

基于多维度质量表征技术的牡荆叶标准汤剂质量评价

刘喜婵¹, 黄博^{1#}, 吴冰燕², 蔡静², 黄清泉¹, 吴玉强^{3*}, 罗轶^{1*}

1. 广西壮族自治区药品检验研究院, 广西 南宁 530021

2. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200

3. 广西中医药大学百年乐制药有限公司, 广西 南宁 530023

摘要: 目的 基于特征图谱、网络药理学及定量分析方法, 分析预测牡荆叶 *Vitidis Negundo Folium* 标准汤剂的潜在质量标志物 (quality markers, Q-Marker), 构建牡荆叶标准汤剂的多维度质量评价体系。方法 采用 UPLC 建立牡荆叶标准汤剂的特征图谱, 色谱条件: 色谱柱为 Cortecs C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~9 min, 3%~16%乙腈; 9~21 min, 16%~20%乙腈; 21~22 min, 20%~65%乙腈; 22~23 min, 65%乙腈; 23~29 min, 65%~95%乙腈; 检测波长 270 nm, 柱温 35 ℃, 体积流量 0.3 mL/min, 进样体积 2 μL。通过网络药理学预测候选 Q-Marker 的关键靶点和关键通路, 构建“候选 Q-Marker-关键靶点-关键通路”网络。对牡荆叶候选 Q-Marker 进行定量分析, 明确牡荆叶候选 Q-Marker 在饮片-标准汤剂的量值传递规律。结果 建立了牡荆叶标准汤剂的特征图谱, 共标定出 9 个特征峰, 通过对照品确认其中 4 个色谱峰 (峰 1、3、5、8), 分别为对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷 (apigenin-7-*O*-β-*D*-glucuronide, AG)。经网络药理学分析, 牡荆叶标准汤剂中对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG, 可能作用于基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2)、v-Rel 禽网状内皮组织增殖病毒癌基因同源物 A (v-Rel avian reticuloendotheliosis virus oncogene homolog A, RELA)、组蛋白去乙酰化酶 1 (histone deacetylase 1, HDAC1) 等关键靶点, 调控细胞衰老、晚期糖基化终末产物-受体 (advanced glycation end products-receptor for advanced glycation end products signaling pathway, AGE-RAGE)、磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B, PI3K-Akt) 等关键通路发挥治疗支气管炎的作用。对这 4 个成分进行定量分析, 15 批牡荆叶标准汤剂中的平均质量分数分别为 18.98、9.13、4.72、1.64 mg/g, 饮片中的平均质量分数分别为 4.98、11.44、2.38、2.60 mg/g, 从饮片到标准汤剂的平均转移率分别为 118.83%、24.61%、54.75%、19.81%。初步确定对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 为牡荆叶治疗支气管炎的 Q-Marker。结论 建立的质量评价方法准确可靠, 量值传递均一稳定, 结合网络药理学筛选的潜在 Q-Marker 可为牡荆叶标准汤剂的质量控制提供依据, 为后续阐明其药效物质基础的作用机制提供支撑。

关键词: 牡荆叶; 标准汤剂; 特征图谱; 网络药理学; 多维度质量表征技术; 量值传递; 对羟基苯甲酸; 异荭草苷; 异牡荆苷; 芹菜素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷; 质量标志物

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)16-6343-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.011

Quality evaluation of standard decoction of *Vitidis Negundo Folium* based on multi-dimensional quality characterization technology

LIU Xichan¹, HUANG Bo¹, WU Bingyan², CAI Jing², HUANG Qingquan¹, WU Yuqiang³, LUO Yi¹

1. Guangxi Institute for Drug Control, Nanning 530021, China

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

3. Guangxi University of Chinese Medicine Bainianle Pharmaceutical Co., Ltd., Nanning 530023, China

Abstract: Objective To analyze and predict the quality markers (Q-Markers) of Mujingye (*Vitidis Negundo Folium*, VNF) standard

收稿日期: 2026-01-21

基金项目: 广西科技重大专项 (桂科 AA22096019); 河池市中央引导地方科技发展专项 (河科 ZY230303)

作者简介: 刘喜婵 (2000—), 硕士研究生, 主要从事中药制剂研究与开发研究。E-mail: liuxichan2023@stu.gxtcmu.edu.cn

#共同第一作者: 黄博 (1981—), 副主任药师, 主要从事中药质量控制及安全研究。E-mail: 137968757@qq.com

*通信作者: 吴玉强 (1970—), 教授级高级工程师, 硕士生导师, 主要从事中药成分分析与质量控制研究。E-mail: 409444015@qq.com

罗轶 (1972—), 主任药师, 硕士生导师, 主要从事中药质量控制及安全研究。E-mail: luoyi20010211@163.com

decoction based on characteristic chromatogram, network pharmacology, and quantitative analysis, and to construct a multi-dimensional quality evaluation system for VNF standard decoction. **Methods** UPLC was used to establish the characteristic chromatogram of VNF standard decoction. The chromatographic conditions were as follows: Cortecs C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm); the mobile phase consisted of acetonitrile (A) and 0.1% phosphoric acid (B), using gradient elution (0—9 min, 3%—16% A; 9—21 min, 16%—20% A; 21—22 min, 20%—65% A; 22—23 min, 65% A; 23—29 min, 65%—95% A); the detection wavelength was 270 nm; the column temperature was 35 °C; the flow rate was 0.3 mL/min; and the injection volume was 2 μL. Network pharmacology was employed to obtain the key targets and key pathways of candidate Q-Markers, and the “candidate Q-Marker-key target-key pathway” network was constructed. Quantitative analysis was performed on the candidate Q-Markers of VNF to clarify the rules of quantity transfer of candidate Q-Markers from decoction pieces to standard decoction. **Results** The characteristic chromatogram of VNF standard decoction was established, and nine characteristic peaks were marked. Among them, four chromatographic peaks (peaks 1, 3, 5, and 8) were identified by reference substances as *p*-hydroxybenzoic acid, isoorientin, isovitexin, and apigenin-7-*O*-β-*D*-glucuronide (AG). Network pharmacology analysis revealed that *p*-hydroxybenzoic acid, isoorientin, isovitexin, and AG in VNF standard decoction could act on key targets such as matrix metalloproteinase 2 (MMP2), v-Rel avian reticuloendotheliosis virus oncogene homolog A(RELA), and histone deacetylase 1 (HDAC1), and regulate key pathways including cellular senescence, advanced glycation end products-receptor for advanced glycation end products (AGE-RAGE) signaling pathway, and phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B (PI3K-Akt) signaling pathway to exert therapeutic effects against bronchitis. Quantitative analysis of these four components showed that their average contents in 15 batches of VNF standard decoction were 18.98, 9.13, 4.72, 1.64 mg/g, respectively, while their average contents in the decoction pieces were 4.98, 11.44, 2.38, 2.60 mg/g, respectively. The average transfer rates from decoction pieces to standard decoction were 118.83%, 24.61%, 54.75%, 19.81%, respectively. *p*-Hydroxybenzoic acid, isoorientin, isovitexin, and AG were preliminarily identified as the Q-Markers of VNF for treating bronchitis. **Conclusion** The established quality evaluation method is accurate and reliable, with uniform and stable quantity transfer. Combined with the Q-Markers screened by network pharmacology, it can provide a basis for the quality control of VNF standard decoction and support for the subsequent elucidation of the mechanism of action of its pharmacodynamic material basis.

