

[科研报道]

桔梗质量标志物筛选

井亚江¹, 王七龙¹, 黄建萍¹, 安佳¹, 王祥¹, 张岗¹, 彭亮¹, 高静¹,
王昌利¹, 王育朋², 张鑫磊³, 颜永刚^{1*}

(1. 陕西中医药大学药学院, 陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, “秦药”研发重点实验室, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西海天制药有限公司, 陕西 咸阳 712000; 3. 空军军医大学药学院药物化学与药物分析学教研室, 陕西 西安 710032)

摘要: 目的 筛选桔梗质量标志物。方法 建立 HPLC-ELSD 指纹图谱, 获取化学成分信息。采用网络药理学建立成分-靶点、蛋白互作网络, 筛选核心靶点与潜在质量标志物, 并进行细胞实验验证。结果 19 批药材指纹图谱中有 12 个共有峰, 相似度 0.933~0.997。共得 15 种活性成分、5 个核心靶点、5 个质量标志物。各质量标志物干预后, A549 细胞上清 IL-17、TNF 水平降低 ($P<0.01$), EGFR、JUN、RXRA、STAT3、TNF、PTGS2 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。结论 桔梗皂苷 D₃、桔梗皂苷 D₂、桔梗皂苷 A、远志皂苷 D₂、桔梗酸 A 可作为桔梗质量标志物, 该药材能通过免疫调节、抑制炎症因子分泌、调控细胞分化与增殖等途径达到宣肺、利咽功效。

关键词: 桔梗; 质量标志物; HPLC-ELSD 指纹图谱; 网络药理学; 细胞实验

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)10-3393-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.034

桔梗为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根, 其性平, 味辛、苦, 归肺经, 含有皂苷、黄酮、多糖等成分^[1], 其中五环三萜类皂苷化合物是该药材产生苦味并发挥止咳、平喘等功效的物质基础^[2]。它具有宣肺利咽、祛痰排脓作用, 与其他中药配伍时可治疗痰滞胸痞、咽喉肿痛、肺痈吐脓等症。

目前, 桔梗质量评价指标较单一, 2020 年版《中国药典》仅对桔梗皂苷 D 含量做出规定。质量控制成分与药理作用的关系成为近年来建立质量评价标准的发展方向, 刘昌孝院士建立质量标志物 (Q-marker) 理论体系^[3], 以多学科、多技术融合为评价方法, 广泛应用于中药饮片与复方制剂^[4]。

指纹图谱为中药质量控制与检测的重要方法之一, 能较全面地反映后者所含物质信息^[5], 也是筛选中药及其相关制剂质量标志物的有效手段^[6]。另外, 网络药理学的整体性研究思路与中医药理论契合^[7]。因此, 本实验基于 HPLC-ELSD 指纹图谱及网络药理学, 借助大数据分析 with 计算机网络模拟手段, 从“成分-靶点-疾病”整体观点入手^[8], 研究桔梗对靶点、通路的调控机制, 从而对该药材发挥相应功效进行阐释。

1 材料

1.1 药材 桔梗采自 19 个产地, 经陕西中医药大学高级实验师王继涛鉴定为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根, 具体见表 1。

表 1 桔梗信息

编号	产地	编号	产地
S1	陕西省商洛市柞水县	S11	内蒙古自治区锡林郭勒盟
S2	陕西省蓝田县蓝关镇	S12	安徽省亳州市谯城区
S3	河北省保定市	S13	安徽省亳州亳县
S4	重庆市石门镇	S14	内蒙古自治区通辽市庆和镇
S5	湖南省张家界市象市镇	S15	陕西省安康市宁陕县
S6	陕西省商洛市灵口镇	S16	河北省安国市
S7	内蒙古自治区赤峰市	S17	安徽省合肥市古城镇
S8	陕西省安康市	S18	湖南省张家界市慈利县
S9	湖南省长沙市宁乡县	S19	陕西省商洛市商州区
S10	安徽省阜阳市		

