网络图。

2.11 功能富集分析与通路富集分析

利用 David 6.8 数据库 (<https://david.ncicrf.gov/>) 对交集基因进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析,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) 和细胞组成 (cellular component, CC); 对交集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,探讨药物作用的生物通路,得到潜在靶点所富集的信号通路。GO 功能和 KEGG 通路分析均以 $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2.12 分子对接实验

一般而言,在 1 个网络中度值越高,它的地位也就越重要,即 PPI 网络中度值越大的蛋白在鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”病症中有重要影响作用。利用 AutoDock Vina 1.1.2 对鲜竹沥活性成分和关键靶点进行分子对接,验证其相互作用活性。具体方法如下:

(1) 小分子处理:根据 CAS 号从 PubChem 数据库下载 3D 结构的“SDF”格式小分子,然后导入 ChEMBL3D 进行能量最小化导出为 mol2 格式,导入 AutodockTools (v1.5.6) 加氢、计算电荷、分配电荷、设置可旋转键后保存为“pdbqt”格式。

(2) 蛋白的准备及处理:从 PDB (<http://www.rcsb.org/>) 数据库下载关键靶点蛋白 (人源蛋白优先,原始配体与要对接的活性成分结构相似度高的优先,选取分辨率高的);将蛋白倒入 PyMOL (2.3.0) 去除原始配体和水分子,然后将蛋白导入 AutodockTools (v1.5.6) 进行加氢、计算电荷、分配电荷、指定原子类型并保存为“pdbqt”格式。

(3) 参数文件的准备:以蛋白原始配体作为对接盒子中心,若无原始配体则将整个蛋白作为对接区域,格点盒子的大小设定为 $80 \times 80 \times 80$ (每个格点的间距为 0.037 5 nm),其余参数为默认设置。

(4) 对接:利用 PyMOL 和 Ligplot 进行相互作用模式分析。最后整理分析所得的评分,用以评价小分子化合物与蛋白靶点之间的结合活性。

3 结果及分析

3.1 指纹图谱相似度评价及结果分析

通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 年版) 软件,分别以干馏法和火烤法 S8 的指纹图谱作为参照图谱,采用平均数法,进行多点校正和色谱峰匹配,自动匹配生成指纹图谱共有模式。相似

度评价结果表明,干馏法处理鲜竹沥的相似度为 0.944~0.991,火烤法处理鲜竹沥的相似度为 0.960~0.997,表明同一产地的 2 种炮制方法制备的 8 批鲜竹沥质量较为稳定均一。干馏法及火烤法处理鲜竹沥的 GC-MS 指纹图谱叠加图见图 1、2,相似度结果见表 1。

3.2 鲜竹沥活性成分筛选及靶点预测

通过比对指纹图谱鲜竹沥 2 种工艺下的物质成

分,发现鲜竹沥指纹图谱可确定火烤法共 15 个共有峰,干馏法共 51 个共有峰。通过“2.6”项下鲜竹沥成分筛选方法,筛选出 14 种化合物,其中丁香醛、二氢丁香酚、香草酸、4-乙基愈创木酚、对乙基苯酚、香兰素仅在干馏法中存在,苯甲酸仅在火烤法中存在,指纹图谱及其中筛选出的 14 个成分峰见图 1 标示,根据筛选原则筛选出的化合物活性成分信息详见表 2。

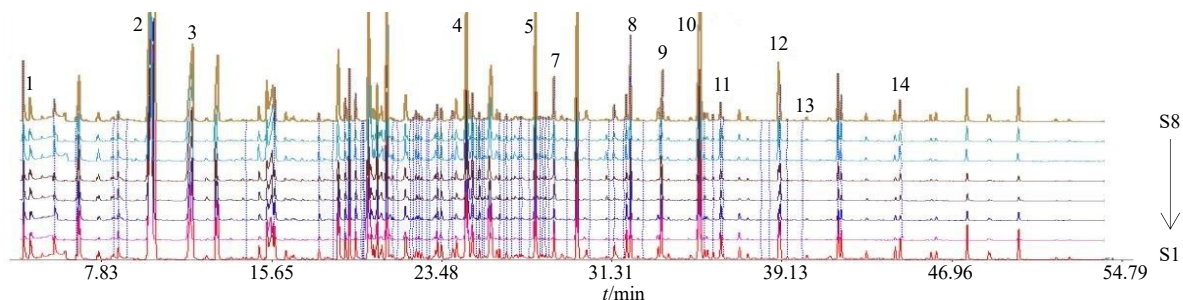


图 1 干馏法制备的鲜竹沥 GC-MS 指纹图谱

Fig. 1 GC-MS spectrum of fresh bamboo sap prepared by dry distillation method

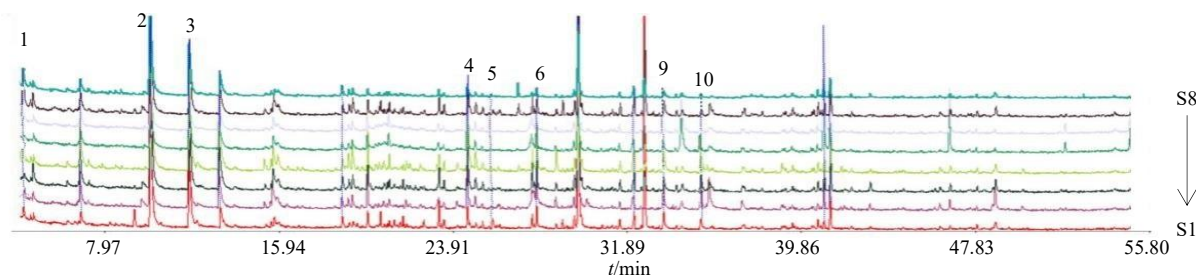


图 2 火烤法制备的鲜竹沥 GC-MS 指纹图谱

Fig. 2 GC-MS spectrum of fresh bamboo sap prepared by fire roasting method

表 1 干馏法及火烤法制备的鲜竹沥 GC-MS 指纹图谱相似度

Table 1 Similarity of GC-MS fingerprints of fresh bamboo sap prepared by dry distillation method and fire roasting method