Key words: *Vitidis Negundo Folium*; standard decoction; characteristic chromatogram; network pharmacology; multi-dimensional quality characterization technology; quantity transfer; *p*-hydroxybenzoic acid; isoorientin; isovitexin; apigenin-7-*O*-β-*D*-glucuronide; Q-Marker

牡荆叶来源于马鞭草科牡荆属植物牡荆 *Vitex negundo* L. var. *cannabifolia* (Sieb. et Zucc.) Hand. -Mazz. 的叶, 具有祛痰、止咳、平喘的功效^[1], 具有丰富的药用价值, 主要分布于华东及河北、湖南、湖北、广东、广西、四川、贵州等地。《中国药典》2025 年版对于牡荆叶的质量标准规定较为简单, 仅凭现有性状、鉴别项目难以全面反映牡荆叶内在化学成分的均一性与稳定性, 无法为药材的质量评价与临床用药的一致性提供全面支撑。因此, 完善牡荆叶质量评价体系已成为亟待解决的关键问题。

在中医药现代化进程中, 中药饮片标准汤剂已逐步成为把控中药整体质量的有效模式。建立其质量控制体系, 可以使中药饮片、配方颗粒、依据经典名方制成的制剂获得稳定且有效的治疗效果, 促进中药产业健康发展^[2]。支气管炎是全球高发的呼吸系统疾病, 受人口老龄化、空气污染及吸烟等因素影响, 疾病绝对负担持续加重, 已成为威胁公共健康的重要慢性疾病之一^[3-4]。从临床治疗现状来看, 当前支气管炎的治疗仍以抗生素、支气管扩张

剂及糖皮质激素为主, 但长期使用存在耐药性增加、免疫抑制、胃肠道不良反应等问题^[5-6]。中医药在呼吸系统疾病治疗中展现出“整体调节、多靶点干预”的独特优势, 而牡荆叶在传统临床应用中已明确具备祛痰、止咳、平喘功效, 其黄酮类、三萜类等^[7-8]活性成分的抗炎^[9]、抗氧化^[10]药理作用, 具备开发为安全有效抗支气管炎药物的潜力。

刘昌孝院士^[11]2016 年提出中药质量标志物 (quality markers, Q-Marker) 概念, 以“五原则”为核心, 即特有性、有效性、可测性、传递与溯源性、配伍环境相关性, 将药效与质量控制相结合, 为中药质量评价提供科学依据。特征图谱通过捕捉复杂体系的整体化学轮廓, 可实现中药化学成分的系统性表征, 并且能够体现中药多成分协同作用的整体药效特点; 网络药理学可从“药物-疾病-靶点-通路”预测并解析药物与机体的相互作用; 定量分析则可明确指标成分从饮片到标准汤剂制备过程中的量值传递规律与转移稳定性。基于此, 本研究以 Q-Marker 理论为指导, 以牡荆叶标准汤剂为对象, 整

合特征图谱、网络药理学及定量分析方法,深入探究牡荆叶标准汤剂的潜在 Q-Marker,构建牡荆叶标准汤剂的多维度质量评价体系。旨在推动建立全面、科学的牡荆叶质量控制标准,为后续相关制剂的开发与研究提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司;XS205DU 型百万分之一电子天平、ML204 型十万分之一电子天平,瑞士梅特勒-托利多集团;KQ2200DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司、Milli-Q 型纯水处理器,默克密理博公司。

1.2 材料

对照品对羟基苯甲酸(批号 99-96-7)、芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(apigenin-7-O- β -D-glucuronide, AG, 批号 29741-09-1),质量分数均 $\geq$ 98.0%,上海诗丹德标准技术服务有限公司;对照品异牡荆苷(批号 112098-202401,质量分数 94.6%)、异荭草苷(批号 111974-201401,质量分数 94.0%),中国食品药品检验研究院;磷酸、乙腈,色谱纯,美国 MERCK 公司;水为超纯水;其他试剂均为分析纯。15 批牡荆叶样品(编号 V1~V15,样品信息见表 1),经广西壮族自治区药品检验研究院黄清泉主管药师鉴定,均为马鞭草科牡荆属植物牡荆 *V. negundo* L. var. *cannabifolia* (Sieb. et Zucc.) Hand.

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

编号	产地	采集时间
V1	广东省梅州市梅江区	2023-04-11
V2	广东省梅州市梅江区	2023-04-11
V3	广东省梅州市丰顺县	2023-04-11
V4	广东省梅州市丰顺县	2023-04-11
V5	广东省梅州市梅江区	2023-04-11
V6	江西省瑞金市	2023-04-15
V7	江西省瑞金市	2023-04-15
V8	广东省潮州市饶平县	2023-04-12
V9	江西省赣州市赣县区	2023-04-16
V10	湖南省永州市道县	2023-04-20
V11	湖南省永州市道县	2023-04-20
V12	湖南省永州市道县	2023-04-20
V13	湖南省永州市江永县	2023-04-20
V14	广西桂林市龙胜县	2023-05-30
V15	广西柳州市融安县	2023-05-29

-Mazz.的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 标准汤剂冻干粉的制备

称取牡荆叶饮片适量,取约 200 g,置于煎煮锅内,第 1 次加水 12 倍量,浸泡 30 min,武火煮沸后改文火煎煮 30 min;第 2 次加水 10 倍量,武火煮沸后改用文火煎煮 20 min,药液 300 目滤袋滤过,合并 2 次滤液,滤液冷却至室温,真空浓缩,使药材与所得流浸膏的质量比为 1:1,收取浓缩液,冷冻干燥即得样品。

2.2 标准汤剂供试品溶液的制备

取牡荆叶冻干粉适量,研细,取约 0.2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 70%乙醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 min,放冷,用 70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,过 0.22 μ m 微孔滤膜即得,作为牡荆叶标准汤剂供试品溶液。

2.3 饮片供试品溶液的制备

取牡荆叶饮片适量,粉碎,过三号筛,取约 1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 70%乙醇溶液 25 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 min,放冷,用 70%乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,过 0.22 μ m 微孔滤膜即得,作为饮片供试品溶液。

2.4 对照品溶液的制备

取对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 对照品适量,加入 70%乙醇使其溶解,分别制成含对羟基苯甲酸 0.10 mg/mL、异荭草苷 0.03 mg/mL、异牡荆苷 0.10 mg/mL、AG 0.10 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.5 数据库与软件

PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)、GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)、TTD 数据库(<https://ttd.idrblab.cn/>)、微生信平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)、STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)、Targetnet 数据库(<http://targetnet.scbdd.com/>)、Metascape 在线平台(<https://metascape.org/>)、Cytoscape 3.10.0 软件、Swiss Target Prediction 数据库(<https://swisstargetprediction.ch/>)、Autodock 1.5.7 软件、PyMOL 3.0.3 软件。

2.6 特征图谱研究

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 Cortecs C₁₈ (100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.7 μ m) 柱;流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶

液,梯度洗脱:0~9 min, 3%~16%乙腈; 9~21 min, 16%~20%乙腈; 21~22 min, 20%~65%乙腈; 22~23 min, 65%乙腈; 23~29 min, 65%~95%乙腈; 检测波长 270 nm, 柱温 35 ℃; 体积流量 0.3 mL/min; 进样体积 2 μ L。

2.6.2 参照峰的选择 按照“2.2”和“2.4”项下方法,分别制备牡荆叶标准汤剂供试品溶液和对照品溶液,色谱图见图 1,通过对照品比对,确认了其中 4 个色谱峰,峰 5 (异牡荆苷) 分离度较好,是牡荆叶中的重要活性成分^[8],因此,选择峰 5 作为参照峰 (S)。

2.6.3 精密度考察 取牡荆叶标准汤剂供试品溶液 (V4),按照“2.6.1”项下色谱条件连续进样 6 次,

以异牡荆苷参照峰相对应的色谱峰为 S 峰,计算峰 1~4、6~9 与峰 5 (S) 的相对保留时间。结果显示,各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 3.0%; 相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%,结果表明该仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性考察 取牡荆叶标准汤剂供试品溶液 (V4),按照“2.6.1”项下色谱条件分别在制备后 0、2、4、8、16、24 h 进样测定,以异牡荆苷参照峰相对应的峰为 S 峰,计算峰 1~4、6~9 与峰 5 (S) 的相对保留时间。结果显示,各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 3.0%; 相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.5 重复性考察 按照“2.2”项下的方法制备牡荆叶标准汤剂供试品溶液 (V4) 6 份,按照“2.6.1”项下色谱条件进样,以异牡荆苷参照峰相对应的峰为 S 峰,计算峰 1~4、6~9 与峰 5 (S) 的相对保留时间。结果显示,各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 3.0%; 相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%,结果表明该方法重复性较好。

