

## 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 及网络药理学探讨麻杏止哮颗粒治疗哮喘的有效成分和作用机制

王 玉<sup>1</sup>, 于桂芳<sup>2,3</sup>, 胡军华<sup>2,3</sup>, 周 萌<sup>2,3</sup>, 肖 伟<sup>1,2,3</sup>, 王振中<sup>1,2,3\*</sup>

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

**摘要:** 目的 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术和网络药理学探讨麻杏止哮颗粒治疗哮喘的有效成分和作用机制。方法 通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术及中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 数据库筛选麻杏止哮颗粒的活性成分和相关靶点; 利用 Disgenet、Genecards 数据库检索哮喘疾病靶点, 利用韦恩图绘制平台获取共有靶点, 并将信息导入 Cytoscape3.9.1 软件和 STRING 在线分析平台, 进行网络拓扑学分析, 构建药物关键活性成分-关键靶点网络和药物-有效成分-核心靶点网络; 基于核心靶点通过 DAVID 数据库进行基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析。结果 结合质谱分析与数据库筛选得到药物活性成分 24 个, 药物靶点 147 个, 疾病靶点 1483 个, 共同靶点 106 个, 关键活性成分 23 个; 经蛋白质相互作用分析及网络拓扑分析后, 获取核心靶点 10 个, 分别是肿瘤坏死因子、白细胞介素-6、细胞肿瘤抗原 p53、白细胞介素-1 $\beta$ 、血管内皮生长因子 A、表皮生长因子受体、分裂原活化蛋白激酶 3、半胱氨酸蛋白酶 3、基质金属蛋白酶 9、纤连蛋白 1, 药物有效成分 5 个, 包括槲皮素、异鼠李素、汉黄芩素、柚皮素、儿茶素; GO 富集到基因功能 69 个, KEGG 富集到基因通路 70 条, 分析结果表明, 麻杏止哮颗粒治疗哮喘的作用机制是通过调节晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体信号通路在糖尿病并发症中的作用、分裂原活化蛋白激酶信号通路、白细胞介素-17 信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B 信号通路、人类巨细胞病毒感染通路等来发挥治疗哮喘的作用。结论 初步揭示了麻杏止哮颗粒治疗哮喘的有效成分和作用机制, 为麻杏止哮颗粒药效物质基础研究奠定基础, 为质量控制提供参考依据。

**关键词:** 麻杏止哮颗粒; 哮喘; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 网络药理学; 槲皮素; 异鼠李素; 汉黄芩素; 柚皮素; 儿茶素

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)17-5508-14

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.17.005

## Exploring effective components and mechanism of action of Mxing Zhixiao Granules in treatment of asthma based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology

WANG Yu<sup>1</sup>, YU Gui-fang<sup>2,3</sup>, HU Jun-hua<sup>2,3</sup>, ZHOU Mao<sup>2,3</sup>, XIAO Wei<sup>1,2,3</sup>, WANG Zhen-zhong<sup>1,2,3</sup>

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

**Abstract: Objective** To explore the effective components and mechanism of action of Mxing Zhixiao Granules in the treatment of asthma based on UPLC-Q-TOF-MS/MS technology and network pharmacology. **Methods** The active components and related targets of Mxing Zhixiao Granules were screened by UPLC-Q-TOF-MS/MS technology and the database of Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP); The targets of asthma diseases were searched using Disgenet and Genecards databases, and the Venn diagram drawing platform was used to obtain common targets. The information was imported into Cytoscape 3.9.1 software and STRING online analysis platform for network topology analysis to construct drug key active ingredient-key target network diagram and drug-active ingredient-core target network; Gene ontology (GO) and Kyoto

收稿日期: 2023-01-21

基金项目: 科技部国家新药创制重大专项-中药经典名方开发 (2015ZX09101043-003)

作者简介: 王 玉 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制药技术与产品开发。E-mail: 3097076846@qq.com

\*通信作者: 王振中 (1968—), 男, 博士, 高级工程师, 主要从事中药新剂型研发。E-mail: wzzh-nj@163.com

encyclopedia of genes and genomes (KEGG) were enriched and analyzed by DAVID database based on core targets. **Results** Combined with mass spectrometry analysis and database screening, 24 active pharmaceutical ingredients, 147 drug targets, 1483 disease targets, and 106 common targets and 23 key active ingredients were obtained. After protein interaction analysis and network topology analysis, 10 core targets were obtained, including tumor necrosis factor, interleukin-6, cellular tumor antigen p53, interleukin-1 beta, vascular endothelial growth factor A, epidermal growth factor receptor, mitogen-activated protein kinase 3, caspase-3, matrix metalloproteinase-9, fibronectin, five active ingredients, including quercetin, isorhamnetin, wogonin, naringenin, catechin; GO was enriched to 69 gene functions, and KEGG was enriched to 70 gene pathways. The analysis results showed that the mechanism of action of Maxing Zhixiao Granules in the treatment of asthma is to regulate the role of advanced glycation end products-advanced glycation end products receptor signaling pathway in diabetic complications, mitogen-activated protein kinase signaling pathway, interleukin-17 signaling pathway, phosphatidylinositol 3 kinase-protein kinase B signaling pathway, and human cytomegalovirus infection pathway, etc. **Conclusion** This study preliminarily revealed the effective components and mechanism of action of Maxing Zhixiao Granules in the treatment of asthma, laying a foundation for the basic research on the pharmacodynamic substances of Maxing Zhixiao Granules and providing a reference for quality control.

**Key words:** Maxing Zhixiao Granules; asthma; UPLC-Q-TOF-MS/MS; network pharmacology; quercetin; isorhamnetin; wogonin; naringenin; catechin

支气管哮喘, 简称哮喘, 是由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性呼吸系统疾病。我国乃至全球的支气管哮喘发病率正在逐年上升, 据全球哮喘防治倡议预计, 2025 年全球哮喘患者将增加至 4 亿<sup>[1]</sup>。哮喘造成的疾病负担严重影响了患者生活质量, 造成了巨大的个人和社会经济负担。目前, 如何防治哮喘已成为我国医学界所面临的重要课题之一。中医在治疗支气管哮喘方面有着独特的优势, 遵循整体观念和辨证论治的原则, 通常采用多种治疗手段、给药途径相结合, 不仅可以改善患者的症状, 同时可以改善肺功能、炎症反应等, 而且可以消除病理产物, 缩短疗程, 增强体质, 提高抗病能力, 预防复发<sup>[2]</sup>。

麻杏止哮颗粒是江苏康缘药业股份有限公司研制的治疗哮喘的现代中药, 处方由蜜麻黄、苦杏仁、桑白皮、黄芩、前胡、甘草等 13 味药组成。其功能主治为宣肺平喘、清热化痰、息风解痉, 用于支气管哮喘慢性持续期, 症见喘息、气急、胸闷、咳嗽、咽喉不利等属热哮证者。麻杏止哮颗粒对于哮喘表现出良好的临床治疗效果, 但是该处方潜在的有效成分及作用机制尚不明确。因此, 本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对麻杏止哮颗粒的化学成分进行分析和鉴定, 以网络药理学为主要研究方法, 对麻杏止哮颗粒治疗哮喘的有效成分和作用靶点进行筛选, 揭示麻杏止哮颗粒治疗哮喘的作用机制, 为麻杏止哮颗粒的临床应用及后续研究提供参考。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1290 infinity 超高效液相色谱仪 (美国

安捷伦公司), Agilent 6538 Q-TOF 质谱仪 (美国安捷伦公司); Musshunter 色谱工作站和 Qualitative Analysis 质谱分析软件; Mettler Toledo AL204 型万分之一电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); Mettler Toledo XP6 型百万分之一电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); KB-500DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); TG16MW 型台式高速离心机 (湖南赫西仪器装备有限公司); Milli-Q 型超纯水仪 (美国密理博公司)。

### 1.2 试药

麻杏止哮颗粒 (江苏康缘药业股份有限公司, 批号 200801); 甲醇 (分析纯, 批号 20211105, 国药集团化学试剂有限公司); 乙腈 (质谱纯, 批号 21125087, MTEDIA); 甲酸 (质谱纯, 批号 202674, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司), 超纯水 (自制)。对照品精氨酸 (批号 140685-201707, 质量分数 99.9%)、蔗糖 (批号 111507-201704, 质量分数 100.0%)、缬氨酸 (批号 140681-201703, 质量分数 99.5%)、酪氨酸 (批号 140609-201914, 质量分数 99.9%)、没食子酸 (批号 110831-201906, 质量分数 91.5%)、苯丙氨酸 (批号 111615-200301, 质量分数 100.0%)、盐酸伪麻黄碱 (批号 171237-201510, 质量分数 99.8%)、绿原酸 (批号 110753-2021119, 质量分数 98.0%)、异绿原酸 A (批号 111782-201807, 质量分数 94.3%)、异绿原酸 C (批号 111894-202103, 质量分数 89.6%)、原儿茶酸 (批号 110809-201205, 质量分数 99.9%)、甘草苷 (批号 111610-201908, 质量分数 95.0%)、迷迭香酸 (批号 111871-202007,

质量分数 98.1%)、黄芩苷(批号 110715-202122, 质量分数 94.2%)、汉黄芩苷(批号 112002-201702, 质量分数 98.5%)、汉黄芩素(批号 111514-201706, 质量分数 95.0%)、芦丁(批号 100080-201409, 质量分数 92.6%)、次野鸢尾黄素(批号 111557-201703, 质量分数 99.9%)、白花前胡甲素(批号 111711-201904, 质量分数 99.4%)、白花前胡乙素(批号 111904-201804, 质量分数 98.9%)、黄芩素(批号 111595-201808, 质量分数 97.9%)、琥珀酸(批号 110896-200001, 质量分数 95.0%)均购自中国食品药品检定研究院; 异绿原酸 B(批号 MUST-22010705, 质量分数 98.27%)购自成都曼思特生物科技有限公司; 芹糖甘草苷(批号 wkq918020107, 质量分数 98.0%)购自四川省维克奇生物科技有限公司; 毛蕊异黄酮(批号 ST08810120-10103, 质量分数 98.0%)、甘草酸(批号 RS00661020-5559, 质量分数 96.3%)均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司; 千层纸素苷(批号 M20H182557, 质量分数 98.0%)购自上海源叶生物科技有限公司; 白花前胡丙素(批号 180927, 质量分数 98.0%)购自南京森贝伽生物科技有限公司; 新绿原酸(批号 BCBL3529V, 质量分数 98.0%)购自 Sigma 公司; 天冬氨酸(批号 A1330000-0077Q5, 质量分数 99.9%)购自 European Pharmacopoeia Reference Standard 公司。