工艺	相似度							
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
干馏法	0.982	0.944	0.981	0.946	0.971	0.971	0.975	0.991
火烤法	0.979	0.960	0.984	0.960	0.997	0.986	0.981	0.985

表 2 筛选出的鲜竹沥活性成分的质谱相关参数

Table 2 Mass spectrum related parameter information of screened active compounds of fresh bamboo sap

峰序号	t_R /min	CAS 号	化合物	质量分数/%	
				干馏法	火烤法
1	3.52	64-19-7	醋酸	5.742	2.577
2	10.21	98-01-1	糠醛	21.70	11.477
3	11.98	98-00-0	糠醇	5.272	6.511
4	24.62	90-05-1	愈创木酚	4.726	1.504
5	28.65	93-51-6	4-甲基愈创木酚	5.570	0.940
6	28.14	65-85-0	苯甲酸	—	7.750
7	27.79	123-07-9	对乙基苯酚	4.252	—
8	32.17	2785-89-9	4-乙基愈创木酚	5.200	—
9	33.59	7786-61-0	对乙基愈创木酚	4.421	1.102
10	35.35	91-10-1	紫丁香醇	7.847	0.961
11	35.97	2785-87-7	二氢丁香酚	0.101	—
12	37.18	121-33-5	香兰素	4.817	—
13	39.50	121-34-6	香草酸	1.620	—
14	46.24	134-96-3	丁香醛	2.179	—

3.3 “咳、喘、痰”病症相关靶点

从 SwissTargetPrediction (<http://swisstargetprediction.ch/>) 网站进行靶点预测,以“Probability” ≥ 0.05 作为标准筛选药物成分靶点,最终得到与候选化合物作用相关的 109 个靶点蛋白。分别在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 搜寻疾病的相关靶点,以“Relevance score”大于中位数作为标准筛选疾病靶点,总共获得 3162 个疾病相关靶点。

3.4 鲜竹沥“成分-疾病”靶点预测结果

将鲜竹沥化合物作用靶点与疾病靶点基因取交集(图 3),共获得鲜竹沥-疾病交集基因 61 个,对应鲜竹沥化合物 12 个,使用 Cytoscape 3.7.2 构建鲜竹沥“成分-靶点”网络(图 4),网络中共有 165 个节点(化合物 12 个节点、靶点 143 个节点);度值

较高的化合物有 MOL000098 (二氢丁香酚)、MOL000422 (香草酸)、MOL000358 (对乙烯基愈创木酚)、MOL000449 (丁香醛)、MOL004561 (对乙基苯酚),表明这些化合物可能是鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”病症的关键化合物。

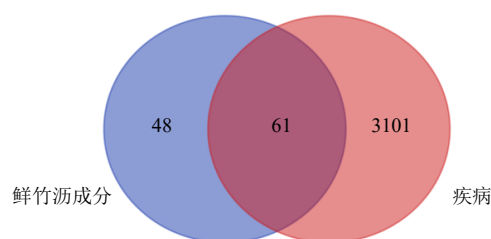


图 3 鲜竹沥成分-疾病交集基因韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of fresh bamboo sap component-disease intersection gene

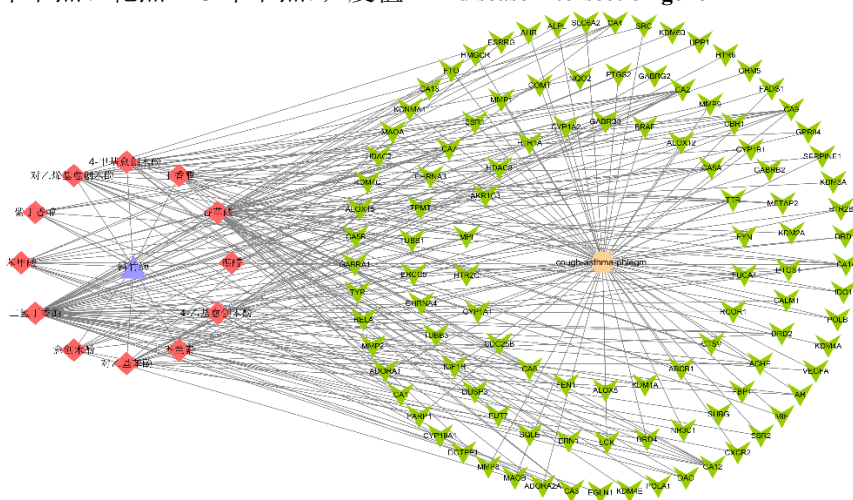


图 4 鲜竹沥“成分-靶点”网络

Fig. 4 Fresh bamboo sap “ingredient-target” network

3.5 核心靶点及 PPI 网络

将韦恩图得到的成分与疾病的共有靶点导入 STRING 11.0 数据库获得靶点间的相互作用,并以.tsv 格式导入 Cytoscape 3.8.0 软件绘制 PPI 网络图,之后拓扑分析,以度值反映靶点大小及颜色,以结合分数反映边的粗细,从而构建网络^[18],如图 5 所示。该网络共有 61 个节点和 281 条边,网络平均邻居节点数为 9.21,核心靶点相关参数见表 3。