2.6.6 特征图谱的建立 将各牡荆叶标准汤剂供试品溶液按照“2.6.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图 (图 2)。牡荆叶标准汤剂共标记出 9 个特征峰,经过与对照品 (图 1) 比对,共确认 4 个成分,分别为峰 1 (对羟基苯甲酸)、3 (异荭草苷)、5 (异牡荆苷)、8 (AG)。分别将 15 批牡荆叶标准汤剂液相色谱文件导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”软件中,以生成的对照特征图谱作

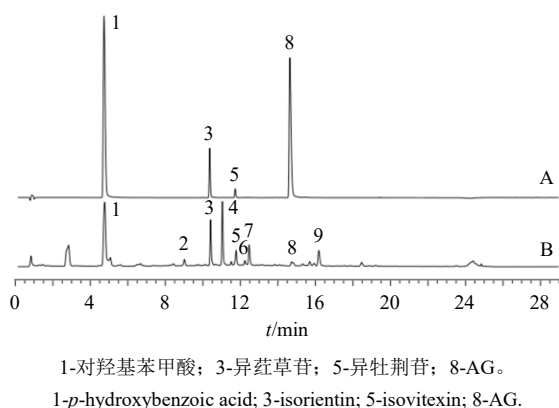


图 1 混合对照品溶液 (A) 及牡荆叶标准汤剂供试品溶液 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substance solution (A) and standard decoction of *Viticis Negundo Folium* (VNF) (B)

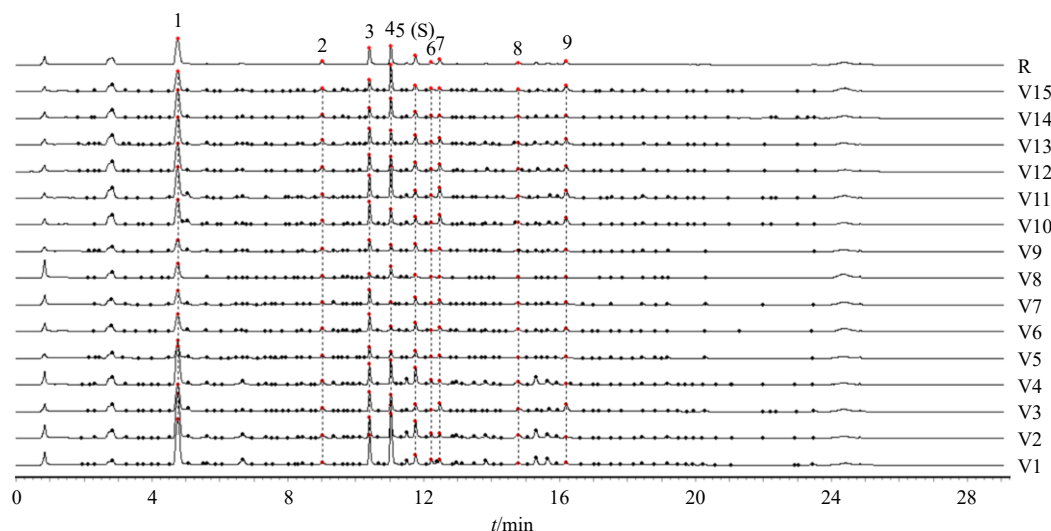


图 2 牡荆叶标准汤剂叠加色谱图

Fig. 2 Overlaid chromatograms of standard decoction of VNF

为参照图谱 (R), 对 15 批牡荆叶标准汤剂样品 (V1~V15) 进行相似度评价, 结果相似度依次为 0.967、0.991、0.993、0.990、0.977、0.970、0.954、0.981、0.984、0.982、0.990、0.995、0.993、0.990、0.972, 结果表明 15 批牡荆叶标准汤剂样品间的特征图谱共有峰的差异较小。

2.7 基于网络药理学对牡荆叶候选 Q-Marker 预测分析

2.7.1 牡荆叶治疗“支气管炎”潜在靶点筛选 基于 Q-Marker “五原则”中的可测性和特有性, 本研究选取特征图谱中确认的 4 个成分开展网络药理学分析。将 4 个特征成分的 SMILES 号 (PubChem 数据库) 输入 Swiss Target Prediction、Targetnet 数据库进行靶点预测 (possibility>0.1), 通过 UniProt 数据库进行归一化处理, 将 2 个数据库中的靶点合并, 去重, 得到成分靶点 235 个。以 “bronchitis” 为关键词在 OMIM、TTD、GeneCards 数据库中进行检索, 获得支气管炎相关靶点, 将 3 个数据库中的靶点合并, 去重, 得到疾病靶点 3 225 个。利用微信信平台制作 Venn 图, 将成分靶点与支气管炎疾病靶点取交集, 得到 94 个交集靶点 (图 3)。

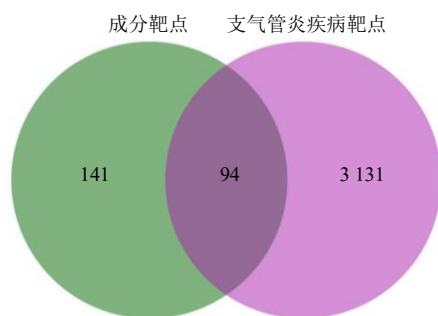


图 3 牡荆叶候选 Q-Marker 与支气管炎交集靶点韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of intersection targets between candidate Q-markers from VNF and bronchitis

2.7.2 蛋白间互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析 将交集靶点导入 STRING 数据库进行 PPI 网络分析, 选择物种为 “homo sapiens”, 设置中等置信度 ≥ 0.4 , 获得 PPI 网络图 (图 4), 将其导入 Cytoscape 3.10.0 软件进行拓扑参数筛选, 以中位数为临界值, 以同时满足中介中心性 $> 0.002 7$ 、节点紧密度 $> 0.485 3$ 、连接度 > 13 、连通度 $> 26.829 3$ 的 19 个靶点作为关键候选靶点, 分别为鼠双微体 2 (murine double minute 2, MDM2)、基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2)、聚 (ADP-核糖) 聚合酶 1 [poly (ADP-ribose) polymerase 1, PARP1]、