1.2 试剂 人 NSCLC 细胞系 A549、培养基 RPMI-1640 (批号 WH0022A021) 均购自武汉普诺赛生命科技有限公司。去蔗糖桔梗皂苷 E (批号 849758-42-5)、桔梗皂苷 E (批号 237068-41-6)、桔梗皂苷 D₃ (批号 67884-03-1)、去蔗糖桔梗皂苷 D (批号 78763-58-3)、桔梗皂苷 D₂ (批号

收稿日期: 2023-10-26

基金项目: 三秦英才特殊支持计划创新创业团队项目 (2023); 国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (国中医药人函 [2019] 41 号); 内蒙古自治区科技重大专项 (2019ZD005); 陕西中医药大学“秦药”品质评价与资源开发学科创新团队项目 (2019-QN01)

作者简介: 井亚江 (1998—), 男, 硕士生, 从事中药鉴定及其资源研究。E-mail: jjy2971847672@163.com

* 通信作者: 颜永刚 (1978—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药品种品质、资源开发及其质量标准研究。E-mail: yunfeng828@163.com

66663-90-9)、桔梗皂苷 D (批号 58479-68-8) 对照品均购自上海源叶生物科技有限公司, 纯度 $\geq 98\%$; 远志皂苷 D₂ (批号 PS230327-12)、桔梗酸 A (批号 PS230327-10)、桔梗皂苷 A (批号 PS230327-11) 对照品均购自成都普思生物科技股份有限公司, 纯度 $\geq 98\%$ 。CCK-8 (批号 EG20201111) 购自南京恩晶生物科技有限公司; 总 RNA 提取试剂 (批号 BS259A) 购自北京兰杰柯科技有限公司; 5×SmArt RT Master Mix (批号 DY10502) 购自上海笛笛生物科技有限公司; 人 TNF 试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 人 IL-17/17A ELISA 试剂盒购自深圳欣博盛生物科技有限公司。乙腈、甲醇均为色谱纯, 购自瑞典 OCEANPAK 公司; 无水乙醇、甲酸均为分析纯, 购自天津市富宇精细化工有限公司。

1.3 仪器 S3000 高效液相色谱仪 [华谱科仪 (北京) 科技有限公司]; BS224S 电子天平 (德国 Sartorius 公司); 低温台式离心机、全波长酶标仪、CO₂ 培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 基因扩增仪 (杭州博日科技股份有限公司); 微量分光光度计 (北京凯奥科技发展有限公司)。

2 方法

2.1 HPLC-ELSD 指纹图谱建立

2.1.1 色谱条件 Alphasil VC-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) -水 (含 0.2% 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0~20 min, 20%~22% A; 20~35 min, 22%~30% A; 35~50 min, 30%~27% A; 50~55 min, 27%~25% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 5 μL; 漂移管温度 75 °C, 体积流量 2.5 L/min。

2.1.2 供试品溶液制备 取药材粉末 (过 2 号筛) 2.0 g, 加入 50 mL 50% 甲醇, 称定质量, 超声 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 处理 30 min, 放冷, 50% 甲醇补足减失的质量, 过滤, 滤液浓缩至干, 甲醇溶解, 置于 5 mL 量瓶中, 50% 甲醇定容至刻度, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.1.3 对照品溶液制备 精密称取去蔗糖桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D₃、去蔗糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₂、桔梗皂苷 D 对照品适量, 甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 0.117 4、0.124 3、0.139 3、0.143 7、0.120 9、0.541 1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.1.4 方法学考察

2.1.4.1 精密度试验 取药材 (编号 S12) 适量, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 以桔梗皂苷 D₃ (3 号峰) 为参照, 测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.21%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.43%, 表明仪器精密度良好。

2.1.4.2 重复性试验 取药材 (编号 S12) 适量, 按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定, 以桔梗皂苷 D₃ (3 号峰) 为参照, 测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.75%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.92%, 表明该方法重复性良好。