3.6 GO 功能与 KEGG 通路富集分析

在 GO 功能富集分析中,共获取 281 个 GO 条目,其中 BP 占 187 个、MF 占 64 个、CC 占 30 个,BP 显著富集炎症反应调节、促分裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein, MAP)的调控、环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)信

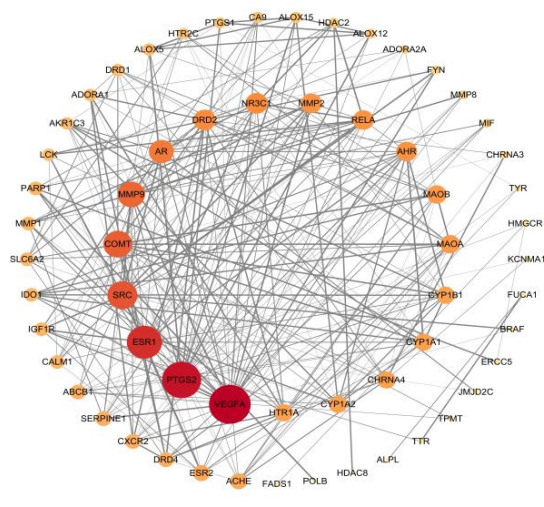


图 5 PPI 网络

Fig. 5 PPI network

表 3 核心靶点相关节点参数

Table 3 Core target related node parameters

基因	度值	最短路径	介数
<i>VEGFA</i>	30	0.602 0	0.171 0
<i>PTGS2</i>	28	0.590 0	0.113 0
<i>ESR1</i>	25	0.608 2	0.121 0
<i>SRC</i>	21	0.551 4	0.055 4
<i>COMT</i>	20	0.517 5	0.100 6
<i>MMP9</i>	19	0.504 2	0.027 8
<i>AR</i>	17	0.517 5	0.037 7
<i>DRD2</i>	15	0.457 3	0.027 0
<i>NR3C1</i>	15	0.513 0	0.048 6
<i>MMP2</i>	14	0.483 6	0.009 2
<i>RELA</i>	14	0.491 6	0.018 1
<i>AHR</i>	14	0.479 6	0.006 2
<i>MAOB</i>	13	0.424 4	0.010 0
<i>MAOA</i>	13	0.443 6	0.127 0
<i>CYP1B1</i>	12	0.495 7	0.011 3

号通路的反应、炎症反应等过程；CC 主要富集在细胞核、细胞膜及外泌体周围区域；MF 主要富集在 Zn 离子结合、氧化还原酶活性、类固醇结合等功能，具体信息见表 4。鲜竹沥中化合物主要富集在炎症反应的调节、MAP 酶活性的正向调节、cAMP 反应、氧化还原过程、炎症反应等靶点，提示鲜竹沥通过多种生物学途径治疗“咳、喘、痰”病症。

KEGG 通路富集结果显示（图 6），61 个交集基因显著富集在 36 条通路上（ $P < 0.05$ ），选取排名前 15 位靶基因功能信息。与抗炎抗感染有关的通路为代谢途径、花生四烯酸代谢、瞬时受体电位（transient receptor potential, TRP）通道炎性介质调节；与神经兴奋有关的通路为羟色胺能突触、神经活性配体-受体相互作用、多巴胺能突触、酪氨酸代谢、苯丙氨酸

表 4 GO 功能富集分析 (top 15)

Table 4 GO enrichment analysis (top 15)

功能	编号	靶点功能	P 值	基因数
BP	GO:0050727	regulation of inflammatory response	0.021 3	3
	GO:0043406	positive regulation of MAP kinase activity	0.018 9	3
	GO:0051591	response to cAMP	0.011 7	3
	GO:0055114	oxidation-reduction process	1.53×10^{-8}	15
	GO:0006954	inflammatory response	5.74×10^{-5}	9
CC	GO:0005886	plasma membrane	3.35×10^{-5}	29
	GO:0016021	integral component of membrane	0.033 9	25
	GO:0005634	nucleus	0.056 9	25
	GO:0016020	membrane	0.001 6	17
	GO:0070062	extracellular exosome	0.017 3	17
MF	GO:0008270	zinc ion binding	0.007 7	11
	GO:0019899	enzyme binding	1.71×10^{-9}	13
	GO:0016491	oxidoreductase activity	7.54×10^{-5}	7
	GO:0005496	steroid binding	1.18×10^{-4}	4
	GO:0042802	identical protein binding	1.05×10^{-5}	13

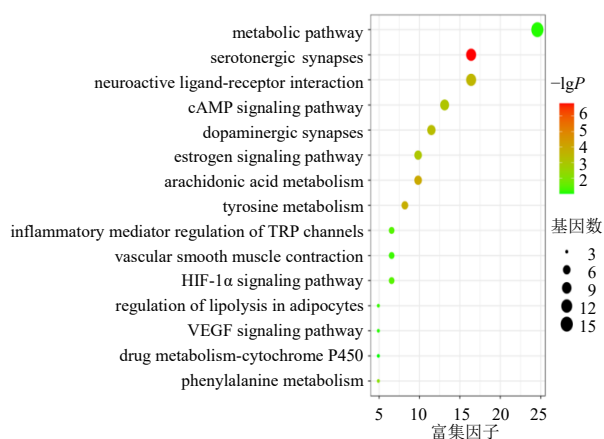


图 6 KEGG 通路富集分析 (top 15)

Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis (top 15)