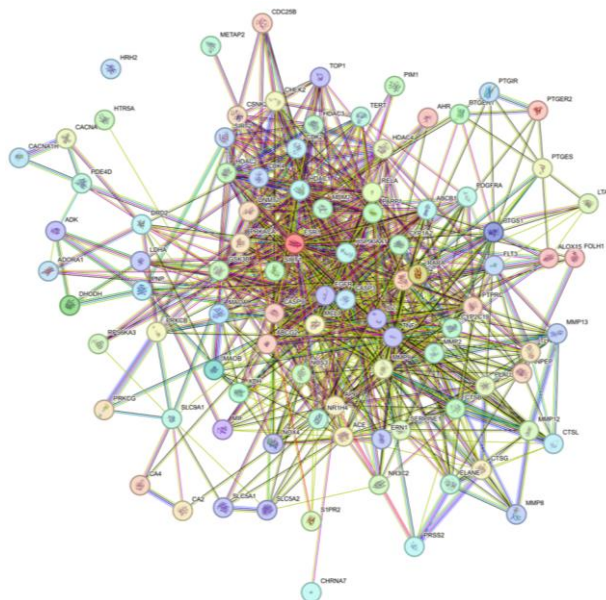


图 4 PPI 网络图

Fig. 4 PPI network diagram

v-Rel 禽网状内皮组织增殖病毒癌基因同源物 A (v-Rel avian reticuloendotheliosis virus oncogene homolog A, RELA)、组蛋白去乙酰化酶 1 (histone deacetylase 1, HDAC1)、细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase 2, CDK2)、髓系细胞白血病 1 蛋白 (myeloid cell leukemia 1, MCL1)、白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2)、胱天蛋白酶 9 (caspase 9, CASP9)、淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP)、细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、丝氨酸蛋白酶抑制剂家族 E 成员 1 (serpin family E member 1, SERPINE1)、DNA 甲基转移酶 1 (deoxyribonucleic acid methyltransferase 1, DNMT1)、一氧化氮合酶 3 (nitric oxide synthase 3, NOS3)、环腺苷酸依赖的蛋白激酶催化亚基 α (cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha, PRKACA)、ATP 结合盒亚家族 B 成员 1 (ATP binding cassette subfamily B member 1, ABCB1)、蛋白酪氨酸磷酸酶受体 C 型 (protein tyrosine phosphatase receptor type C, PTPRC)、ATP 结合盒亚家族 G 成员 2 (ATP binding cassette subfamily G member 2, ABCG2)、黄嘌呤脱氢酶 (xanthine dehydrogenase, XDH)。

2.7.3 基于 MCODE (molecular complex detection) 的聚类分析 对 19 个关键候选靶点的 PPI 网络图进行 MCODE 分析, 设置 “Degree Cutoff” 为 2, “Node Score Cutoff” 为 0.2, “K-Core” 为 2, “Max.

Depth”为 100。共获得 5 个功能模块，分别命名为 MCODE1~5，节点个数分别为 23、8、4、3、3，得分分别为 20、4、3、3、3（图 5）。

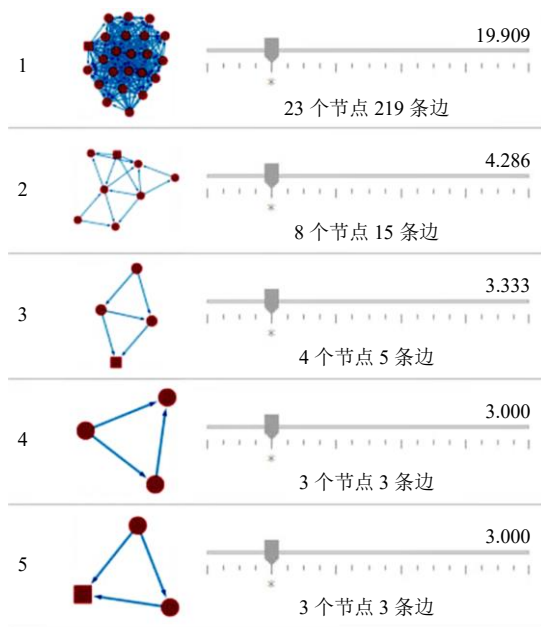


图 5 基于 MCODE 的聚类分析图

Fig. 5 Cluster analysis diagram based on MCODE

将 2 种方法所得的关键靶点取交集（图 6），得到 17 个靶点（MDM2、MMP2、PARP1、RELA、HDAC1、CDK2、MCL1、IL-2、CASP9、APP、CDK4、SERPINE1、DNMT1、NOS3、PRKACA、ABCB1、PTPRC）同时与 PPI 网络及 MCODE1~5 有关，因此，确定 17 个靶点为牡荆叶治疗支气管炎的关键靶点。

2.7.4 基因本体（gene ontology, GO）、京都基因与

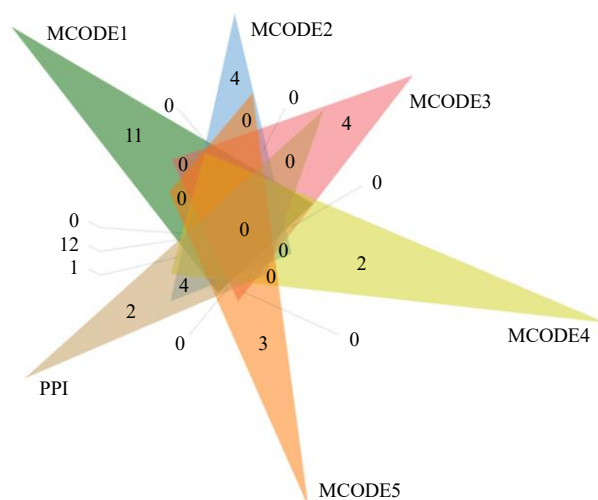


图 6 关键靶点韦恩图

Fig. 6 Venn diagram of core targets

基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG）富集分析 使用 Metascape 在线平台对上述获得的 17 个关键靶点进行 GO 及 KEGG 富集分析。运用微生信在线绘图平台绘制 GO 及 KEGG 富集分析的结果图。获得 160 条生物过程（biological process, BP）、8 条细胞组分（cellular component, CC）和 21 条分子功能（molecular function, MF）（ $P < 0.01$ ）。

按 P 值由小到大排列，分别选取前 10 条进行可视化（图 7-A），可以发现牡荆叶治疗支气管炎的 BP 主要富集于炎症反应负向调控、细胞对脂多糖的响应、氧化应激反应调节、丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）级联反应调控、细胞因子介导的信号转导、固有免疫应答调节、气道上皮细胞增殖凋亡平衡调控及细胞外基质重塑等过程，CC 主要富集于细胞膜筏、细胞质基质、细胞外基质、内质网腔、质膜蛋白复合物、线粒体外膜、细胞核基质、顶端质膜等亚细胞结构区域，MF 主要富集于细胞因子受体结合、蛋白激酶结合、金属肽酶活性调控、抗氧化活性、丝氨酸型肽酶活性、类固醇激素受体结合、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性调控等功能范畴。选择前 10 条通路进行作图（图 7-B），KEGG 结果显示，17 个关键靶点主要富集于细胞衰老（cellular senescence）、晚期糖基化终末产物-受体（advanced glycation end products-receptor for advanced glycation end products signaling pathway, AGE-RAGE）、EB 病毒感染（Epstein-Barr virus infection）、磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B（phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B, PI3K-Akt）等信号通路。

2.7.5 “候选 Q-Marker-关键靶点-关键通路”网络构建 将特征成分和 P 值前 10 的核心作用通路及其对应的靶点导入 Cytoscape 3.10.0 软件中，构建“候选 Q-Marker-关键靶点-关键通路”的网络图。结果如图 8 所示，其中三角形代表 Q-Marker 成分，四边形代表关键靶点，“V”字型代表关键通路。网络中节点之间联系紧密，说明成分与靶点和通路之间存在潜在相互作用关系，预测其可能通过多成分、多靶点、多通路发挥治疗支气管炎的作用特点。结果表明，对羟基苯甲酸、异荛草苷、异牡荆苷、AG 可能通过作用于 MMP2、RELA、SERPINE1、HDAC1 等靶点，影响 EB 病毒感染、细胞衰老、PI3K-Akt 等信号通路来发挥治疗支气管炎作用。