### 1.3 数据库与软件

中药系统药理学数据库与分析平台 TCMSP (<http://tcmsp.w.com/tcmsp.php>); DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>); Genecards 数据库 (<http://www.genecards.org/>); Unitprot 数据库 (<http://www.unitprot.org/>); STRING 平台 (<https://string-db.org/>); Cytoscape 3.9.1 软件 (<https://cytoscape.org/>); DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>); 韦恩图绘制平台 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>); 微生信在线平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>)。

## 2 方法

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 供试品溶液的制备** 麻杏止咳颗粒研成细粉后, 取粉末约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇溶液 50 mL, 超声处理(500 W、40 kHz) 30 min, 放冷, 摇匀, 离心, 取上清液过 0.22  $\mu$ m 滤膜, 取续滤液, 即得。

**2.1.2 混合对照品溶液的制备** 精密称取对照品酪氨酸、芹糖甘草苷、白花前胡丙素、天冬氨酸和毛蕊

异黄酮各 1 mg 及其余 25 个对照品各 5 mg, 置于 50 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇并定容至刻度, 制备成酪氨酸、芹糖甘草苷、白花前胡丙素、天冬氨酸和毛蕊异黄酮质量浓度均为 20  $\mu$ g/mL, 及其余 25 个对照品质量浓度均为 100  $\mu$ g/mL 的混合对照品溶液, 即得。

### 2.2 色谱条件

色谱柱: Waters Atlantis T<sub>3</sub> C<sub>18</sub>(150 mm×4.6 mm, 3  $\mu$ m) 色谱柱; 流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱: 0~5 min, 0~5% B; 5~12 min, 5%~11% B; 12~20 min, 11%~19% B; 20~22 min, 19%~20% B; 22~27 min, 20% B; 27~34 min, 20%~30% B; 34~44 min, 30%~40% B; 44~56 min, 40%~90% B; 56~58 min, 90%~100% B; 58~60 min, 100% B; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30  $^{\circ}$ C; 进样量 10  $\mu$ L; 检测波长 300 nm。

### 2.3 质谱条件

离子化模式为电喷雾正、负离子模式, 正负离子源电压均为 4000 V, 离子扫描范围为  $m/z$  100~3000, 干燥气体积流量 10 L/min, 干燥气温度 350  $^{\circ}$ C, 雾化压力 344.75 kPa, 锥孔电压 65 V, 裂解电压 135 V, 二级碰撞能量分别采用 10、20、30、40 eV。

### 2.4 化学成分分析

结合查阅中英文相关文献与搜索 TCMSP 在线数据库, 收集麻杏止咳颗粒组方 13 味药材的化学成分信息, 建立化合物数据库。通过对麻杏止咳颗粒样品进行一级质谱分析, 利用 Musshunter 色谱工作站和 Qualitative Analysis 质谱分析软件生成化合物分子式, 选择误差在  $5 \times 10^{-6}$  以内的分子式进行数据库自动匹配, 快速指认可能的化合物; 进而选择目标化合物进行二级质谱扫描, 得到化合物的碎片离子信息, 结合对照品裂解规律以及文献资料对目标化合物进行鉴定和分析, 并对药材来源进行归属。

### 2.5 药物活性成分及对应靶点筛选、哮喘疾病靶点预测

基于“2.4”项药物质谱分析得到的结果, 通过 TCMSP 筛选口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 、类药性(drug-likeness, DL)  $\geq 0.18$  的活性成分, 同时查找活性成分对应的靶点蛋白, 通过 Unitprot 数据库确定靶点蛋白的基因简称。以“asthma”为关键词对 DisGeNET 数据库和 Genecards 数据库进行检索, 对哮喘的相关基因进行检索, 将搜索结果整合去重后, 建立哮喘的预测靶点库。

### 2.6 药物关键活性成分-关键靶点的网络构建

利用韦恩图在线绘制工具将药物活性成分的作

用靶点与疾病靶点进行匹配映射, 获得两者共同的基因即麻杏止哮颗粒治疗哮喘的关键作用靶点, 将关键作用靶点对应的活性成分预测作为麻杏止哮颗粒治疗哮喘疾病的关键活性成分, 以 Cytoscape3.9.1 软件构建麻杏止哮颗粒“关键活性成分-关键靶点”网络。

## 2.7 药物有效成分-核心靶点的网络构建

将关键作用靶点上传至 STRING 平台, 物种设为“Homo sapiens”, 设定高级筛选条件“high confidence (0.700)”, 构建关键靶点蛋白相互作用关系网络图; 将得到的结果以 TSV 格式下载并保存, 导入 Cytoscape3.9.1 软件, 利用其中的“Network Analyzer”功能进行网络拓扑学分析。利用连接度 (degree)、介度 (betweenness)、紧密度 (closeness) 3 个拓扑参数进行筛选, 首次筛选以 degree 值中位数的 2 倍作为筛选条件, 第二次筛选取 degree、betweenness、closeness 这 3 个参数的中位数作为筛选条件, 筛选后获得核心靶点, 构建核心靶点筛选过程网络图。将核

心靶点对应的活性成分预测作为麻杏止哮颗粒治疗哮喘疾病的有效成分, 将两者导入 Cytoscape 3.9.1 软件构建“麻杏止哮颗粒有效成分-核心靶点”网络图。

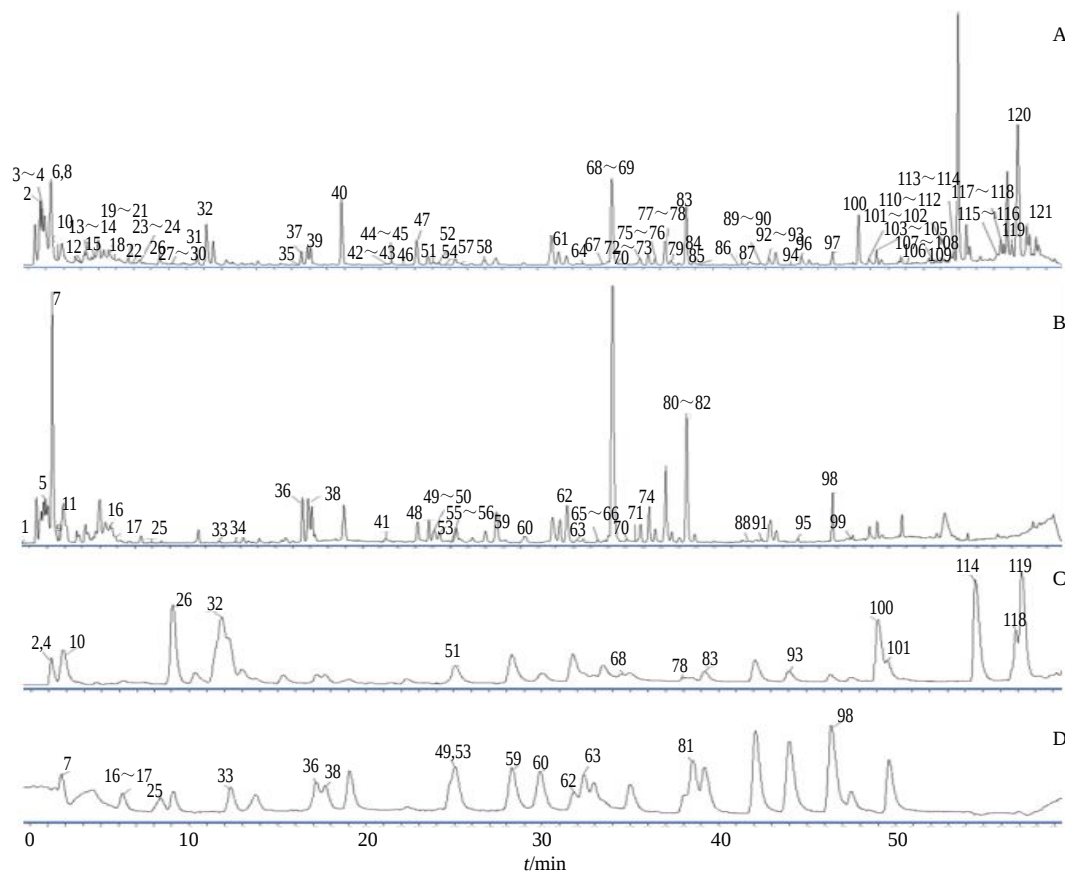
## 2.8 基因本体 (gene ontology, GO) 功能分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析

利用 DAVID 数据库对核心靶点基因进行 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析, 物种设为“Homo sapiens”, 设定  $P < 0.01$ , 分析麻杏止哮颗粒的潜在生物学过程和通路, 根据富集基因数目由多到少进行降序排列, 利用微生信平台对位居前列的生物学过程和通路绘制 GO 功能富集分析柱状图和 KEGG 通路富集分析气泡图。

## 3 结果

### 3.1 化学成分分析

麻杏止哮颗粒样品和混合对照品的正、负离子模式的总离子流图见图 1。共鉴定和推测出 121 个化合



A-麻杏止哮颗粒正离子 B-麻杏止哮颗粒负离子 C-混合对照品正离子 D-混合对照品负离子

A-Positive ion of Mxing Zhixiao Granules B-Negative ion of Mxing Zhixiao Granules C-Positive ion of mixed reference substance D-Negative ion of mixed reference substance

图 1 麻杏止哮颗粒与混合对照品的总离子流图

Fig. 1 TIC of Mxing Zhixiao Granules and mixed reference substance

物,其中 30 个化合物经对照品比对得到验证,见表 1。

### 3.2 药物活性成分及对应靶点筛选、哮喘疾病靶点预测

基于质谱分析结果,通过 TCMSP 筛选得到 24

个药物活性成分,具体信息见表 2,检索活性成分对应的作用靶点共 147 个。通过 DisGeNET 数据库和 Genecards 数据库,检索哮喘的作用靶点,分别以  $\text{Score} \geq 0.1$  及  $\text{Score} \geq 1$  为参数对作用靶点结果进