酸代谢；与细胞刺激导致兴奋的通路为 cAMP 信号通路、雌激素信号通路、血管平滑肌收缩；与代谢有关的通路为脂肪细胞中脂解调控、药物代谢-细胞色素 P450；其他通路为缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 信号通路、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号通路。表明这 15 个核心靶点可能主要通过调控上述通路达到干预疾病的目的。

3.7 分子对接结果

选取 8 个核心靶点与度值较高的化合物进行半柔性对接（表 5），以结合能表示小分子与靶蛋白结合的优劣，结合能小于 0 代表小分子与靶蛋白可自由结合，结合能越小结合的可能性也就越高^[19-20]。

表 5 核心小分子与核心靶蛋白对接结果

Table 5 Docking results of core small molecules and core target proteins

化合物	靶点	PDB ID	结合能/ (kJ·mol ⁻¹)	化合物	靶点	PDB ID	结合能/ (kJ·mol ⁻¹)
香草酸	VEGFA	1flt	-23.848 8	丁香醛	VEGFA	1flt	-22.175 2
	AR	1t65	-25.104 0		AR	1t65	-24.267 2
	ESR1	2iog	-24.267 2		ESR1	2iog	-22.593 6
	COMT	3bwy	-22.175 2		COMT	3bwy	-22.175 2
	MMP9	5i12	-30.124 8		MMP9	5i12	-23.430 4
	PTGS2	5kir	-27.614 4		PTGS2	5kir	-25.522 4
	DRD2	6cm4	-25.522 4		DRD2	6cm4	-22.175 2
	SRC	6f3f	-25.522 4		SRC	6f3f	-24.685 6
对乙基苯酚	VEGFA	1flt	-21.756 8	二氢丁香酚	1FBY	1flt	-22.593 6
	AR	1t65	-23.848 8		VEGFA	1t65	-27.614 4
	ESR1	2iog	-24.267 2		AR	2iog	-23.848 8
	COMT	3bwy	-25.104 0		ESR1	3bwy	-24.267 2
	MMP9	5i12	-27.614 4		COMT	5i12	-28.451 2
	PTGS2	5kir	-25.522 4		MMP9	5kir	-28.869 6
	DRD2	6cm4	-25.940 8		PTGS2	6cm4	-26.359 2
	SRC	6f3f	-23.012 0		DRD2	6f3f	-25.522 4
对乙烯基愈创木酚	VEGFA	1flt	-22.593 6	对乙烯基愈创木酚	MMP9	5i12	-28.451 2
	AR	1t65	-25.940 8		PTGS2	5kir	-27.614 4
	ESR1	2iog	-26.359 2		DRD2	6cm4	-25.940 8
	COMT	3bwy	-22.593 6		SRC	6f3f	-24.685 6