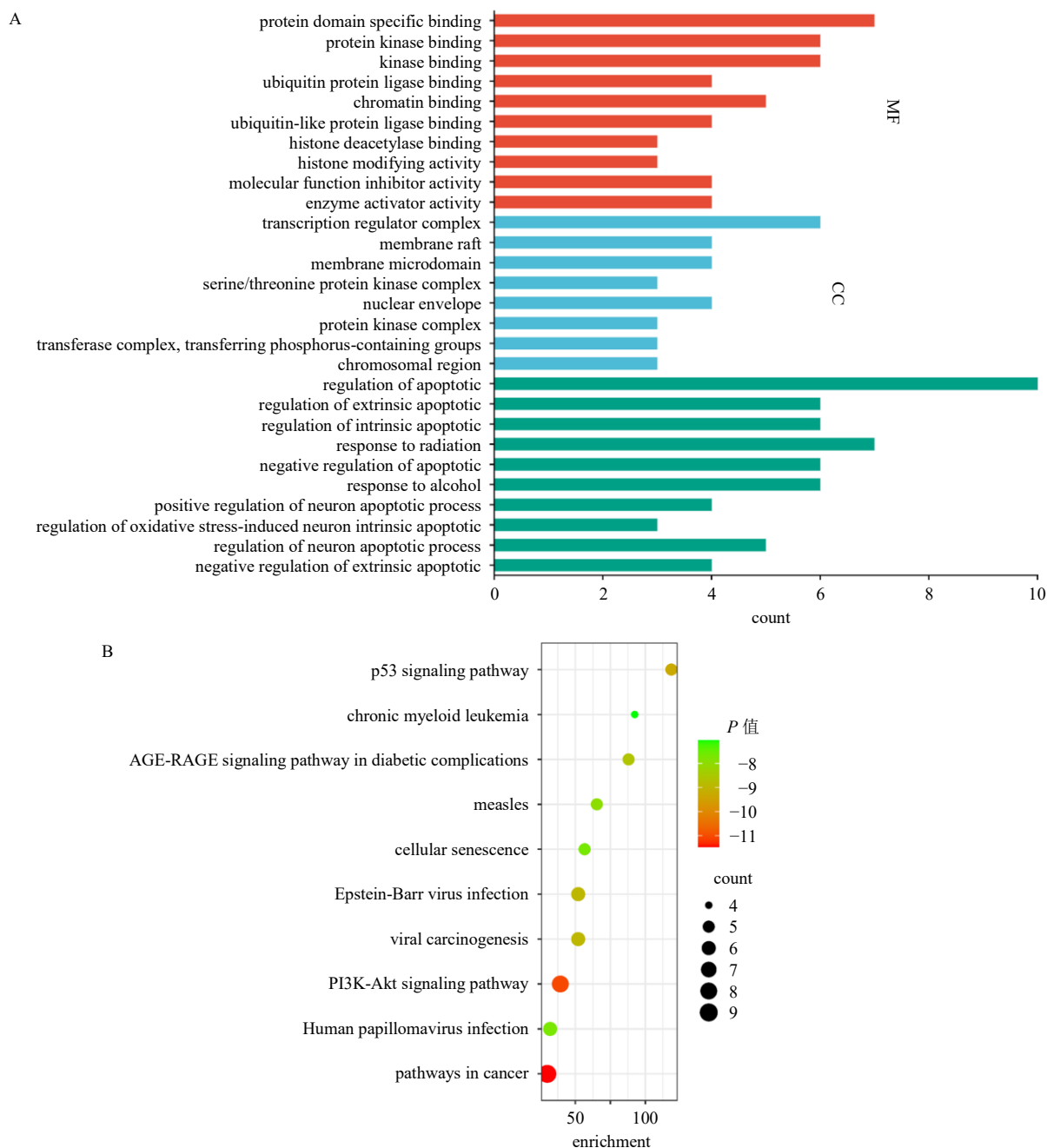


图 7 GO (A) 和 KEGG (B) 分析结果

Fig. 7 Results of GO (A) and KEGG (B) enrichment analyses

2.7.6 分子对接 对筛选得到的 4 个候选 Q-Marker 与支气管炎相关度、PPI 中连接度均较高的 4 个靶点 (MMP2、RELA、SERPINE1、HDAC1) 通过 Autodock 1.5.7 进行分子对接, 结合能结果见图 9, 利用 PyMOL 3.0.3 对结合能最低的 4 个对接构象进行可视化 (图 10)。其中结合能最低的是 RELA-异牡荆苷及 MMP2-AG 对接组合, 得分均为 -8.88 kcal/mol (1 kcal = 4.184 kJ), 最高为 HDAC1-对羟基苯甲酸对接组合, 得分为 -5.26 kcal/mol。配体-受体结合构

象结合能越低, 构象越稳定, 互作的可能性也越大。牡荆叶 4 个候选 Q-Marker 和 4 个核心靶点的结合能均小于 -5.00 kcal/mol, 表明候选 Q-Marker 与核心靶点均具有良好的结合能力, 筛选出的牡荆叶候选 Q-Marker 可能通过核心靶点在支气管炎治疗中发挥关键作用。

2.8 牡荆叶候选 Q-Marker 的定量分析

2.8.1 色谱条件 同“2.6.1”项下。

2.8.2 线性范围的考察 取对羟基苯甲酸、异牡荆

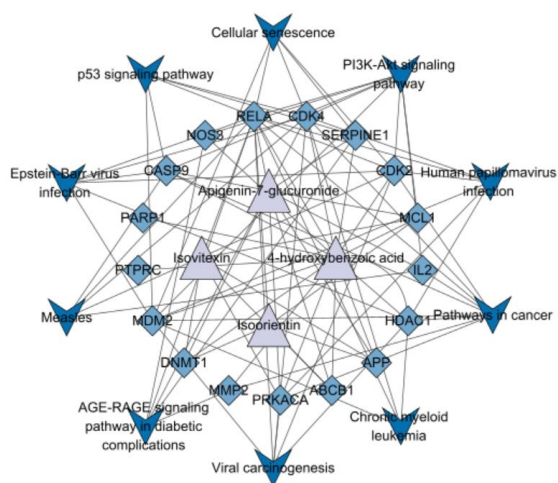


图8 牡荆叶“候选 Q-Marker-关键靶点-通路”网络

Fig. 8 Q-Marker components-key targets-pathways network of VNF



图9 分子对接得分热图

Fig. 9 Heat map of molecular docking binding energies

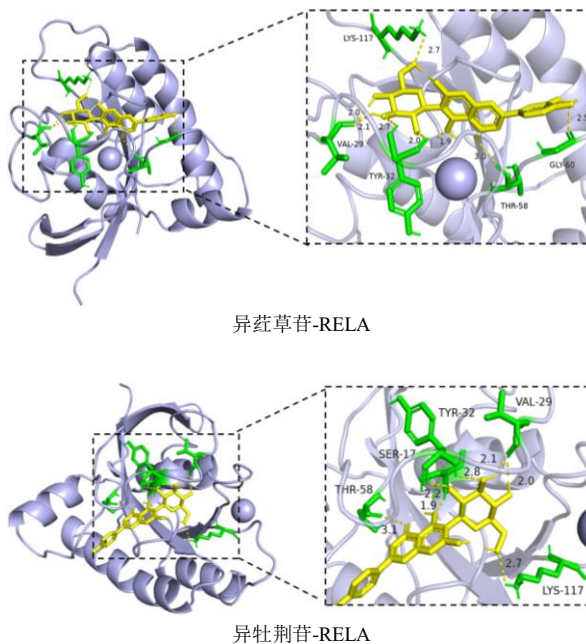
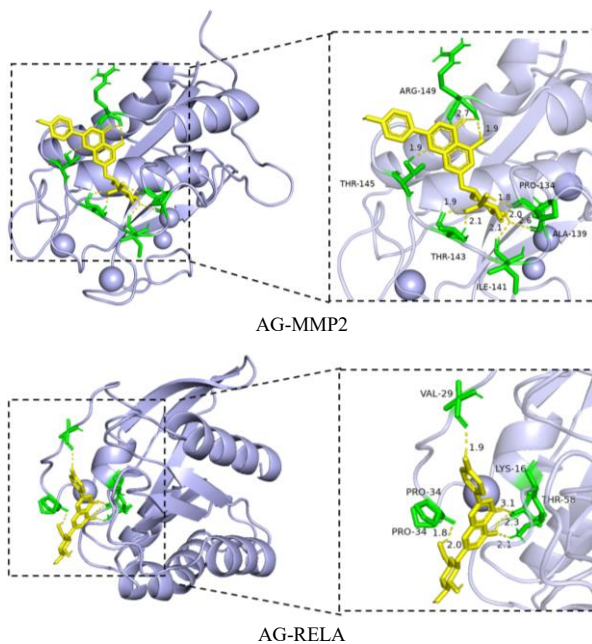