表 1 麻杏止咳颗粒中化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定

Table 1 Identification of chemical components in Maxing Zhixiao Granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS

| 峰号 | $t_R/\text{min}$ | 离子模式                    | 检测值<br>( $m/z$ ) | 理论值<br>( $m/z$ ) | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 分子式                                              | 化合物                                                                           | 离子碎片 ( $m/z$ )                          | 归属        |
|----|------------------|-------------------------|------------------|------------------|----------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------|
| 1  | 0.626            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 271.171 2        | 271.170 4        | 2.93                       | $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$           | 雌二醇 <sup>[3]</sup>                                                            | 119.975 0、183.921 5                     | B         |
| 2  | 1.663            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 175.118 3        | 175.119 0        | 3.76                       | $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$              | 精氨酸 <sup>[4]*</sup>                                                           | 112.086 7、158.090 8                     | B、E~G     |
| 3  | 1.750            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 133.096 9        | 133.097 2        | -2.25                      | $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$    | 鸟氨酸 <sup>[4]</sup>                                                            | 116.033 6                               | E         |
| 4  | 1.769            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 134.044 9        | 134.044 8        | 0.46                       | $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$                | 天冬氨酸 <sup>[4]*</sup>                                                          | 88.039 2、90.900 4、116.034 6             | B、E、G、K   |
| 5  | 1.968            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 181.071 7        | 181.071 8        | -0.38                      | $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$              | 甘露醇 <sup>[4]</sup>                                                            | 89.023 7、101.024 6、163.060 2            | F、H       |
| 6  | 2.233            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 116.070 3        | 116.070 6        | -2.28                      | $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$                | 脯氨酸 <sup>[4]</sup>                                                            | 70.065 1、72.936 2、98.057 6              | B、E、G、J   |
| 7  | 2.338            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 341.107 9        | 341.108 9        | -2.88                      | $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$        | 蔗糖 <sup>[4]*</sup>                                                            | 119.034 6                               | J         |
| 8  | 2.393            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 187.039 8        | 187.039 0        | 4.52                       | $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_3$              | 异补骨脂素 <sup>[5]</sup>                                                          | 103.056 7、131.087 0                     | H         |
| 9  | 2.635            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 359.149 0        | 359.150 0        | -2.67                      | $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$           | 异落叶松脂素 <sup>[6]</sup>                                                         | 313.119 7                               | F         |
| 10 | 2.651            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 118.086 7        | 118.086 3        | 3.09                       | $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$             | 缬氨酸 <sup>[4]*</sup>                                                           | 55.054 4、72.081 2                       | B、E、G、J、K |
| 11 | 2.931            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 133.014 3        | 133.013 4        | 0.47                       | $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$                 | 苹果酸 <sup>[7]</sup>                                                            | 71.014 6、115.003 3                      | J         |
| 12 | 4.004            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 136.062 2        | 136.061 8        | 3.00                       | $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5$                 | 腺嘌呤 <sup>[4]</sup>                                                            | 119.033 0、136.060 7                     | G         |
| 13 | 4.269            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 243.232 1        | 243.231 9        | 0.79                       | $\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}_2$           | 十五烷酸 <sup>[8]</sup>                                                           | 131.048 2                               | A、C、G、J、K |
| 14 | 4.288            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 124.039 5        | 124.039 3        | 1.49                       | $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$                | 烟酸 <sup>[8]</sup>                                                             | 78.034 1、80.049 1、106.028 5             | G         |
| 15 | 4.887            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 148.060 8        | 148.060 4        | 2.91                       | $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$                | 谷氨酸 <sup>[4]</sup>                                                            | 85.034 6、102.994 5、130.118 6            | B、E~G、K   |
| 16 | 5.553            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 117.019 2        | 117.019 3        | -1.18                      | $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$                 | 琥珀酸 <sup>[8]*</sup>                                                           | 73.030 7、99.025 7                       | C、G、J、K   |
| 17 | 5.843            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 180.066 2        | 180.066 1        | 0.78                       | $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$             | 酪氨酸 <sup>[4]*</sup>                                                           | 119.050 0、163.039 3                     | E~G、K     |
| 18 | 5.981            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 276.144 7        | 276.144 2        | 1.93                       | $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_6$          | glutaryl carnitine <sup>[8]</sup>                                             | 161.073 4、212.129 5、230.138 0、258.130 9 | G         |
| 19 | 6.624            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 137.046 2        | 137.045 8        | 2.75                       | $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$         | 次黄嘌呤 <sup>[8]</sup>                                                           | 110.030 7、119.033 9、120.970 0           | F、G、J、K   |
| 20 | 6.729            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 268.104 2        | 268.104 0        | 0.61                       | $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$ | 腺苷 <sup>[8]</sup>                                                             | 136.061 2、119.034 6                     | G、I、J     |
| 21 | 6.754            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 100.075 8        | 100.075 7        | 0.66                       | $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}$                  | 2-嘧啶酮 <sup>[8]</sup>                                                          | 55.934 5、58.029 2、59.450 2、72.937 7     | G         |
| 22 | 7.024            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 166.123 4        | 166.122 6        | 4.78                       | $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}$            | 麻黄碱 <sup>[9]</sup>                                                            | 117.026 5、133.082 6、148.114 3           | A、K       |
| 23 | 7.270            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 284.100 0        | 284.098 9        | 4.02                       | $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_5$ | 鸟苷 <sup>[8]</sup>                                                             | 152.056 6                               | E、G       |
| 24 | 7.307            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 269.089 0        | 269.088 0        | 3.58                       | $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_5$ | 肌苷 <sup>[8]</sup>                                                             | 137.045 8                               | E、G、K     |
| 25 | 7.932            | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 169.013 9        | 169.014 2        | -1.69                      | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$                 | 没食子酸 <sup>[10]*</sup>                                                         | 169.010 2、289.660 1                     | H~K       |
| 26 | 8.516            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 166.086 2        | 166.086 3        | -0.35                      | $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$             | 苯丙氨酸 <sup>[4]*</sup>                                                          | 103.054 1、120.080 3                     | E~G、J     |
| 27 | 9.112            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 310.129 1        | 310.128 5        | 2.06                       | $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_6$          | (S)-2-[(benzyloxy)carbonyl]amino)-5-ethoxy-5-oxopentanoic acid <sup>[8]</sup> | 120.081 2、178.085 8、264.118 7、292.126 4 | G         |
| 28 | 9.143            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 152.107 5        | 152.107 0        | 3.48                       | $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}$               | 去甲麻黄碱 <sup>[9]</sup>                                                          | 117.069 3、134.095 4                     | A         |
| 29 | 9.250            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 152.107 0        | 152.107 0        | 0.11                       | $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}$               | 去甲伪麻黄碱 <sup>[9]</sup>                                                         | 117.069 6、134.098 3                     | A         |
| 30 | 9.285            | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 328.139 7        | 328.139 1        | 1.70                       | $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_7$          | 果糖苯丙氨酸 <sup>[8]</sup>                                                         | 132.081 1、166.088 9、264.118 7、310.125 1 | G         |
| 31 | 10.761           | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 243.086 8        | 243.087 7        | -3.49                      | $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$ | 7,8-二甲基苯并蝶啶-2,4-二酮 <sup>[7]</sup>                                             | 157.007 0                               | G         |
| 32 | 11.440           | $[\text{M}+\text{H}]^+$ | 166.122 5        | 166.122 6        | -0.71                      | $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}$            | 伪麻黄碱 <sup>[9]*</sup>                                                          | 117.056 8、133.087 7、148.111 6           | A、K       |
| 33 | 11.829           | $[\text{M}-\text{H}]^-$ | 153.019 9        | 153.019 3        | 3.70                       | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$                 | 原儿茶酸 <sup>[11]*</sup>                                                         | 91.018 4、109.028 6                      | A、C、E、K、M |