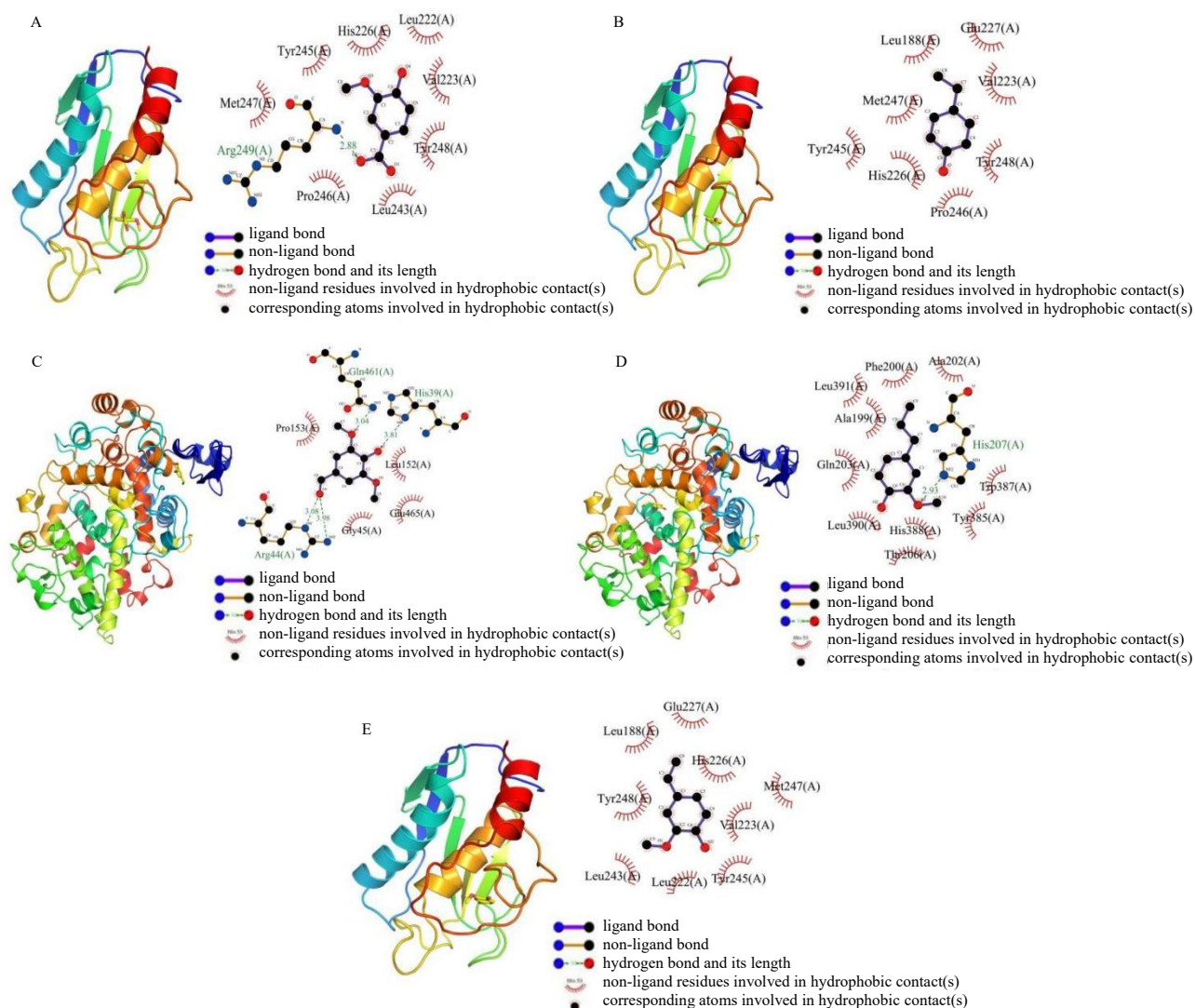
分子对接技术仅作为药物与靶点的结合情况的参考研究，后续将再细化深入。

本研究选取对接结果较好的化合物香草酸、对乙基苯酚、丁香醛、二氢丁香酚、对乙烯基愈创木酚与金属基质蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、前列腺素内过氧化物酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) 的对接情况进行展示 (图 7)，对接结果表明小分子均能进入靶蛋白的活性中心，小分子与这 2 个靶蛋白的结合能最低，表明小分子与这 2 个蛋白的结合能力最强；香草醛与 MMP9 的 Arg249 形成氢键，氢键的长度分别为 0.288 nm；对乙基苯酚未形成氢键，与 MMP9 的 GLU227、Leu188、MET247、Tyr245、His226、Pro246、Tyr248、Val223 残基形成了较强的疏水作用；丁香醛与 PTGS2 的 Gln461、His39、Arg44 3 个残基分别形成 4 个氢键，氢键的长度分别为 0.304、0.381、0.308、0.398 nm；二氢丁香酚与 His207 残基形成了氢键，长度为 0.293 nm；对乙烯基愈创木酚对接未形成氢键，与 MMP9 的 Glu227、Leu188、Tyr248、Lcu243、Leu222、Tyr245、Val223、Met247、His226 形成较强疏水作用。

3.8 鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”的 Q-Marker 的预测分析

根据经典的 2 种竹沥炮制工艺进行制备，先采

用指纹图谱研究其物质基础，根据鲜竹沥对“咳喘痰”的治疗作用，通过“药物-靶点-疾病”网络分析，获得鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”的关键活性成分，并推测潜在治疗靶点 15 个如 VEGFA、多巴胺受体 D2 (dopamine receptor D2, DRD2)、细胞色素 P450 1B1 (cytochrome P450 family 1 subfamily B member 1, CYP1B1)、雌性激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1) 等^[19-20]，通过调节花生四烯酸代谢、TRP 通道、炎症反应相关酶抗炎；通过激活 cAMP 信号通路、雌激素信号通路、HIF-1 信号通路、VEGF 信号通路、调控 MAP 激酶活性及 cAMP 反应控制机体血管平滑肌收缩重构、氧化还原^[21-23]等，综合上述过程，发挥对咳嗽、痰喘病症的治疗作用。预测度值较高的化合物二氢丁香酚、香草酸、对乙烯基愈创木酚、丁香醛、对乙基苯酚可能是鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”病症的关键化合物，预测为鲜竹沥的 Q-Marker。其中酚酸类香草酸能够抑制花生四烯酸诱导的血小板聚集作用，具有抗炎、抗氧化的药理作用，通过调控脂多糖刺激的小鼠腹腔巨噬细胞中的核转录因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB) 抑制炎症^[24-25]。丁香醛具有抗氧化、抗炎作用，对心脏有一定的保护作用^[26]。二氢丁香酚、对乙烯基愈创木酚及对乙基苯酚为天然酚类抗氧化剂，对清除自由基有重要作用^[27]。其中丁香醛、二氢丁香酚、香草



A-香草酸-MMP9 B-对乙基苯酚-MMP9 C-丁香醛-PTGS2 D-二氢丁香酚-MMP9 E-对乙烯基愈创木酚-MMP9
A-vanillic acid-MMP9 B-p-ethylphenol-MMP9 C-syringaldehyde-PTGS2 D-dihydroeugenol-MMP9 E-p-vinylguaiaicol-MMP9

图 7 蛋白相互作用模式分析

Fig. 7 Protein interaction mode analysis

酸、对乙基苯酚为干馏法的特有成分。

3.9 Q-Marker 的有效性佐证

预测的 Q-Marker 通过分子对接佐证其生物活性，通过文献佐证其有效性，通过文献检索对鲜竹沥中的成分的药效靶向组织、作用、应用见表 6。

核心靶点 VEGFA 可通过调节产生前列环素、增加超氧化物歧化酶的表达等维持和保护肺血管的正常结构，在维持肺脏正常发育和生理功能以及修复损伤方面起着关键作用^[28-29]。雄性激素受体 (androgen receptor, AR) 及其受体水平高低可能是其治疗慢性支气管炎的作用机制之一^[30-31]。ESR1 对 ESR1 抑癌基因的失活与启动子病变甲基化有关^[32]。