图10 分子对接结果的可视化

Fig. 10 Visualization of optimal molecular docking conformations

昔、异荭草昔、AG 对照品适量，配制为系列不同质量浓度的混合对照品溶液，按照“2.6.1”项下色谱条件依次进样测定，以进样量为横坐标（X），峰面积积分值为纵坐标（Y），绘制标准曲线，进行线性回归，计算得4个成分的线性回归方程分别为对羟基苯甲酸 $Y=12\,041\,995.00 X-20\,015.53$, $R^2=1.000\,0$ ，线性范围 $0.085\sim 1.127\,\mu\text{g}$ ；异牡荆昔 $Y=8\,769\,984.99 X-5\,155.30$, $R^2=0.999\,9$ ，线性范围 $0.006\sim 0.239\,\mu\text{g}$ ；异荭草昔 $Y=8\,098\,485.76 X+55\,640.69$, $R^2=0.999\,5$ ，线性范围 $0.007\sim 0.662\,\mu\text{g}$ ；AG $Y=7\,113\,034.30 X+8\,446.06$, $R^2=1.000\,0$ ，线

性范围 $0.001\sim 1.180\,\mu\text{g}$ ；结果表明对羟基苯甲酸、异牡荆昔、异荭草昔、AG 进样量分别在 $0.085\sim 1.127$ 、 $0.006\sim 0.239$ 、 $0.007\sim 0.662$ 、 $0.001\sim 1.180\,\mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.8.3 精密度试验 取同一牡荆叶标准汤剂供试品溶液（V4），连续进样测定6次，记录上述4个成分的峰面积并计算其RSD值，计算得到对羟基苯甲酸、异牡荆昔、异荭草昔、AG峰面积的RSD值分别为0.15%、0.82%、1.31%、0.88%，结果表明该仪器精密度良好。

2.8.4 稳定性试验 取配制好的同一牡荆叶标准

汤剂供试品溶液 (V4), 分别于配制后的 0、2、4、6、12、24 h, 按照“2.6.1”项下色谱条件, 精密吸取 2 μ L 进样测定, 计算得到供试品溶液中上述 4 个成分峰面积的 RSD 值依次为 0.52%、1.43%、1.33%、1.57%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8.5 重复性试验 取同一批牡荆叶标准汤剂冻干粉 (V4), 平行 6 份, 每份 0.2 g, 精密称定, 按照“2.2”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取该供试品溶液 2 μ L, 按照“2.6.1”项下色谱条件进样测定, 计算得到上述 4 个成分质量分数的 RSD 值依次为 0.97%、0.69%、0.93%、0.71%, 表明该方法重复性较好。

2.8.6 加样回收率试验 取已测知 4 种指标成分含量的牡荆叶标准汤剂冻干粉 (V4), 称取 0.1 g, 精密称定, 平行 6 份, 每份样品加入 100% 的对照品。按照“2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸

取供试品溶液和对照品溶液各 2 μ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积并计算加样回收率, 结果对羟基苯甲酸、异牡荆苷、异荭草苷、AG 的平均加样回收率分别为 103.40%、99.16%、100.44%、97.61%, RSD 值分别为 1.28%、0.95%、0.89%、0.89%, 结果表明该方法准确度良好。

2.8.7 牡荆叶指标成分在饮片-标准汤剂之间的量值传递分析 取牡荆叶饮片及标准汤剂的供试品溶液, 按照“2.6.1”项下色谱条件进样分析, 计算饮片和标准汤剂中, 4 个指标成分的含量及其转移率, 结果见表 2。可见, 对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 在饮片-标准汤剂之间的平均转移率分别为 118.83%、24.61%、54.75%、19.81%, 15 批牡荆叶的出膏率均值为 26.00%。转移率均在 $\bar{x} \pm 3s$, 说明这些成分在饮片-标准汤剂之间的转移率较为稳定。

表 2 牡荆叶中指标成分含量及量值传递关系

Table 2 Content of indicator components in VNF and their quantity value transfer relationship

样品	出膏率/ %	对羟基苯甲酸/(mg·g ⁻¹)		转移率/ %	异荭草苷/(mg·g ⁻¹)		转移率/ %	异牡荆苷/(mg·g ⁻¹)		转移率/ %	AG/(mg·g ⁻¹)		转移率/ %
		饮片	标准汤剂		饮片	标准汤剂		饮片	标准汤剂		饮片	标准汤剂	
V1	30.42	7.09	36.88	158.29	29.85	17.57	17.90	4.45	5.57	38.04	3.35	2.16	19.64
V2	27.03	6.64	32.04	130.34	16.34	10.97	18.14	4.65	8.31	48.36	4.84	3.77	21.04
V3	29.06	5.15	20.76	117.09	14.97	10.53	20.44	1.90	3.58	54.83	5.31	3.17	17.33
V4	28.41	6.55	30.39	131.74	16.09	10.84	19.15	4.65	8.18	50.02	4.77	3.72	22.17
V5	27.70	2.32	7.94	94.93	9.24	6.29	18.87	1.92	4.14	59.73	1.64	1.24	20.91
V6	28.28	1.89	11.28	168.46	9.64	8.32	24.42	1.79	3.91	61.67	2.22	2.16	27.53
V7	26.98	1.90	10.41	148.00	10.02	7.83	21.09	1.72	3.39	53.06	2.29	2.45	28.82
V8	17.81	1.43	10.55	131.40	1.14	2.25	35.34	0.49	1.74	62.73	0.22	0.65	52.99
V9	27.68	2.28	9.08	109.97	9.21	6.28	18.87	1.89	4.12	60.28	1.10	1.23	30.79
V10	26.98	5.85	18.50	85.34	17.96	12.72	19.11	2.11	4.12	52.63	2.24	0.43	5.18
V11	29.03	6.48	22.80	102.13	9.20	11.96	37.72	1.99	4.17	60.74	1.73	1.46	24.56
V12	25.23	7.04	20.87	74.83	9.99	9.44	23.84	2.74	5.67	52.26	0.82	0.31	9.69
V13	25.30	7.43	19.43	66.14	10.55	9.35	22.42	2.06	5.62	68.93	4.56	0.45	2.50
V14	21.43	3.21	19.39	129.36	4.56	5.71	26.84	1.67	3.92	50.19	2.09	1.19	12.21
V15	18.71	2.00	14.37	134.43	2.84	6.83	45.01	1.72	4.39	47.83	1.80	0.18	1.84
$\bar{x} \pm s$	26.00± 3.70	4.48± 2.30	18.98± 8.50	118.83± 28.80	11.44± 6.80	9.13± 3.50	24.61± 8.00	2.38± 1.20	4.72± 1.70	54.75± 7.40	2.60± 1.50	1.64± 1.20	19.81± 12.60

3 讨论

3.1 基于 Q-Marker 的牡荆叶治疗支气管炎的网络药理学研究

本研究以 Q-Marker 理论为指导, 首先结合特征图谱筛选出对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 4 种稳定可测的候选 Q-Marker。在此基础上, 结合网络药理学与分子对接分析, 预测成分潜在作

用靶点并与支气管炎疾病靶点取交集, 系统阐释牡荆叶治疗支气管炎的潜在作用机制。

支气管炎是以气道慢性炎症、氧化应激失衡、气道重塑为核心病理特征的呼吸系统疾病, 炎症因子过度释放、基质降解紊乱及信号通路异常激活是其病程进展的关键驱动因素。在网络药理学筛选得到的关键靶点与关键通路中, MMP2、MDM2、

CDK2、CDK4、CASP9、PARP1、HDAC1、SERPINE1、NOS3、RELA、细胞衰老、PI3K-Akt 信号通路以及 AGE-RAGE 信号通路已有文献记载与支气管炎的发病机制密切相关。