续表 1

| 峰号 | tr/min | 离子模式               | 检测值<br>(m/z) | 理论值<br>(m/z) | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 分子式                                                           | 化合物                                                                      | 离子碎片 (m/z)                                                  | 归属          |
|----|--------|--------------------|--------------|--------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------|
| 34 | 12.947 | [M-H] <sup>-</sup> | 315.052 0    | 315.051 0    | 3.02                       | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>                | 异鼠李素 <sup>[12]</sup>                                                     | 107.385 3、300.012 2                                         | I、M         |
| 35 | 16.368 | [M+H] <sup>+</sup> | 181.050 1    | 181.049 5    | 3.19                       | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>                  | 咖啡酸 <sup>[11]</sup>                                                      | 117.030 6、145.027 8、163.038 1                               | J、K         |
| 36 | 16.522 | [M-H] <sup>-</sup> | 353.086 2    | 353.087 8    | -4.58                      | C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>                | 新绿原酸 <sup>[13]*</sup>                                                    | 135.044 2、179.074 7、191.056 9                               | C           |
| 37 | 16.535 | [M+H] <sup>+</sup> | 163.039 5    | 163.038 9    | 3.33                       | C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>                  | 7-羟基香豆素 <sup>[7]</sup>                                                   | 107.048 2、117.031 7、135.042 5、145.027 4                     | C、H、J       |
| 38 | 16.683 | [M-H] <sup>-</sup> | 353.086 2    | 353.087 8    | -4.58                      | C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>                | 绿原酸 <sup>[13]*</sup>                                                     | 191.057 9、179.046 7                                         | J           |
| 39 | 16.801 | [M+H] <sup>+</sup> | 458.166 3    | 458.165 7    | 1.32                       | C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>11</sub>              | 苦杏仁苷 <sup>[9]</sup>                                                      | 296.110 3                                                   | B           |
| 40 | 18.764 | [M+H] <sup>+</sup> | 295.128 5    | 295.128 8    | -1.10                      | C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | 谷氨酰苯丙氨酸 <sup>[8]</sup>                                                   | 103.053 8、120.079 9                                         | G           |
| 41 | 21.324 | [M-H] <sup>-</sup> | 303.050 1    | 303.051 0    | -3.12                      | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>                | 2,3-二氢槲皮素 <sup>[14]</sup>                                                | 125.025 2                                                   | C           |
| 42 | 21.373 | [M+H] <sup>+</sup> | 565.155 7    | 565.155 2    | 0.82                       | C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>               | 异夏佛塔苷 <sup>[15]</sup>                                                    | 481.108 0、511.118 2                                         | M           |
| 43 | 21.342 | [M+H] <sup>+</sup> | 325.144 6    | 325.143 4    | 3.84                       | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>                | 光甘草定 <sup>[16]</sup>                                                     | 189.017 2                                                   | B、M         |
| 44 | 21.694 | [M+H] <sup>+</sup> | 366.190 8    | 366.191 1    | -0.90                      | C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>6</sub>               | 氧化苦参碱 <sup>[7]</sup>                                                     | 150.091 5、168.101 5                                         | J           |
| 45 | 21.750 | [M+H] <sup>+</sup> | 366.190 8    | 366.191 1    | -0.90                      | C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>6</sub>               | 肾形千里光碱/新克式千里光宁碱及其他同分异构体 <sup>[13]</sup>                                  | 122.060 4、150.091 1、168.101 2                               | J           |
| 46 | 22.206 | [M+H] <sup>+</sup> | 579.171 2    | 579.170 8    | 0.63                       | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>               | 牡荆素-2-O-鼠李糖苷 <sup>[17]</sup>                                             | 284.839 0、433.118 1                                         | A           |
| 47 | 23.342 | [M+H] <sup>+</sup> | 549.160 7    | 549.160 8    | 0.68                       | C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>               | 白杨素-6-C-阿拉伯糖-8-C-葡萄糖苷 <sup>[18]</sup>                                    | 375.082 0、393.092 3、411.113 7、513.143 3                     | D           |
| 48 | 23.714 | [M-H] <sup>-</sup> | 547.143 9    | 547.145 7    | -3.28                      | C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>               | chrysin-6-C-β-L-arabinopyranosyl-8-C-β-D-glucopyranoside <sup>[19]</sup> | 427.100 7、457.111 2、487.119 9、547.146 2                     | D           |
| 49 | 23.967 | [M-H] <sup>-</sup> | 549.161 0    | 549.161 4    | -0.76                      | C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>               | 芹糖甘草苷 <sup>[20]*</sup>                                                   | 135.008 6、255.059 4、417.119 5                               | M           |
| 50 | 24.028 | [M-H] <sup>-</sup> | 417.119 3    | 417.119 1    | 0.56                       | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>                | 新甘草苷/异甘草苷/新异甘草苷 <sup>[9]</sup>                                           | 135.040 4、255.065 9                                         | M           |
| 51 | 24.084 | [M+H] <sup>+</sup> | 611.160 6    | 611.160 6    | -0.13                      | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>               | 芦丁 <sup>[7]*</sup>                                                       | 303.049 0、465.065 2                                         | C、J         |
| 52 | 24.319 | [M+H] <sup>+</sup> | 257.081 4    | 257.080 8    | 2.52                       | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>                | 甘草素/异甘草素 <sup>[9]</sup>                                                  | 119.083 5、137.005 6、147.045 7                               | B、M         |
| 53 | 24.473 | [M-H] <sup>-</sup> | 417.118 9    | 417.119 1    | -0.56                      | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>                | 甘草苷 <sup>[9]*</sup>                                                      | 135.093 0、255.062 4                                         | B、M         |
| 54 | 24.591 | [M+H] <sup>+</sup> | 419.133 9    | 419.133 7    | 0.56                       | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>                | 新异甘草苷 <sup>[20]</sup>                                                    | 255.062 4、419.209 0                                         | M           |
| 55 | 25.018 | [M-H] <sup>-</sup> | 301.034 8    | 301.035 4    | -2.15                      | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>                | 槲皮素 <sup>[12]</sup>                                                      | 107.014 6、121.027 1、151.004 3、179.096 4                     | A、C、F、H~J、M |
| 56 | 25.099 | [M-H] <sup>-</sup> | 301.034 8    | 301.035 4    | -2.15                      | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>                | 粘毛黄芩素 <sup>[10]</sup>                                                    | 283.023 5                                                   | D           |
| 57 | 25.641 | [M+H] <sup>+</sup> | 387.156 4    | 387.155 1    | 3.23                       | C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> | N-acetyldopamine dimer A <sup>[21]</sup>                                 | 150.056 3、192.062 8、269.078 5、328.116 2                     | E           |
| 58 | 27.188 | [M+H] <sup>+</sup> | 301.071 2    | 301.070 7    | 1.82                       | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                | 5,7,2'-三羟基-6-甲氧基黄酮 <sup>[18]</sup>                                       | 117.072 5、286.037 3                                         | D           |
| 59 | 27.425 | [M-H] <sup>-</sup> | 515.117 9    | 515.119 5    | -3.16                      | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>               | 异绿原酸 B <sup>[13]*</sup>                                                  | 135.041 5、179.032 4、191.061 2                               | J           |
| 60 | 29.166 | [M-H] <sup>-</sup> | 515.117 9    | 515.119 5    | -3.16                      | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>               | 异绿原酸 A <sup>[13]*</sup>                                                  | 135.041 4、173.042 6、179.032 8、353.083 2                     | J           |
| 61 | 31.146 | [M+H] <sup>+</sup> | 523.144 2    | 523.144 6    | -0.71                      | C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>               | 野鸢尾苷 <sup>[22]</sup>                                                     | 346.062 5、361.091 5                                         | I           |
| 62 | 31.546 | [M-H] <sup>-</sup> | 515.118 0    | 515.119 5    | -3.16                      | C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>               | 异绿原酸 C <sup>[13]*</sup>                                                  | 135.042 4、161.022 6、173.046 8、179.033 3、191.056 4、353.085 9 | J           |
| 63 | 32.244 | [M-H] <sup>-</sup> | 359.077 2    | 359.077 2    | -0.13                      | C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>                | 迷迭香酸 <sup>[11]*</sup>                                                    | 123.043 6、135.042 0、179.033 2、197.044 4                     | A、L         |
| 64 | 32.788 | [M+H] <sup>+</sup> | 477.103 4    | 477.103 3    | 1.36                       | C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>               | 5,7,2'-三羟基-6-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[18]</sup>                            | 301.068 6                                                   | D           |
| 65 | 33.437 | [M-H] <sup>-</sup> | 549.160 1    | 549.161 4    | -2.32                      | C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>               | 芹糖异甘草苷 <sup>[23]</sup>                                                   | 255.066 0                                                   | M           |
| 66 | 33.497 | [M-H] <sup>-</sup> | 415.101 6    | 415.103 5    | -4.52                      | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>                | 芹菜素-5-鼠李糖苷 <sup>[17]</sup>                                               | 285.653 4                                                   | A           |
| 67 | 33.775 | [M+H] <sup>+</sup> | 431.135 1    | 431.133 7    | 3.31                       | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>                | 芒柄花苷 <sup>[9]</sup>                                                      | 269.079 8                                                   | M           |