同时 ESR1、VEGF 作为哮喘候选基因可能会导致肺功能下降^[33]。DRD2 可以减少肿瘤细胞的生长，DRD2 的激动剂能以剂量和时间相关性的方式抑制非小细胞肺癌细胞增殖，被认为可能是肺癌患者的潜在治疗靶点^[34-35]。VEGF 能够通过抑制炎症及 CD133⁺ 祖细胞调节保护肺部免受炎症损伤^[36]，通过刺激肺细胞增殖和迁移防止肺细胞死亡，是肺气肿的肺泡结构恢复剂^[37]。PTGS2 为前列腺素生物合成中的关键酶，与气道炎症与慢性阻塞性肺疾病的发病有关^[38-39]。MMP9 能使白细胞介素-8 向中性粒细胞的趋化活性增加，并通过释放 VEGF 以参与血管生成，加剧呼吸道纤维化从而气道重建^[40-41]。

表 6 鲜竹沥 Q-Marker 文献相关信息

Table 6 Literature related information of Q-Marker of fresh bamboo sap

Q-Marker	靶向组织/细胞	作用	应用	文献
二氢丁香酚	脑、心血管、癌细胞	较强的自由基清除活性，与活性氧的消除有关	糖尿病、心血管疾病、癌变、阿尔茨海默病	42-47
香草酸	肺、癌细胞	清除自由基，通过抑制炎症介质和调节大鼠免疫球蛋白水平抗炎；抑制癌细胞的侵袭和迁移，并抑制癌细胞分泌的 MMP9 活性	肺部及气道炎症、肺癌	48-50
对乙烯基愈创木酚	肺、肝脏	降低肝组织的损伤、减少脂质过氧化，提高机体抗氧化能力，防止氧化应激	急慢性肺脓肿、慢性非结核性肺脓肿、化痰止咳	51-52
丁香醛	脑、神经、肝脏、脾脏、盲肠	升高脑组织超氧化物歧化酶活力、降低核呼吸因子 I 水平，改善神经功能；抑制沙门氏菌的致病力	神经保护、脑及脊髓缺血、沙门氏菌感染	53-55
对乙基苯酚	心脑血管	抑制血小板聚集，与血红蛋白结合发挥清除自由基的作用	抗衰老、心脑血管疾病、炎症反应	56-57

3.10 网络药理学分析方法可靠性评价

网络药理学为中医药学研究新技术和新方法^[58]，根据世界中医药学会联合会 2021 年发布的《网络药理学评价方法指南》^[59]以及李梢教授团队发表的“《网络药理学评价方法指南》解读”^[60]，对本研究所涉及的网络药理学分析方法进行可靠性评价，表明本研究虽预测了鲜竹沥的 Q-Marker，但对成分的有效性缺乏相关体内实验验证；数据来源如相关文献、各类数据库收集的数据也尚需扩充，药物的成分仅由 GC-MS 检测，后续还需采用液质仪器、核磁共振等扩充鲜竹沥的物质基础库；针对研究的具体疾病，综合考虑因素较为简单，中医病证与西医的症状不完全等同，存在遗漏个别靶标的可能性；分子对接方法通过简单的模拟化合物与靶点自由结合能相比较，此结果能为后续的研究提供参考依据，因此后期将继续对鲜竹沥的不同炮制方法及其物质基础进一步扩充，对 Q-Marker 的“咳、喘、痰”药效活性及作用机制采用组学、生物芯片等实验技术方法进行验证和阐释。

4 讨论

鲜竹沥载于《本草纲目》，主治病症为肺热咳嗽痰多、气喘胸闷。其中“咳”用现代药理解释为咳嗽，“喘”解释为喘息、哮喘，“痰”多数表现在气道的分泌物增多。本研究从 Q-Marker 的“五原则”出发，采用经典火烤法及干馏法制备鲜竹沥，GC-MS 方法检测 8 批鲜竹沥中的挥发性、小分子成分，获得鲜竹沥指纹图谱并确定火烤法共 15 个共有峰，干馏法共 51 个共有峰，并筛选出的 14 个特征成分峰。以特征成分作为 Q-Marker 备选成分，通过网络药理学预测二氢丁香酚、香草酸、对乙烯基愈创木

酚、丁香醛、对乙基苯酚为鲜竹沥挥发性成分的 Q-Marker 成分。并用文献检索出二氢丁香酚及丁香醛具有较强的抗炎及自由基清除活性；香草酸有抑制氧化应激和预防肺部气道炎症有关与肺部肿瘤细胞具有相关性；对乙烯基愈创木酚具有抗氧化、护肝以及改善神经功能有较强的药理作用；丁香醛具有抑制沙门氏菌的致病力；对乙基苯酚作为酚类成分，具有较强抗炎、抗氧化作用。

核心靶点 VEGFA、AR、ESR1、DRD2、VEGF、PTGS2、MMP9、邻苯二酚-O-甲基转移酶 (catechol-O-methyltransferase, COMT) 与鲜竹沥 Q-Marker 抗炎、神经保护、抗肺部肿瘤等相关，其主要通路为调节炎症反应、激活 cAMP 信号通路、调节血管平滑肌收缩、缺氧诱导因子 HIF-1 信号通路、VEGF 信号通路，激活炎症反应相关酶、cAMP 反应。BP 主要富集在炎症反应调节、MAP 酶的调控、cAMP 的反应、炎症反应等过程；CC 主要富集在细胞核、细胞膜及外泌体周围区域；MF 主要富集在 Zn 离子结合、氧化还原酶活性、类固醇结合等功能上，核心靶点主要分布于脑、心血管、肿瘤细胞 (尤其是肺肿瘤细胞)、肺、肝脏、神经、脾脏、盲肠，并有较高表达量，分子对接则表明 Q-Marker 与核心靶点有较好的结合能力，理论上表明核心靶点与 Q-Marker 之间有一定的生物活性。文献报道及临床使用鲜竹沥多用于治疗咳、喘、痰，作用多在大脑，肺部、心血管、肝脏，与核心靶点组织分布基本一致，表明核心靶点、通路、Q-Marker 具有相关性。