AGE-RAGE 信号通路的激活可诱导活性氧大量产生,进而激活 RELA,并上调促炎因子、MMP2 及 SERPINE1 的表达,同时抑制内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的活性,共同加剧气道炎症、内皮功能障碍及组织重塑^[12-14]。

PI3K-Akt 信号通路的过度活化在支气管炎中十分关键,一方面通过磷酸化并抑制促凋亡蛋白,上调抗凋亡蛋白的表达,从而抑制 CASP9 介导的线粒体凋亡途径,导致受损或衰老的气道上皮细胞无法被有效清除而累积^[15-18];另一方面,Akt 可直接或间接调控细胞周期进程。MDM2 作为 p53 的关键负调控因子,其功能失衡会破坏 p53-p21 轴,而 CDK2 和 CDK4 的活性被抑制导致细胞周期阻滞,二者协同作用可驱动气道上皮细胞过早进入衰老状态^[19]。

衰老细胞一旦形成便通过衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)释放大炎症介质^[20],此过程受到 PARP1 和 HDAC1 的协同调控:PARP1 参与脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)损伤修复及核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的激活^[21-23],而 HDAC1 则通过去乙酰化修饰影响染色质结构和炎症基因的转录^[22],共同放大 SASP 效应,形成慢性炎症的恶性循环。EB 病毒感染虽主要与淋巴增殖性疾病相关,但其潜伏膜蛋白 1 可通过模拟分化簇 40 信号,交叉激活 RELA 与 PI3K-Akt 通路^[23],可能在部分难治性或特殊类型的支气管炎中参与慢性炎症的维持。

综上,这些靶点与通路可能通过交织成一个复杂的调控网络,共同促进支气管炎中细胞衰老的诱导、维持及其有害的旁分泌效应。将经特征图谱确认的对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 4 个候选 Q-Marker 成分与和支气管炎相关度、PPI 中连接度均较高的 4 个靶点(MMP2、RELA、SERPINE1、HDAC1)进行分子对接,结果表明 4 个候选 Q-Marker 和 4 个靶点之间均具有良好的结合活性,从分子层面支持成分-靶点的相互作用可行性。整体调控网络呈现多成分协同、多靶点汇聚、多通路交联的典型中药作用特点。

3.2 牡荆叶标准汤剂 Q-Marker 的量值传递研究

以标准汤剂指标成分转移率及含量在 $\bar{x} \pm 3s$ 为度量标准,15 批牡荆叶标准汤剂样品中的对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 的转移率及含量均在该范围内,各批次的出膏率亦均在 $\bar{x} \pm 3s$,表明所制备的标准汤剂具有较好的均一性,制备工艺较为稳定。其中,对羟基苯甲酸的转移率最高为 168.46%,最低为 66.14%,波动较大,推测原因为植物基质中的酚酸常以结合态储存于细胞壁或液泡中,需通过溶剂浸润与机械作用破坏结合位点才能完全释放^[24-25]。

对羟基苯甲酸在牡荆叶中可能以结合态和游离态 2 种形式存在。在超声提取和加热煎煮过程中,溶剂的极性与超声的机械振动作用会破坏饮片细胞结构及成分与基质的结合键,使原本无法被直接提取的结合态对羟基苯甲酸转化成游离态进入提取液,导致转移率的值超过 100%。同时,不同批次汤剂基质组分不同,其可能通过氢键络合、疏水包埋及胶束分配等弱相互作用与该成分形成热力学稳定性各异的可逆结合态^[26]。

批次间药材基原、炮制工艺或煎煮参数变异时,上述机制的有效结合比例随之改变,使成分在游离态与结合态之间的分配平衡偏移。当前检测方法对结合态识别能力有限,该偏移可导致表观检测浓度系统性偏差,最终表现为转移率波动。而个别批次的转移率偏低推测可能为对羟基苯甲酸的酚羟基易被氧化生成醌类衍生物。

在煎煮和真空浓缩过程中,高温可能导致部分对羟基苯甲酸发生降解或转化,并且不同批次标准汤剂样品的受热时间(如同品牌煎煮罐的差异导致煎煮时的沸腾时间差异)不同,使降解程度不一,最终导致转移率波动。此外,实验室小试投料量较小,饮片粉碎后该成分分布不均,取样代表性差,也可能造成饮片含量测定偏差,间接放大转移率计算结果。后续在配方颗粒研发过程中可优化提取工艺、考虑所用饮片的质量的一致性,以确保批次间质量一致性及量值传递的均一性。标准汤剂作为配方颗粒开发前期的重要组成部分,也是建立饮片-中间体-制剂质量控制体系的关键,阐明其关键成分的量值传递规律,保证标准汤剂的均一稳定,可为制剂制备过程的质量传递和质量相关性提供参考。

3.3 Q-Marker 的五原则分析

本研究以 Q-Marker 五原则理论为指导,对 4

种特征成分进行综合确证。特征图谱结果显示,对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 在 15 批样品中稳定检出,色谱行为良好,经方法学验证可实现准确性与定量检测,且均为牡荆叶中特征性酚酸及黄酮类成分,符合 Q-Marker 特有性与可测性要求。

牡荆叶富含黄酮类和酚类成分,而这些成分又具有显著的药理活性。研究报道,牡荆叶酚类成分具有显著的抗炎作用^[27],而对羟基苯甲酸的含量较高,推测其为代表性发挥抗支气管炎作用的酚类成分。同时黄酮类成分可以通过调节炎症相关基因的表达发挥抗支气管作用。例如,异牡荆苷可通过激活核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 和血红素加氧酶-1 通路降低氧化应激;通过抑制 Toll 样受体 4 和 NF- κ B 信号通路及 MAPK 通路发挥抗炎作用,后者包括降低 p38 MAPK、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 的磷酸化水平;在特定模型中还可通过抑制 PI3K 及 Akt 通路的过度磷酸化调节炎症反应^[28-29]。异荭草苷能显著抑制 MAPK 信号通路中 p-JNK 和 p-p38 的磷酸化,并减少叉头框蛋白 O1 及 O3 的核转位^[30],从而影响炎症反应。研究表明,AG 可以减少促炎细胞因子的产生^[31]。

本研究结合文献并通过网络药理学及分子对接证明上述成分可作用于支气管炎相关靶点,分子对接结合能均小于 -5 kcal/mol,从分子层面支持成分-靶点相互作用的可行性,为有效性原则提供初步证据,满足 Q-Marker 有效性原则。饮片至标准汤剂的量值传递研究显示,以上 4 种成分转移规律清晰,整体传递稳定,可实现药材到制剂的溯源,符合传递与溯源性要求。综合以上研究结果,初步将对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 确定为牡荆叶标准汤剂的潜在 Q-Marker,为基于支气管炎的牡荆叶标准汤剂的潜在 Q-Marker 标准的制订提供科学支撑。

3.4 研究局限性与展望

本研究以特征图谱为起点,筛选出 4 个候选成分,并通过网络药理学分析与文献考证初步验证其与支气管炎的相关性,结合定量传递结果初步确认其从饮片到标准汤剂的含量稳定性。但该研究路径存在一定局限,有待后续工作补充完善。

候选成分的筛选建立在可检测性优先的基础之上。特征图谱仅能识别响应较强的成分,筛选过程实际上是以含量高低和色谱可分离性替代了药效强弱作为首要标准,说明研究无法排除微量高活性组分,未知代谢产物或经肠道菌群修饰后的活性产物同样具备 Q-Marker 潜力的可能。后续研究拟引入非靶向代谢组学,结合靶向谱效关系分析,在更广阔的化学空间中开展无偏差筛选,以验证或补充现有候选体系。