续表 1

| 峰号 | tr/min | 离子模式               | 检测值<br>(m/z) | 理论值<br>(m/z) | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 分子式                                             | 化合物                                                                               | 离子碎片 (m/z)                              | 归属              |
|----|--------|--------------------|--------------|--------------|----------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------|
| 68 | 34.449 | [M+H] <sup>+</sup> | 447.091 3    | 447.094 7    | -2.00                      | C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub> | 黄芩苷 <sup>[24]*</sup>                                                              | 271.059 3                               | D               |
| 69 | 34.498 | [M+H] <sup>+</sup> | 271.060 2    | 271.058 9    | 0.29                       | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>  | 芹菜素 <sup>[24]</sup>                                                               | 242.050 1、269.004 2                     | A、D、I、L、<br>M   |
| 70 | 35.034 | [M-H] <sup>-</sup> | 431.096 5    | 431.098 4    | -4.49                      | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub> | 芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖<br>苷 <sup>[25-26]</sup>                                           | 65.005 7、83.597 4、182.946 8、269.045 7   | D               |
| 71 | 35.514 | [M-H] <sup>-</sup> | 287.055 4    | 287.056 1    | -2.43                      | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>  | 二氢山柰酚 <sup>[25]</sup>                                                             | 125.023 8、201.055 2                     | I               |
| 72 | 35.938 | [M+H] <sup>+</sup> | 273.077 6    | 273.075 7    | 3.26                       | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>  | 柚皮素 <sup>[20]</sup>                                                               | 255.063 2                               | A、M             |
| 73 | 35.988 | [M+H] <sup>+</sup> | 291.087 1    | 291.086 3    | 2.83                       | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>  | 儿茶素 <sup>[26]</sup>                                                               | 206.959 6、273.068 9                     | A、B             |
| 74 | 36.189 | [M-H] <sup>-</sup> | 445.075 6    | 445.077 6    | -4.41                      | C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub> | 芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸<br>苷 <sup>[27]</sup>                                                | 269.045 1                               | D               |
| 75 | 36.613 | [M+H] <sup>+</sup> | 301.070 5    | 301.070 7    | -0.72                      | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>  | 芴黄芩素II <sup>[18]</sup>                                                            | 286.046 3                               | D               |
| 76 | 36.787 | [M+H] <sup>+</sup> | 477.102 7    | 477.103 3    | -0.27                      | C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> | 5,7,8-三羟基-6-甲氧基黄<br>酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[18]</sup>                                  | 301.068 6                               | D               |
| 77 | 37.131 | [M+H] <sup>+</sup> | 431.097 4    | 431.097 8    | 0.18                       | C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub> | 白杨素-7-O-葡萄糖醛酸<br>苷 <sup>[18]</sup>                                                | 255.059 9                               | D               |
| 78 | 37.212 | [M+H] <sup>+</sup> | 461.106 9    | 461.108 4    | -1.91                      | C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> | 千层纸素 A-7-O-β-D-葡<br>萄糖醛酸苷 <sup>[18]*</sup>                                        | 270.049 4、285.074 4                     | D               |
| 79 | 37.570 | [M+H] <sup>+</sup> | 477.102 8    | 477.103 3    | 0.01                       | C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> | 5,6,7-三羟基-8-甲氧基黄<br>酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 <sup>[18]</sup>                                  | 301.069 4                               | D               |
| 80 | 38.351 | [M-H] <sup>-</sup> | 283.060 2    | 283.061 2    | -3.63                      | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>  | 千层纸素 A <sup>[10]</sup>                                                            | 268.038 0                               | D               |
| 81 | 38.426 | [M-H] <sup>-</sup> | 283.060 3    | 283.061 2    | -3.63                      | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>  | 汉黄芩素 <sup>[10]*</sup>                                                             | 239.034 6、268.037 8                     | D               |
| 82 | 38.426 | [M-H] <sup>-</sup> | 283.060 2    | 283.061 2    | -3.63                      | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>  | 樱黄素 <sup>[12]</sup>                                                               | 167.995 2、257.315 1                     | I、M             |
| 83 | 38.545 | [M+H] <sup>+</sup> | 461.107 9    | 461.109 0    | 0.28                       | C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> | 汉黄芩苷 <sup>[24]*</sup>                                                             | 285.075 8                               | D               |
| 84 | 38.879 | [M+H] <sup>+</sup> | 491.119 7    | 491.119 0    | 2.67                       | C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub> | 5,7-二羟基-6,8-二甲氧<br>基黄酮-7-O-葡萄糖醛<br>酸苷 <sup>[18]</sup>                             | 300.063 4、315.087 3                     | D               |
| 85 | 39.177 | [M+H] <sup>+</sup> | 487.143 5    | 487.145 2    | -2.34                      | C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub> | 7-O-β-D-apiofuranosyl-<br>(1→6)-β-D-glucopyra-<br>nosyl-scopoletin <sup>[9]</sup> | 80.950 7、253.017 0、279.196 5            | H               |
| 86 | 41.621 | [M+H] <sup>+</sup> | 475.124 4    | 475.124 0    | 1.83                       | C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> | 黄芩素-7-O-葡萄糖醛酸<br>苷乙酯 <sup>[18]</sup>                                              | 271.056 5                               | D               |
| 87 | 41.774 | [M+H] <sup>+</sup> | 217.050 0    | 217.049 5    | 2.38                       | C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>   | 佛手苷内酯/花椒毒素 <sup>[9]</sup>                                                         | 161.118 2、174.031 9、202.023 7           | H               |
| 88 | 42.233 | [M-H] <sup>-</sup> | 299.055 6    | 299.056 1    | -1.52                      | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>  | 粗毛豚草素 <sup>[27]</sup>                                                             | 255.030 2、284.030 5                     | I               |
| 89 | 42.659 | [M+H] <sup>+</sup> | 301.071 4    | 301.070 7    | 2.37                       | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>  | 柯伊利素 <sup>[28]</sup>                                                              | 153.020 4                               | J               |
| 90 | 42.677 | [M+H] <sup>+</sup> | 331.081 9    | 331.081 2    | 2.06                       | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>  | 苜蓿素 <sup>[29]</sup>                                                               | 331.083 6                               | I               |
| 91 | 42.778 | [M-H] <sup>-</sup> | 329.066 8    | 329.066 7    | 0.04                       | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>  | 槲皮素-3,3'-二甲醚 <sup>[12]</sup>                                                      | 243.028 4、271.024 0、299.017 8、314.047 1 | M               |
| 92 | 43.023 | [M+H] <sup>+</sup> | 271.061 0    | 271.060 6    | 1.99                       | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>  | 去甲汉黄芩素 <sup>[18]</sup>                                                            | 241.047 2、253.038 6                     | D               |
| 93 | 43.097 | [M+H] <sup>+</sup> | 271.060 7    | 271.060 6    | 0.74                       | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>  | 黄芩素 <sup>[24]*</sup>                                                              | 242.053 7                               | D               |
| 94 | 44.598 | [M+H] <sup>+</sup> | 219.102 2    | 219.101 6    | 2.63                       | C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>  | 2,2-二甲基-6-乙酰基苯<br>骈二氢吡喃酮 <sup>[13]</sup>                                          | 77.034 0、107.049 5、121.027 0            | J               |
| 95 | 44.730 | [M-H] <sup>-</sup> | 837.390 8    | 837.391 4    | -0.77                      | C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub> | 甘草皂苷 G <sub>2</sub> <sup>[23]</sup>                                               | 193.034 1、351.055 7                     | M               |
| 96 | 45.110 | [M+H] <sup>+</sup> | 257.247 0    | 257.247 5    | -1.87                      | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>  | 棕榈酸 <sup>[8]</sup>                                                                | 199.066 4                               | A~D、G、<br>H、J~L |
| 97 | 46.753 | [M+H] <sup>+</sup> | 471.347 1    | 471.346 9    | 0.41                       | C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>  | 甘草次酸 <sup>[24]</sup>                                                              | 189.168 1、453.338 6                     | M               |
| 98 | 46.965 | [M-H] <sup>-</sup> | 821.395 9    | 821.396 5    | -0.77                      | C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub> | 甘草酸 <sup>[23]*</sup>                                                              | 193.032 8、351.053 9、645.337 8、803.368 8 | B、M             |

续表 1

| 峰号  | tr/min | 离子模式                | 检测值<br>(m/z) | 理论值<br>(m/z) | 误差<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 分子式                                            | 化合物                                                 | 离子碎片 (m/z)                              | 归属              |
|-----|--------|---------------------|--------------|--------------|----------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------|
| 99  | 47.798 | [M-H] <sup>-</sup>  | 225.184 9    | 225.186 0    | -4.99                      | C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub> | 9-十四碳烯酸 <sup>[8]</sup>                              | 139.000 7、165.052 3、167.040 3           | G               |
| 100 | 48.371 | [M+H] <sup>+</sup>  | 387.106 7    | 387.107 4    | -1.81                      | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub> | 次野鸢尾黄素 <sup>[30]*</sup>                             | 326.077 6、341.066 1、357.060 4、372.083 2 | I               |
| 101 | 48.828 | [M+H] <sup>+</sup>  | 285.076 6    | 285.075 7    | 3.13                       | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> | 毛蕊异黄酮 <sup>[12]*</sup>                              | 225.049 9、270.051 2                     | M               |
| 102 | 49.076 | [M+H] <sup>+</sup>  | 359.077 2    | 359.076 1    | 3.17                       | C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub> | 白射干素 <sup>[31]</sup>                                | 181.013 2                               | I               |
| 103 | 49.205 | [M+H] <sup>+</sup>  | 375.107 2    | 375.107 4    | -0.48                      | C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub> | 黄芩黄酮II <sup>[18]</sup>                              | 327.048 1、345.059 7、360.080 7           | D               |
| 104 | 49.423 | [M+H] <sup>+</sup>  | 375.107 2    | 375.108 0    | -0.48                      | C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub> | 5,6-二羟基-6,8,2',3'-四甲<br>氧基黄酮 <sup>[18]</sup>        | 345.056 9、360.083 7                     | D               |
| 105 | 49.446 | [M+H] <sup>+</sup>  | 347.221 8    | 347.112 5    | 0.91                       | C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub> | 3',4'-二乙酰氧基凯尔消<br>旋内酯 <sup>[9]</sup>                | 245.075 8                               | H               |
| 106 | 51.051 | [M+H] <sup>+</sup>  | 279.232 2    | 279.231 9    | 1.22                       | C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> | 亚麻酸 <sup>[8]</sup>                                  | 149.133 9                               | A、B、F、<br>G、K、L |
| 107 | 52.570 | [M+H] <sup>+</sup>  | 343.117 9    | 343.117 6    | 0.81                       | C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> | (+)-3'-当归酰氧基-4'-氧<br>代-3',4'-二氢叶黄素 <sup>[9]</sup>   | 227.026 0                               | H               |
| 108 | 52.583 | [M+H] <sup>+</sup>  | 343.117 9    | 343.117 6    | 0.81                       | C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub> | 前胡香豆素 E <sup>[9]</sup>                              | 261.563 1                               | H               |
| 109 | 52.912 | [M+H] <sup>+</sup>  | 345.133 7    | 345.133 3    | 1.20                       | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> | 3'-isovaleryl-4'-<br>ketokhellactone <sup>[9]</sup> | 243.064 3、261.074 9                     | H               |
| 110 | 53.543 | [M+H] <sup>+</sup>  | 329.138 8    | 329.138 4    | 1.27                       | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 丝立尼亭 <sup>[32]</sup>                                | 227.067 9、245.081 5                     | H               |
| 111 | 53.580 | [M+H] <sup>+</sup>  | 387.145 3    | 387.143 8    | 3.78                       | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub> | 北美芹素 <sup>[9]</sup>                                 | 287.551 4、227.067 8、245.075 4           | H               |
| 112 | 53.673 | [M+H] <sup>+</sup>  | 287.092 3    | 287.091 4    | 3.22                       | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub> | 甘草查耳酮 B <sup>[33]</sup>                             | 245.080 2                               | B、M             |
| 113 | 53.846 | [M+H] <sup>+</sup>  | 345.132 8    | 345.133 3    | -1.59                      | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub> | (+)-(3'S,4'R)-3'-当归酰凯<br>林内酯 <sup>[9]</sup>         | 227.067 4、327.199 4、245.080 1           | H               |
| 114 | 53.956 | [M+Na] <sup>+</sup> | 409.125 8    | 409.125 8    | -0.51                      | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub> | 白花前胡甲素 <sup>[9]*</sup>                              | 227.071 2、327.123 3                     | H               |
| 115 | 56.126 | [M+H] <sup>+</sup>  | 279.159 6    | 279.159 1    | 1.75                       | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> | 邻苯二甲酸二丁酯 <sup>[34]</sup>                            | 93.033 5、121.027 1、149.023 0            | A、B、L、M         |
| 116 | 56.150 | [M+H] <sup>+</sup>  | 427.175 0    | 427.175 1    | -0.03                      | C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub> | 白花前胡丁素 <sup>[9]</sup>                               | 227.068 7                               | H               |
| 117 | 56.441 | [M+H] <sup>+</sup>  | 391.248 9    | 391.247 9    | 2.56                       | C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> | 款冬酮 <sup>[13]</sup>                                 | 147.079 3、175.147 4                     | J               |
| 118 | 56.484 | [M+H] <sup>+</sup>  | 427.175 1    | 427.175 1    | -0.03                      | C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub> | 白花前胡乙素 <sup>[9]*</sup>                              | 227.066 5                               | H               |
| 119 | 56.997 | [M+H] <sup>+</sup>  | 429.191 0    | 429.190 8    | 0.55                       | C <sub>24</sub> H <sub>28</sub> O <sub>7</sub> | 白花前胡丙素 <sup>[9]*</sup>                              | 327.116 3                               | H               |
| 120 | 57.238 | [M+H] <sup>+</sup>  | 327.121 7    | 327.122 7    | -3.10                      | C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> | 桑辛素 O <sup>[35]</sup>                               | 133.080 0                               | C               |
| 121 | 57.893 | [M+H] <sup>+</sup>  | 329.138 4    | 329.138 4    | -0.06                      | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub> | 紫花前胡素 <sup>[36]</sup>                               | 229.084 1                               | H               |