中药质量是中药临床安全有效的基础，从中药的治疗作用着手，找到影响治疗作用的成分，并进行质量控制，体现了 Q-Marker 的整体观，为鲜竹沥

质量标准的提升及全程质量控制提供参考^[61-62]。本研究采用网络药理学和分子对接方法,表明鲜竹沥的治疗是通过多成分、多靶点发挥起效,仅掌握单一成分尚不能全面客观的评价中药质量,通过多成分-多靶点网络药理学方法得到的成分可以为分析预测鲜竹沥的 Q-Marker 提供了有力的证据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 清·顾观光. 神农本草经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1956: 44-45.
- [2] 中华人民共和国卫生部药品标准·中药材 (第一册) [S]. 1977: 635.
- [3] 李景荣. 备急千金要方校释 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 65.
- [4] 明·李时珍. 本草纲目 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 19-24.
- [5] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [6] 张铁军, 白钢, 陈常青, 等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物 (Q-marker) 研究路径 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 1-13.
- [7] 周文霞, 程肖蕊, 张永祥. 网络药理学: 认识药物及发现药物的新理念 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(1): 4-9.
- [8] 解静, 高杉, 李琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2257-2265.
- [9] 李梢. 中医证候与分子网络调节机制的可能关联 [A] // 面向 21 世纪的科技进步与社会经济发展 (上册) [C]. 杭州: 中国科学技术协会学会学术部, 1999: 1.
- [10] 李梢, 王永炎, 季梁, 等. 复杂系统意义下的中医药学及其案例研究 [J]. 系统仿真学报, 2002, 14(11): 1429-1431.
- [11] Li S, Zhang Z Q, Wu L J, *et al.* Understanding ZHENG in traditional Chinese medicine in the context of neuro-endocrine-immune network [J]. *IET Syst Biol*, 2007, 1(1): 51-60.
- [12] 李梢. 中医药计算系统生物学与寒热证候研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(1): 105-111.
- [13] 李梢. 基于生物网络调控的方剂研究模式与实践 [J]. 中西医结合学报, 2007, 5(5): 489-493.
- [14] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(2): 110-120.
- [15] 胡恋琪, 孙豪杰, 熊优, 等. 基于“成分-靶点-代谢”预测分析黄芩酒炙前后质量标志物 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2618-2626.
- [16] 钟仁兴, 丁子禾, 杨燕妮, 等. 基于网络药理学分析的橘红痰咳液主治“痰、咳、喘”的药效物质基础与作用机制研究 [J]. 药学报, 2020, 55(9): 2134-2144.
- [17] 李静, 高丽, 高耀, 等. 基于网络药理学的款冬花止咳化痰活性成分靶点探究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 179-187.
- [18] 刘志强, 王博龙. 中药网络药理学药效成分筛选与靶标预测的研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41(1): 171-178.
- [19] Xia Q Q, Liu M T, Li H, *et al.* Network pharmacology strategy to investigate the pharmacological mechanism of HuangQiXiXin Decoction on cough variant asthma and evidence-based medicine approach validation [J]. *Evid Based Complement Altern Med*, 2020, 2020: 3829092.
- [20] 范荣荣. 温肺疏风方治疗咳嗽变异性哮喘的临床疗效评价及分子机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [21] Huang X F, Cheng W B, Jiang Y, *et al.* A network pharmacology-based strategy for predicting anti-inflammatory targets of *Ephedra* in treating asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106423.
- [22] 王露, 郑夺, 贾淑杰. 网络药理学在呼吸系统疾病中的应用 [J]. 天津药学, 2020, 32(1): 69-73.
- [23] 牛逸群. 张洪春教授治疗支气管哮喘用药探析及网络药理学分析 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [24] Kim M C, Kim S J, Kim D S, *et al.* Vanillic acid inhibits inflammatory mediators by suppressing NF- κ B in lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2011, 33(3): 525-532.
- [25] 孔令雷, 王海港, 刘成娣, 等. 香草酸抗血小板聚集作用的体内外研究 [J]. 中国药物警戒, 2020, 17(6): 342-347.
- [26] Shahzad S, Mateen S, Mubeena Mariyath P M, *et al.* Protective effect of syringaldehyde on biomolecular oxidation, inflammation and histopathological alterations in isoproterenol induced cardiotoxicity in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 625-633.
- [27] Yancheva D, Velcheva E, Glavcheva Z, *et al.* Insights in the radical scavenging mechanism of syringaldehyde and generation of its anion [J]. *J Mol Struct*, 2016, 1108: 552-559.
- [28] 蒋明, 王鹏雁. 自噬在慢性阻塞性肺疾病发病机制中的作用及其研究进展 [J]. 中国全科医学, 2017, 20(18): 2183-2187.
- [29] Liu T, Wu B, Wang Y H, *et al.* Particulate matter 2.5 induces autophagy via inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin kinase signaling pathway in human bronchial epithelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 1914-1922.
- [30] 梁澍, 李红, 王琦, 等. 原发性肺癌中 bcl-2 与 ER、PR、AR 的表达及相关关系 [J]. 肿瘤防治研究, 1999, 26(4): 321.
- [31] 王淑玲. 补肾化痰中药对慢性支气管炎动物模型神经-内分泌-免疫网络的影响 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2002.
- [32] Suga Y, Miyajima K, Oikawa T, *et al.* Quantitative p16 and ESR1 methylation in the peripheral blood of patients with