现有有效性证据主要停留在理论层面。网络药理学预测与文献报道虽然建立了“成分-靶点-通路”的关联,但尚未通过体内实验证实这些成分在给药后能否达到有效暴露量、能否穿透相关生物屏障并确实调控预测靶点。因此,后续拟开展系统的药效学研究,明确关键成分在体内的吸收、分布特征。当前 Q-Marker 体系仅覆盖饮片至标准汤剂的小试阶段,尚未经过浓缩、干燥、成型及长期稳定性等后续工艺环节的验证,亦缺乏临床多批次样本的一致性回溯。

后续拟遵循小试-中试-大试的递进式放大路径,逐级验证并优化小试的科学假设。Q-Marker 的最终确立需要贯通从药材基原、炮制工艺、中间体制备到成品放行的全过程,并通过多批次数据积累与方法学验证,建立与中药功能属性相关联的质量标准,从而推动实验室候选指标向生产质控核心参数的有效转化。本研究样品主要来自南方省份且采集时间集中,所得结果具有一定的地域和季节局限性,后续拟进一步扩大采样范围和时间跨度,以完善质量评价体系。

4 结论

本研究基于特征图谱、网络药理学-分子对接、定量分析的方法,以 Q-Marker 原则为指导,初步确定对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 可作为质量控制及抗支气管炎药效评价的 Q-Marker,为建立牡荆叶的质量评价提供参考。同时,本研究探索了牡荆叶治疗支气管炎的药效物质及潜在的作用机制,推测牡荆叶的主要成分对羟基苯甲酸、异荭草苷、异牡荆苷、AG 可能通过作用于 MMP2、RELA、SERPINE1、HDAC1 等靶点来影响细胞衰老、PI3K-Akt、EB 病毒感染等信号通路以发挥支气管炎的作用,为临床使用提供一定的理论依据。所建体系可全面反映牡荆叶标准汤剂质量,为其质量标准提升与配方颗粒研究提供支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 四部. 2025: 185.
- [2] 陈士林, 刘昌孝, 张铁军, 等. 基于中药质量标志物 and 传统用法的中药饮片标准汤剂传承发展研究思路与建议 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4519-4528.
- [3] 王岩, 陈俊利, 冯文佳, 等. 全球、高 SDI 国家和中国 < 5 岁儿童 1990—2019 年下呼吸道感染疾病负担变化趋势 [J]. 中国公共卫生, 2024, 40(7): 840-848.
- [4] Safiri S, Carson-Chahhoud K, Noori M, *et al.* Burden of chronic obstructive pulmonary disease and its attributable risk factors in 204 countries and territories, 1990—2019: Results from the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Bmj*, 2022, 378: e069679.
- [5] 刘学东, 隋凤翔, 刘菁. 吸入抗生素在支气管扩张症中的应用现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(14): 2107-2110.
- [6] Malo S, Poblador-Plou B, Prados-Torres A, *et al.* Poor congruence with guidelines in the use of antibiotics for acute bronchitis: A descriptive study based on electronic health records [J]. *Fam Pract*, 2016, 33(5): 471-475.
- [7] 李曼曼, 黄正, 霍会霞, 等. 牡荆叶化学成分研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(3): 578-582.
- [8] Umamaheswari G, Selvam K, Prakash P. Phytochemical profiling and antioxidant activity of aqueous leaf extract of *Vitex negundo* [J]. *J Pharm Res Int*, 2021, 33(23B): 22-32.
- [9] 李曼曼. 牡荆叶抗炎活性成分研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [10] Fang S T, Kong N N, Yan B F, *et al.* Chemical constituents and their bioactivities from the fruits of *Vitex negundo* var. *cannabifolia* [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(24): 2856-2860.
- [11] 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.
- [12] Zhang L X, Yi H L, Sang N. Sulfur dioxide-induced exacerbation of airway inflammation via reactive oxygen species production and the Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B pathway in asthmatic mice [J]. *Toxicol Ind Health*, 2021, 37(9): 564-572.
- [13] Hu R, Wang M Q, Ni S H, *et al.* Salidroside ameliorates endothelial inflammation and oxidative stress by regulating the AMPK/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway in AGEs-induced HUVECs [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 867: 172797.
- [14] Reynaert N L, Vanfleteren L E G W, Perkins T N. The AGE-RAGE axis and the pathophysiology of multimorbidity in COPD [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(10): 3366.
- [15] Li Y J, Du L, Ye K Q, *et al.* Akt inhibition sensitizes acute leukemia cells to S63845-induced apoptosis [J]. *Hematology*, 2023, 28(1): 2214465.
- [16] Li Y, Jiang Y, Wan Y C, *et al.* Medroxyprogesterone enhances apoptosis of SKOV-3 cells via inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Biomed Res*, 2013, 27(1): 43-50.
- [17] Zhou B H, Tan P P, Jia L S, *et al.* PI3K/Akt signaling pathway involvement in fluoride-induced apoptosis in C2C12 cells [J]. *Chemosphere*, 2018, 199: 297-302.
- [18] Ji K Y, Wu S H, Yuan J Y, *et al.* L-selenomethylselenocysteine exerts inhibitory effects on the progression of esophageal cancer by targeting the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Recent Pat Anti Cancer Drug Discov*, 2026, 21(2): 161-172.
- [19] Wang M, Liu M, Huang Y J, *et al.* Differential gene expression and methylation analysis of melanoma in TCGA database to further study the expression pattern of KYNU in melanoma [J]. *J Pers Med*, 2022, 12(8): 1209.
- [20] Wang B, Han J, Elisseff JH, *et al.* The senescence-associated secretory phenotype and its physiological and pathological implications [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2024, 25(12): 958-978.
- [21] Li D, Luo Y F, Chen X L, *et al.* NF- κ B and poly (ADP-ribose) polymerase 1 form a positive feedback loop that regulates DNA repair in acute myeloid leukemia cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(3): 761-772.
- [22] Kwon J W, Kwon H K, Shin H J, *et al.* Activating transcription factor 3 represses inflammatory responses by binding to the p65 subunit of NF- κ B [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14470.
- [23] Qu H, Zhang P, Tang Y, *et al.* Epstein-Barr virus-driven immunosuppression in nasopharyngeal carcinoma: A comprehensive review of viral mechanisms, spatial tumor ecosystems, and precision therapeutics [J]. *Front Immunol*, 2026, 17: 1875687.
- [24] 赵婕. 基于亚胺类共价有机骨架磁性复合材料的制备及其在食品样品前处理中的应用 [D]. 烟台: 鲁东大学, 2024.
- [25] Sirichokworakit S, Rimkeeree H, Chantrapornchai W, *et al.* Comparative study on conventional, accelerated solvent extraction and ultrasonic-assisted extraction of total phenolic and anthocyanin contents and antioxidant activities from riceberry bran [J]. *Agr Nat Res*, 2022, 56(2): 243-254.
- [26] 杨云霞, 李可, 王易佳, 等. 对羟基苯甲酸-水为主体晶格的管状包合物的合成与晶体结构 [J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2010, 46(2): 160-165.

- [27] Ginwala R, Bhavsar R, Chigbu D I, *et al.* Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(2): 35.
- [28] 陆松侠, 黄茸茸, 胡健力, 等. 基于 IL-33/ST2 信号通路研究补肺汤对慢性支气管炎大鼠肺组织炎症因子表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(23): 5826-5830.
- [29] Liu M X, Li T, Wang W G, *et al.* Regulatory effect of isovitexin on MAPK/NF- κ B signal in mice with acute ulcerative colitis [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2023, 25(8): 765-782.
- [30] Chen T T, Xu L Q, Gao Z G, *et al.* Isovitexin accelerates diabetic wound repair via coordinated angiogenesis and collagen remodeling: Mechanistic insights from cellular and streptozotocin-induced SD rat models [J]. *Tissue Cell*, 2025, 97: 103100.
- [31] 杨兰珠, 李诗怡, 孙雨伟, 等. 异荭草苷通过 MAPK/FoxO 信号通路减轻 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞炎症反应 [J]. 安徽农业大学学报, 2024, 51(1): 132-137.

[责任编辑 郑礼胜]