\*与对照品比对确认的成分 A-蜜麻黄 B-苦杏仁 C-桑白皮 D-黄芩 E-蝉蜕 F-僵蚕 G-地龙 H-前胡 I-射干 J-款冬花 K-法半夏 L-紫苏子 M-甘草

\*Compared with the reference substance A-honey-processed *Ephedra Herba* B-*Amygdalus Communis* Vas C-*Mori Cortex* D-*Scutellariae Radix* E-*Cicadae Periostracum* F-*Bombyx Batryticatus* G-*Pheretima* H-*Peucedani Radix* I-*Belamcandae Rhizome* J-*Farfarae Flos* K-*Pinelliae Rhizoma Praeparatum* L-*Perillae Fructus* M-*licorice*

一步筛选, 获得哮喘疾病的作用靶点 1483 个。

### 3.3 药物关键活性成分-关键靶点的网络构建

利用在线韦恩图绘制平台对药物靶点和疾病靶点交集进行计算并绘制, 见图 2, 两者交集为关键靶点共 106 个, 将关键靶点与其对应的 23 个关键活性成分导入 Cytoscape3.9.1 软件构建麻杏止咳颗粒“关键活性成分-关键靶点”网络, 见图 3。

### 3.4 药物有效成分-核心靶点网络构建

将 106 个关键靶点基因上传至 STRING 平台, 构建关键靶点蛋白相互作用关系网络图, 该网络一

共含有靶蛋白节点 106 个, 靶点蛋白间的相互作用关系连线 698 条, 平均度值 13.2, 平均介数 0.504, 见图 4。利用 Cytoscape 3.9.1 软件对构建的蛋白间相互作用 (protein-protein interactions, PPI) 网络进行拓扑学分析, 首先以 degree 值中位数的 2 倍作为筛选条件, 然后同时选取 degree、betweenness、closeness 这 3 个参数的中位数作为筛选条件 (分别为 26、0.028 8、0.505 0), 筛选得到核心靶点 10 个, 包括肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL6)、细胞肿瘤抗原 p53 (cellular

表 2 麻杏止咳颗粒活性成分的基本信息

Table 2 Basic information on active ingredients of Mxing Zhixiao Granules

| 序号 | Mol ID    | 成分名称         | OB/%  | DL/% |
|----|-----------|--------------|-------|------|
| 1  | MOL000098 | 槲皮素          | 46.43 | 0.28 |
| 2  | MOL000417 | 毛蕊异黄酮        | 47.75 | 0.24 |
| 3  | MOL002927 | 黄芩黄酮II       | 69.51 | 0.44 |
| 4  | MOL013077 | 紫花前胡素        | 39.27 | 0.38 |
| 5  | MOL013078 | 白花前胡丙素       | 51.22 | 0.66 |
| 6  | MOL004908 | 光甘草定         | 53.25 | 0.47 |
| 7  | MOL004961 | 槲皮素-3,3'-二甲醚 | 46.45 | 0.33 |
| 8  | MOL004841 | 甘草查耳酮 B      | 76.76 | 0.19 |
| 9  | MOL000354 | 异鼠李素         | 49.60 | 0.31 |
| 10 | MOL004576 | 二氢槲皮素        | 57.84 | 0.27 |
| 11 | MOL001735 | 粗毛豚草素        | 30.97 | 0.27 |
| 12 | MOL012719 | 桑辛素 O        | 62.33 | 0.44 |
| 13 | MOL003044 | 柯伊利素         | 35.85 | 0.27 |
| 14 | MOL001792 | 甘草素          | 32.76 | 0.18 |
| 15 | MOL000525 | 5,7,8-三羟基黄酮  | 39.40 | 0.21 |
| 16 | MOL004903 | 甘草苷          | 65.69 | 0.74 |
| 17 | MOL013079 | 白花前胡甲素       | 46.46 | 0.53 |
| 18 | MOL000492 | 儿茶素          | 54.83 | 0.24 |
| 19 | MOL002714 | 黄芩素          | 33.52 | 0.21 |
| 20 | MOL010023 | 氧化苦参碱        | 56.16 | 0.41 |
| 21 | MOL002776 | 黄芩苷          | 40.12 | 0.75 |
| 22 | MOL004328 | 柚皮素          | 59.29 | 0.21 |
| 23 | MOL000173 | 汉黄芩素         | 30.68 | 0.23 |
| 24 | MOL002928 | 千层纸素 A       | 41.37 | 0.23 |

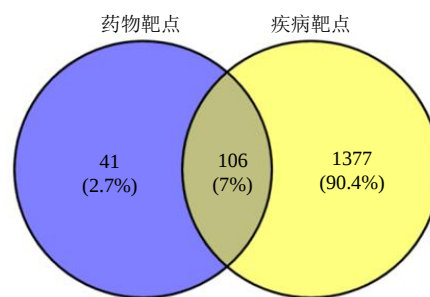


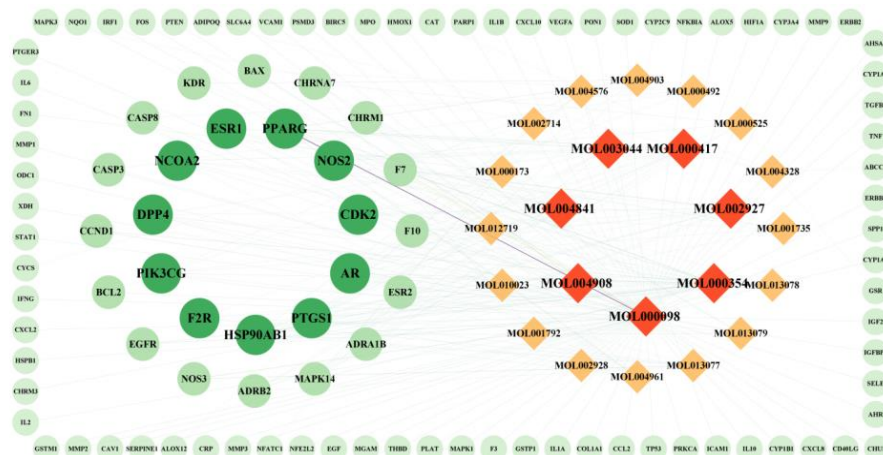
图 2 药物与哮喘交集靶点

Fig. 2 Drug-asthma intersection targets

tumor antigen p53, TP53)、白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 beta, IL-1 $\beta$ )、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、分裂原活化蛋白激酶 3 (mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)、半胱氨酸蛋白酶 3 (caspase-3, CASP3)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP9)、纤连蛋白 1 (fibronectin, FN1), 核心靶点筛选过程网络图见图 5, 核心靶点信息见表 3。核心靶点对应的有效成分有 5 个, 分别是槲皮素、异鼠李素、汉黄芩素、柚皮素、儿茶素。将核心靶点与其对应的有效成分进行可视化分析, 构建“麻杏止咳颗粒-有效成分-核心靶点”网络, 见图 6。

### 3.5 GO 功能分析及 KEGG 通路富集分析

对 10 个核心靶点基因进行 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析, 筛选出 69 条 GO 分析结果, 包括生物过程 (biological process, BP) 60 个, 细



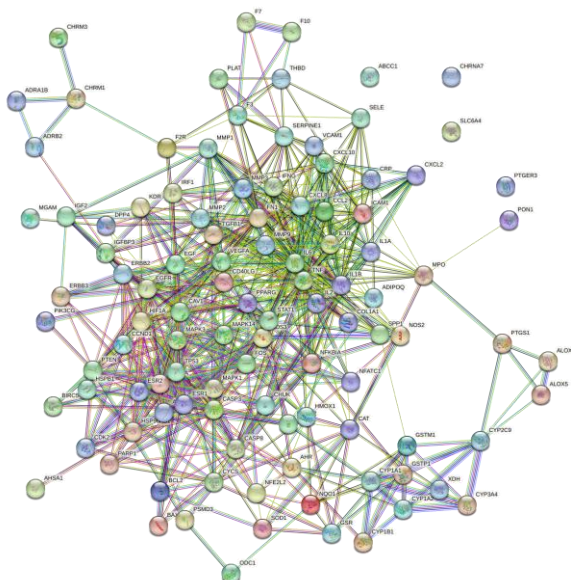
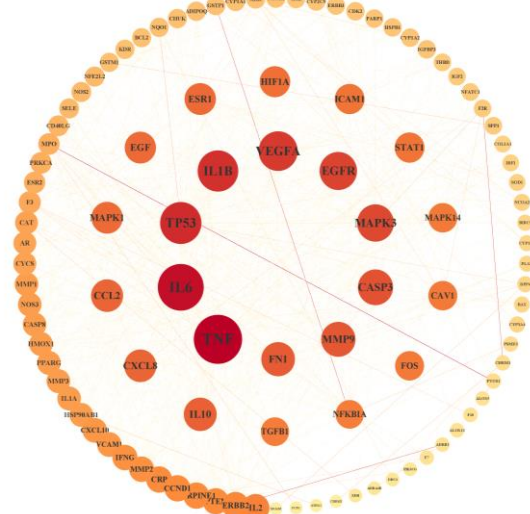


图 4 关键靶点蛋白相互作用关系网络

Fig. 4 Network of key target proteins interactions



中圈以内为首次筛选结果，内圈为二次筛选结果  
The first screening result is within the middle circle, the second screening result is within the inner circle