2.1.4.3 稳定性试验 取药材 (编号 S12) 适量, 按

“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定, 以桔梗皂苷 D₃ (3 号峰) 为参照, 测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 2.47%, 相对峰面积 RSD 均小于 1.79%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.5 图谱生成 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统” (2012 年版) 对不同产地药材指纹图谱峰面积进行相似度评价, 设置参照峰, 经多点校正 Mark 峰匹配, 得到叠加图谱和对照图谱, Origin 2021.9.8.0 软件处理图片。

2.2 网络药理学研究

2.2.1 活性成分、疾病靶点筛选 以“JIE GENG”为关键词, 在 TCMS (https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php)、SymMap (http://www.symmap.org/)、Batman (http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/)、CNKI、Pubmed 数据库中检索成分、药理作用报道。结合指纹图谱, 在 pubchem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/) 数据库中获取 smiles 结构, 导入 Swisstarget (http://www.swisstargetprediction.ch/) 进行靶点预测。借助 Symmap 与 TCMID 数据库结合文献 [9-10] 报道, 以“tonsillitis”“chronic pharyngitis”“chronic pulmonary obstruction”为关键词在 GeneCards 数据库中获得疾病靶点, 构建成分-靶点网络, 筛选核心成分^[11]。

2.2.2 PPI 网络构建、核心靶点筛选 在 STRING (https://cn.string-db.org/) 数据库中对交集靶点进行 PPI 分析, 结果以“tsv”格式在 Cytoscape 软件中打开, 对度值 (DC)、中介中心性 (BC)、接近中心性 (CC) 进行拓扑分析, 寻找核心靶点。

2.2.3 GO、KEGG 富集分析 采用 DAVID (https://david.ncicrf.gov/) 数据库, 以 $P < 0.05$ 为筛选条件, 进行基因本体论 (GO)、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。

2.2.4 分子对接 利用 RCSB PDB 网站 (https://www.rcsb.org/) 输出靶点 pdb 结构, PubChem 网站输出活性成分的 SDF 文件, 通过 Autodocktool 1.5.6 软件进行处理, 采用 PyMol、AutoDock 软件去除残基配体, 设置活性口袋等操作。对接验证后获取结合能信息, 并进行可视化操作, 再经 Discovery Studio 2019 软件处理, 得到配体残基作用信息。

2.3 细胞实验

2.3.1 qPCR 验证 TRI Reagent 试剂提取总 RNA 后反转录为 cDNA 模板, 条件为 25 °C 5 min, 50 °C 15 min, 85 °C 5 s, 保持 4 °C, 所得反应液加入下一步 qPCR 反应体系中 (2×qPCR SmArt Mix 10 μL, 模板 DNA 0.8 μL, 正向、反向引物各 0.4 μL, 无菌超纯水 8.4 μL), 程序为 95 °C 30 s, 95 °C 10 s, 60 °C 10 s, 72 °C 30 s, 40 个循环。引物序列见表 2。

2.3.2 抗炎活性 将对数生长期 A549 细胞接种于 6 孔板中, 置于 37 °C 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 加入 10 μmol/L

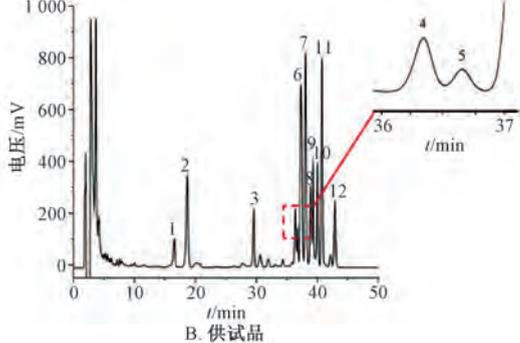
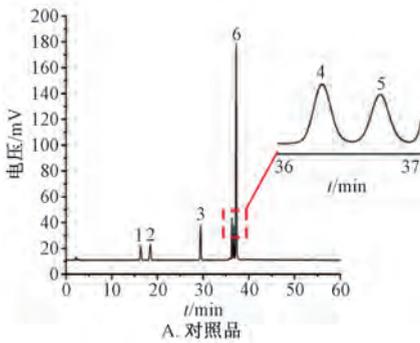
表2 引物序列