- non-small cell lung cancer [J]. *Oncology Reports*, 2008, 20(5): 1137-1142.
- [33] Hur G Y, Broide D H. Genes and pathways regulating decline in lung function and airway remodeling in asthma [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2019, 11(5): 604-621.
- [34] Wu X Y, Zhang C X, Deng L C, *et al.* Overexpressed D2 dopamine receptor inhibits non-small cell lung cancer progression through inhibiting NF- κ B signaling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(6): 2258-2272.
- [35] Meng Z, Liu X, Wu J, *et al.* Mechanisms of compound Kushen injection for the treatment of lung cancer based on network pharmacology [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 4637839.
- [36] Qiu Y, Chen C, Zhang J, *et al.* VEGF attenuates lung injury by inducing homing of CD133⁺ progenitors via VEGFR1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 511(3): 650-657.
- [37] Kim S H, Pei Q M, Jiang P, *et al.* Upregulation of MUC5AC by VEGF in human primary bronchial epithelial cells: Implications for asthma [J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 282.
- [38] Yuan J, Liu R, Ma Y, *et al.* Curcumin attenuates airway inflammation and airway remodeling by inhibiting NF- κ B signaling and COX-2 in cigarette smoke-induced COPD mice [J]. *Inflammation*, 2018, 41(5): 1804-1814.
- [39] 崔明超, 王翰华, 陈少军. 基于网络药理学及分子对接的浙贝母花-枇杷花药对止咳化痰作用机制研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(2): 282-290.
- [40] 黄小龙. 血清及痰液 MMP、TIMP 及 TNF- α 与支气管哮喘患者气道重塑的关系 [J]. *实用临床医药杂志*, 2016, 20(1): 52-55.
- [41] Lindley S E, She X, Schatzberg A F. Monoamine oxidase and catechol-O-methyltransferase enzyme activity and gene expression in response to sustained glucocorticoids [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2005, 30(8): 785-790.
- [42] Gusdon A M, Chen J, Mathews C E. 27. mt-Nd2c increases susceptibility to type 1 diabetes (T1D) by increasing mitochondrial reactive oxygen species (ROS) production [J]. *Mitochondrion*, 2009, 9(1): 67-68.
- [43] Abe J, Bradford C B. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease [J]. *Trends Cardiovas Med*, 1998, 8(2): 59-64.
- [44] Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications [J]. *Drug Resist Updates*. 2004, 7(2): 97-110.
- [45] Migliore L, Coppèdè F. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging [J]. *Mutat Res*, 2009, 674(1/2): 73-84.
- [46] Velez-Pardo C, Jimenez Del Rio M, Lopera F. Familial Alzheimer's disease: Oxidative stress, β -amyloid, presenilins, and cell death [J]. *General Pharm*. 1998, 31(5): 675-681.
- [47] Merchán Arenas D R, Acevedo A M, Vargas Méndez L Y, *et al.* Scavenger activity evaluation of the clove bud essential oil (*Eugenia caryophyllus*) and eugenol derivatives employing ABTS decolorization [J]. *Sci Pharm*, 2011, 79(4): 779-791.
- [48] Velli S K, Thiruvengadam D. Vanillic acid inhibits lung carcinogenesis by modulates glycoprotein abnormalities, membrane-bound enzymes, and inflammatory markers [J]. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2020: 83-88.
- [49] Bai F, Fang L Y, Hu H Z, *et al.* Vanillic acid mitigates the ovalbumin (OVA)-induced asthma in rat model through prevention of airway inflammation [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2019, 83(3): 531-537.
- [50] Lirdprapamongkol K, Sakurai H, Kawasaki N, *et al.* Vanillin suppresses *in vitro* invasion and *in vivo* metastasis of mouse breast cancer cells [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2005, 25(1): 57-65.
- [51] 金晓飞. 竹沥 GC/MS 成分分析及药理研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- [52] Nammack C H. The treatment of lung abscess by means of guaiacol intravenously [J]. *J Am Med Assoc*, 1937, 109(5): 330.
- [53] Bozkurt A A, Mustafa G, Tarık A, *et al.* Syringaldehyde exerts neuroprotective effect on cerebral ischemia injury in rats through anti-oxidative and anti-apoptotic properties [J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(21): 1884-1890.
- [54] 吕强华. 丁香醛对沙门氏菌III型分泌系统的抑制作用及机制 [D]. 长春: 吉林大学, 2020.
- [55] Malçok Ü A, Aras A B, Şehitoğlu M H, *et al.* Therapeutic effects of syringaldehyde on spinal cord ischemia in rabbits [J]. *Saudi Med J*, 2020, 41(4): 341-350.
- [56] 柴春晓, 江帆, 郑轲, 等. 4-乙基苯酚低聚物的酶催化合成及抗氧化性能研究 [J]. *化学研究*, 2017, 28(4): 487-492.
- [57] 龚含情, 陈建波. 利用光谱法和分子对接技术研究 4-乙基-2-甲氧基苯酚与人血清白蛋白之间的相互作用 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2018, 38(6): 1869-1873.
- [58] Li S. Exploring traditional Chinese medicine by a novel therapeutic concept of network target [J]. *Chin J Integr Med*, 2016, 22(9): 647-652.
- [59] 世界中医药学会联合会. 网络药理学评价方法指南 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(4): 527-532.
- [60] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [61] 叶霁, 李睿旻, 曾华武, 等. 基于整体观中药质量标志物的发现及研究进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(19): 4529-4537.
- [62] Li D, Lv B, Wang D, *et al.* Network pharmacology and bioactive equivalence assessment integrated strategy driven Q-markers discovery for Da-Cheng-Qi Decoction to attenuate intestinal obstruction [J]. *Phytomedicine*, 2020, 72: 153236.

[责任编辑 李亚楠]