图 5 核心靶点筛选网络图

Fig. 5 Network of screening key core targets

表 3 10 个核心靶点信息

Table 3 10 core targets information

| 序号 | 靶点简称  | Uniprot ID | 中文名称        | 英文名称                                 |
|----|-------|------------|-------------|--------------------------------------|
| 1  | TNF   | P01375     | 肿瘤坏死因子      | tumor necrosis factor                |
| 2  | IL6   | P05231     | 白细胞介素-6     | interleukin-6                        |
| 3  | TP53  | P04637     | 细胞肿瘤抗原 p53  | cellular tumor antigen p53           |
| 4  | IL1B  | P01584     | 白细胞介素-1β    | interleukin-1 beta                   |
| 5  | VEGFA | P15692     | 血管内皮生长因子 A  | vascular endothelial growth factor A |
| 6  | EGFR  | P00533     | 表皮生长因子受体    | epidermal growth factor receptor     |
| 7  | MAPK3 | P27361     | 分裂原活化蛋白激酶 3 | mitogen-activated protein kinase 3   |
| 8  | CASP3 | P42574     | 半胱氨酸蛋白酶 3   | caspase-3                            |
| 9  | MMP9  | P14780     | 基质金属蛋白酶 9   | matrix metalloproteinase 9           |
| 10 | FN1   | P02751     | 纤连蛋白 1      | fibronectin                          |

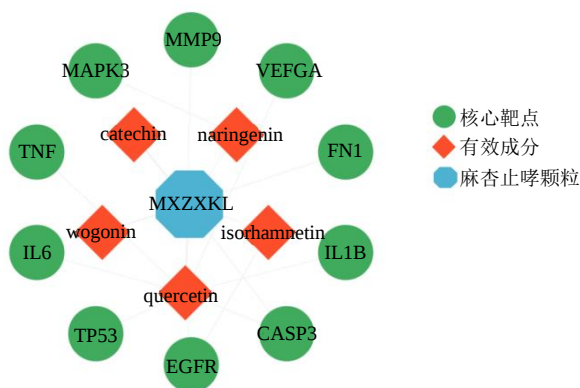


图 6 “麻杏止哮颗粒-有效成分-核心靶点”网络

Fig. 6 “Maxing Zhixiao Granules-active ingredients-core targets” network

胞组分 (cellular component, CC) 5 个, 分子功能 (molecular function, MF) 4 个, 分别根据靶点富集数目的多少进行排序, 将排名靠前的结果绘制柱状图 (图 7)。BP 分析所示, 麻杏止哮颗粒治疗哮喘的作用靶点主要涉及的生物过程有基因表达的正向调控、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、蛋白质磷酸化的正调节、凋亡过程的负调控等。如 CC 分析可以看出, 靶点主要涉及细胞外间隙、细胞外区、大分子复合物、膜筏、内质网腔。如 MF 分析所示, 靶点主要涉及的分子功能有相同的蛋白质结合、蛋白酶结合、细胞因子活性、整合素结合。

此外, 富集得到 70 条 KEGG 通路, 将靶点富集数目排名前 20 的结果绘制气泡图, 见图 8, 通路信息见表 4。分析结果表明, 麻杏止哮颗粒治疗哮

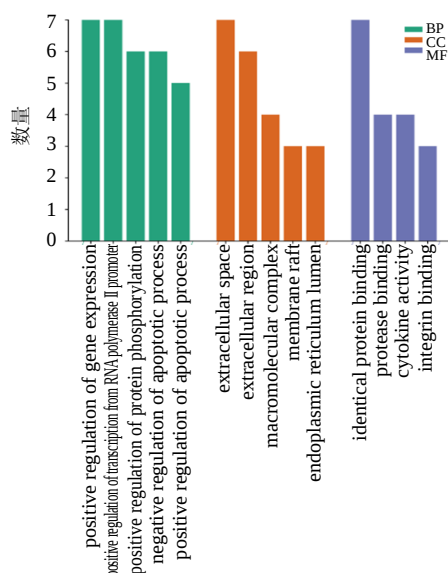


图 7 核心靶点的 GO 富集分析  
Fig. 7 GO enrichment analysis of core targets

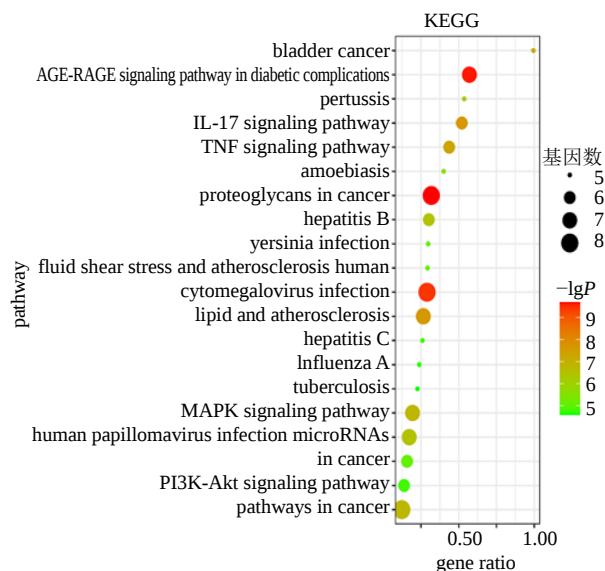


图 8 核心靶点的 KEGG 通路富集分析  
Fig. 8 KEGG pathway enrichment analysis of core targets

表 4 核心靶点 KEGG 通路富集分析部分信息

Table 4 Partial information of core targets KEGG pathway enrichment analysis

| 编号       | 信号通路                                                 | P 值                    | 基因数/个 |
|----------|------------------------------------------------------|------------------------|-------|
| hsa05205 | proteoglycans in cancer                              | $1.98 \times 10^{-10}$ | 8     |
| hsa05163 | human cytomegalovirus infection                      | $3.81 \times 10^{-10}$ | 8     |
| hsa05200 | pathways in cancer                                   | $1.53 \times 10^{-7}$  | 8     |
| hsa04933 | AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications | $2.38 \times 10^{-10}$ | 7     |
| hsa05417 | lipid and atherosclerosis                            | $2.46 \times 10^{-8}$  | 7     |
| hsa04010 | MAPK signaling pathway                               | $1.60 \times 10^{-7}$  | 7     |
| hsa05165 | human papillomavirus infection                       | $3.24 \times 10^{-7}$  | 7     |
| hsa04657 | IL-17 signaling pathway                              | $2.22 \times 10^{-8}$  | 6     |
| hsa04668 | TNF signaling pathway                                | $5.39 \times 10^{-8}$  | 6     |
| hsa05161 | hepatitis B                                          | $3.44 \times 10^{-7}$  | 6     |
| hsa05206 | microRNAs in cancer                                  | $8.54 \times 10^{-6}$  | 6     |
| hsa04151 | PI3K-Akt signaling pathway                           | $1.63 \times 10^{-5}$  | 6     |
| hsa05219 | bladder cancer                                       | $6.80 \times 10^{-8}$  | 5     |
| hsa05133 | pertussis                                            | $8.47 \times 10^{-7}$  | 5     |
| hsa05146 | amoebiasis                                           | $2.77 \times 10^{-6}$  | 5     |
| hsa05135 | yersinia infection                                   | $8.99 \times 10^{-6}$  | 5     |
| hsa05418 | fluid shear stress and atherosclerosis               | $9.53 \times 10^{-6}$  | 5     |
| hsa05160 | hepatitis C                                          | $1.54 \times 10^{-5}$  | 5     |
| hsa05164 | influenza A                                          | $2.17 \times 10^{-5}$  | 5     |
| hsa05152 | tuberculosis                                         | $2.65 \times 10^{-5}$  | 5     |

喘的靶点主要涉及的通路有癌症中的蛋白聚糖、人类巨细胞病毒感染、癌症通路、脂质和动脉粥样硬化、MAPK 信号通路、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、乙型肝炎等。

#### 4 讨论

本研究基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合多种网络药理学在线分析平台和数据库，从麻杏止咳颗粒中推测出 121 个化合物，进而筛选出治疗哮喘的 23 个关键活性成分和 106 个关键靶点，通过药物

关键活性成分-关键靶点网络的构建，分析得出麻杏止咳颗粒并非通过单一成分、单一靶点治疗哮喘，而是多成分、多靶点的作用方式。进一步分析筛选，搭建药物-有效成分-核心靶点网络，最终得到麻杏止咳颗粒治疗哮喘的 5 个有效成分和 10 个核心靶点。

研究证实，槲皮素能够明显抑制炎症细胞因子分泌 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-6 达到抗炎效果，还能够预防过敏原与血小板活化因子所诱导的支气管阻塞和支气管高反应<sup>[37]</sup>。异鼠李素通过显著降低哮喘小鼠

IL-4、IL-5、IL-13、半胱氨酰白三烯受体 1 (cysteinyl leukotriene receptor 1, Cys LTR1) 的表达, 有效抑制哮喘中辅助性 T 细胞 2 (T helper cell 2, Th2) 介导的免疫应答, 改变辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2 (Th1/Th2) 细胞平衡发挥抑制炎症反应的作用<sup>[38]</sup>。柚皮素具有良好的止咳化痰平喘作用, 能够显著抑制哮喘大鼠肺部和支气管的炎症反应, 在体内外模型实验中证实柚皮素发挥抗炎的潜在作用机制与抑制核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路有关<sup>[39]</sup>。汉黄芩素可通过多种机制改善气道炎症及肺功能, 拮抗哮喘发病相关的多种因素, 如诱导嗜酸性粒细胞凋亡和减弱 Th2 优势免疫介导过敏性气道炎症<sup>[40]</sup>。

研究发现, TNF 受体中最主要的为 TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  可以调控细胞因子、黏附分子和黏液素等的表达和释放, 如诱导产生炎症因子 IL-6 等。IL-6、TNF- $\alpha$  两者在气道炎症中发挥着重要作用, 参与调节免疫反应, 促进炎症细胞的合成、释放炎症介质, 都是支气管哮喘的主要炎症因子<sup>[41]</sup>。VEGFA 通过加快愈合低氧而产生的组织损伤, 从而参与哮喘气道的重塑环节<sup>[42]</sup>。Amishima 等<sup>[43]</sup>经研究发现哮喘患者气道的支气管上皮、腺体、平滑肌等均可明显观察到 EGF 及 EGFR 的免疫反应。CASP3 是细胞凋亡的关键一环, 可通过内质网通路发挥调控细胞凋亡的作用, 参与支气管哮喘气道重塑的过程<sup>[44]</sup>。

KEGG 通路富集分析结果表明, 麻杏止哮颗粒治疗哮喘的靶点主要涉及的通路有 PI3K-Akt 信号通路、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、MAPK 信号通路、人类巨细胞病毒感染等。其中, PI3K-Akt 信号通路与支气管哮喘气道重塑密切相关, 例如间充质干细胞可以作用于 PI3K-Akt 信号通路, 通过抑制大鼠哮喘模型的肺部炎症和气道重塑从而改善大鼠的哮喘症状<sup>[45]</sup>。MAPK 信号通路是介导细胞氧化应激、增殖与凋亡等生命活动的重要信号传导系统, 激活后能够促使炎性细胞因子生成, 对哮喘发病过程中气道炎症、气道重塑和气道高反应性均具有重要的调控作用<sup>[46]</sup>。AGE-RAGE 信号通路与炎症反应密切相关, 该通路可以激活 MAPK 及 NF- $\kappa$ B, 影响免疫及产生氧化应激反应<sup>[47]</sup>。人巨细胞病毒感染与支气管哮喘也有着密切联系, 它可以使婴儿细小支气管的黏膜壁出现充血及水肿, 使细支气管发生梗阻, 严重情况可导致患儿死亡<sup>[48]</sup>。总之, 通路富集分析结果提示了麻杏止哮颗

粒治疗哮喘的复杂作用机制。

综上所述, 本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合网络药理学方法, 对麻杏止哮颗粒治疗哮喘的有效成分和作用机制进行了初步预测, 为麻杏止哮颗粒药效物质基础研究提供理论依据。但是本文的结果是基于生物信息学分析, 仍属于理论水平的探讨, 麻杏止哮颗粒的组成药味比如蜜麻黄中有着发汗、平喘功效的生物碱类等成分尚需做进一步的动物实验、细胞实验以及临床研究, 对该方中的药效物质进行确认, 并建立高效的活性评价方法, 确定关键药效物质, 以期全面的阐述其治疗哮喘的作用机制, 为其质量标准研究提供更完善的参考依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 冯晓凯. 我国支气管哮喘患病情况及相关危险因素的流行病学调查 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2014.
- [2] 张恒, 许光兰. 中医药治疗支气管哮喘的研究概述 [J]. 大众科技, 2020, 22(2): 84-86.
- [3] Gandhi A, Matta M K, Stewart S, et al. Quantitative analysis of underivatized 17  $\beta$ -estradiol using a high-throughput LC-MS/MS assay - Application to support a pharmacokinetic study in ovariectomized Guinea pigs [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 178: 112897.
- [4] 张水寒, 蔡萍, 陈林, 等. 高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱分析雪峰虫草化学成分 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 817-821.
- [5] 杨悦, 刘颖, 刘晓谦, 等. 基于超高效液相色谱串联质谱技术的山楂核抗菌、抗氧化药效物质基础研究 [J]. 世界中医药, 2021, 16(17): 2527-2532.
- [6] 陈秋竹, 王钢力, 林瑞超. HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> 分析双黄连注射液 22 个化学成分 [J]. 药物分析杂志, 2020, 40(2): 321-328.
- [7] 李静, 李娟, 贾金萍, 等. 基于 UHPLC-Q Extractive 轨道阱高分辨质谱的款冬花、叶的化学比较 [J]. 药学报, 2018, 53(3): 444-452.
- [8] 张玉, 董文婷, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的广地龙化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 252-262.
- [9] 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.
- [10] 刘黎明, 戴玉豪, 杨维, 等. 基于超高效液相色谱法-串联质谱技术和网络药理学的复方感冒灵成分及作用机制验证 [J]. 世界中医药, 2022, 17(21): 2998-3005.
- [11] 郝艺铭, 霍金海, 王涛, 等. UPLC-Q-TOF/MS 技术分

- 析黄连中非生物碱类成分 [J]. 中药材, 2020, 43(2): 354-358.
- [12] 常冠华, 薄颖异, 崔洁, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 分析甘草地上部分主要化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(6): 1449-1459.
- [13] 程晓叶, 张霞, 廖曼, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析款冬花的化学成分 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2390-2400.
- [14] 公丕学, 刘桂亮, 廉贞霞, 等. SPE 净化-UPLC-MS/MS 法测定食品中二氢槲皮素 [J]. 食品工业, 2022, 43(2): 290-295.
- [15] 邱佳佳, 刘军民, 詹若挺, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 和 UPLC-DAD 的不同品种溪黄草主要化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(13): 3539-3547.
- [16] 张鹰, 熊鑫, 马浩然, 等. 甘草油的 HPLC-MS/MS 法分析及抑菌作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(4): 861-864.
- [17] 李晗芸, 苏丹, 邵爱贤, 等. UPLC-Q TOF MS<sup>E</sup> 与镜像对比分析四种麻黄炮制过程的成分变化 [J]. 质谱学报, 2017, 38(6): 630-639.
- [18] 刘大伟, 闫广利, 方圆, 等. UPLC-ESI-TOF/MS 应用于黄芩化学成分的快速分析 [J]. 中医药信息, 2012, 29(4): 20-24.
- [19] Ji S, Li R, Wang Q, *et al.* Anti-H1N1 virus, cytotoxic and Nrf2 activation activities of chemical constituents from *Scutellaria baicalensis* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 176: 475-484.
- [20] 闫伊萌, 岳可心, 刘玉生, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱联用技术的黄英咳嗽糖浆化学成分分析 [J]. 应用化学, 2021, 38(3): 276-288.
- [21] 曹馨慈. 蝉蜕商品调查与质量评价研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- [22] 冯超. 射干异黄酮类成分的质量控制方法研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [23] 杨彬, 王媛, 田梦, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 研究半夏中甘草化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3): 45-49.
- [24] 纪万里, 周泽华, 王婷婷, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 方法分析半夏泻心汤化学成分 [J]. 药物分析杂志, 2020, 40(10): 1736-1750.
- [25] Moqbel H, El Dine El Hawary S S, Sokkar N M, *et al.* HPLC-ESI-MS/MS characterization of phenolics in *prunus amygdalus*, cultivar "Umm alfahm" and its antioxidant and hepatoprotective activity [J]. *Food Measure*, 2018, 12(2): 808-819.
- [26] 缪芝硕, 钟益玲, 李海丽, 等. 栀子枝 7 种成分 LC-MS 分析及 HPLC-DAD 测定 [J]. 中成药, 2021, 43(01): 117-123.
- [27] 柴冲冲, 曹妍, 毛民, 等. 基于 HPLC 特征图谱、UPLC-Q-TOF/MS 定性及多成分定量的黄芩酒炙前后化学成分变化研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2436-2447.
- [28] 张昆, 陈耀祖. 广东干草化学成分的研究 [J]. 化学研究与应用, 1995, 7(3): 329-331.
- [29] 黄海英, 康俊丽, 余亚辉, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap MS 法分析补肺益肾方的化学成分 [J]. 分析测试学报, 2019, 38(1): 1-13.
- [30] 刘伟, 葛广波, 王永丽, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术研究清肺排毒汤化学成分及小鼠组织分布 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2035-2045.
- [31] 李应勤, 陆蕴茹, 魏璐雪. 白射干黄酮类成分的研究 [J]. 药学学报, 1986, 21(11): 836-841.
- [32] Lee J H, Mei H C, Kuo I C, *et al.* Characterizing tyrosinase modulators from the roots of *Angelica keiskei* using tyrosinase inhibition assay and UPLC-MS/MS as the combinatorial novel approach [J]. *Molecules*, 2019, 24(18): 3297.
- [33] 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.
- [34] 周洁, 汤维维, 陈君. 基于 UPLC-QTOF-MS/MS 法的茅苍术与北苍术化学成分分析 [J]. 药学与临床研究, 2020, 28(5): 321-328.
- [35] 郑甜碧, 万晶琼, 杨翠云, 等. 基于 HPLC-ESI-MS 技术的桑白皮、桑根皮及外粗皮主要成分定性定量研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(9): 2237-2244.
- [36] 王颖莹, 江夏娟, 鲍曦, 等. UPLC-MS/MS 测定大鼠血浆中紫花前胡素的血药浓度及其药动学研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(1): 71-74.
- [37] 周霄楠, 韩超, 宋鹏琰, 等. 木犀草素和槲皮素体外抗炎作用研究 [J]. 动物医学进展, 2017, 38(10): 56-61.
- [38] 朱敏, 赵丽敏, 王培, 等. 异鼠李素抑制卵清蛋白诱导的哮喘小鼠肺部炎症 [J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(1): 106-111.
- [39] 周旋, 谭志团, 任翼, 等. 柚皮素通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路减轻哮喘大鼠气道炎症反应 [J]. 天津医药, 2021, 49(5): 483-489.
- [40] Mihalache C C, Yousefi S, Conus S, *et al.* Inflammation-associated autophagy-related programmed necrotic death of human neutrophils characterized by organelle fusion events [J]. *J Immunol*, 2011, 186(11): 6532-6542.
- [41] Svenningsen S, Nair P. Asthma endotypes and an overview of targeted therapy for asthma [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2017, 4: 158.
- [42] Sun Y, Xiong X, Wang X C. The miR-590-3p/VEGFA axis modulates secretion of VEGFA from adipose-derived

- stem cells, which acts as a paracrine regulator of human dermal microvascular endothelial cell angiogenesis [J]. *Hum Cell*, 2020, 33(3): 479-489.
- [43] Amishima M, Munakata M, Nasuhara Y, *et al.* Expression of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor immunoreactivity in the asthmatic human airway [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157(6 Pt 1): 1907-1912.
- [44] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制 [J]. 国际妇产科学杂志, 2014, 41(2): 103-107.
- [45] Lv W W, Zheng R, Tan M Q. Research progress of PI3K/Akt signaling pathway in the reconstruction of asthma airway [J]. *Med Recapitul*, 2018, 24(15): 2961-2965.
- [46] 臧明月, 韩玉生, 李东东, 等. 麦门冬汤对哮喘模型大鼠 ERK1/2、JNK 和 p38 MAPK 蛋白表达的影响 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2017, 38(23): 2746-2747.
- [47] 张泽鑫, 吴汶丰, 谢丹, 等. 基于网络药理学和分子对接分析达原饮治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的分子靶点和机制 [J]. 中药材, 2020, 43(8): 2062-2069.
- [48] 赵爱玲, 王雪琴, 王江涛. 人巨细胞病毒感染与小婴儿肺炎的临床分析 [J]. 医药论坛杂志, 2019, 40(5): 37-38.

[责任编辑 王文倩]