引物	正向	反向	序列长度/bp
TNF	GCCCATGTTGTAGCAAACCC	TGAGGTACAGCCCTCTGAT	133
STAT3	GAGCAGGTATCTTGAGAAGCCA	TCTGTTCTAGATCCTGGGCCG	113
RXRA	ATTTCCTGCCGCTCGATTCT	CTGATGACCGAGAAAGCGCG	193
PTGS2	TCCCTTGGGTGTCAAAGGTAAA	TGGCCCTCGTTATGATCTG	172
JUN	GTGCCGAAAAGGAAGCTGG	CTGCGTTAGCATGAGTTGGC	175
EGFR	TATTGATCGGGAGAGCCGGA	TCGTGCCTTGCCAACTTTC	145

质量标志物溶液各4 mL,同时设立空白对照组,24 h后收集细胞上清液与悬液,采用ELISA试剂盒检测TNF、IL-17水平。

2.3.3 抗肿瘤活性 取对数生长期A549细胞,采用血球计数板计数,每孔3 000个,调整密度后置于37℃、5%CO₂培养箱中培养24 h,每孔加入100 μL 10 μmol/L质量标志物溶液刺激,同时设立对照组(未加受试成分)及空白组,边缘孔用无菌PBS填充,培养24、48、72 h后加入CCK-8溶液各10 μL,继续培养3~3.5 h,在450 nm波长处测定光密度(OD),计算抑制率,公式为抑制率=[1-(OD_{实验}-OD_{空白})/(OD_{对照}-OD_{空白})]×100%,其中OD_{实验}为加入培养基、细胞、CCK-8、质量标志物后的光密度,OD_{对照}为加入培养基、细胞、CCK-8后的光密度,OD_{空白}为加入培养基、CCK-8后的光密度。

2.4 统计学分析 通过SPSS 26.0软件进行处理,Graphpad Prism 9.0、Image J 1.53a软件进行可视化分析,数据以(x̄±s)表示。P<0.05表示差异具有统计学意义。



1. 去芹糖桔梗皂苷 E 2. 桔梗皂苷 E 3. 桔梗皂苷 D₃ 4. 去芹糖桔梗皂苷 D 5. 桔梗皂苷 D₂ 6. 桔梗皂苷 D

图2 各成分HPLC-ELSD指纹图谱

3.1.2 相似度 由图3可知,各批药材相似度在0.933~0.997之间,表明不同产地其主要物质群差异较小,质量稳定。

3.2 网络药理学

3.2.1 成分-靶点网络 基于质量标志物特有、可测、有效理论,结合2020年版《中国药典》与指纹图谱,获得潜在质量标志物15个、潜在作用靶点145个,取潜在质量标志物与疾病靶标交集,构建韦恩图,见图4。再构建桔梗成分-靶点网络,其中绿色节点代表成分,蓝色节点代表靶点,节点形状大小与度值成正比,见图5。

3.2.2 成分-靶点蛋白互作网络 由图6(靶点颜色与度值成正比)可知,TNF、EGFR、JUN、STAT3、RXRA、PTGS2节点度值最大,可能与桔梗宣肺、利咽功效联系紧密。

3 结果

3.1 HPLC-ELSD 指纹图谱

3.1.1 共有峰 共标定12个共有峰,通过比对相应对照保留时间,确定1号峰为去芹糖桔梗皂苷E,2号峰为桔梗皂苷E,3号峰为桔梗皂苷D₃,4号峰为去芹糖桔梗皂苷D,5号峰为桔梗皂苷D₂,6号峰为桔梗皂苷D,指纹图谱见图1,对照图谱见图2。

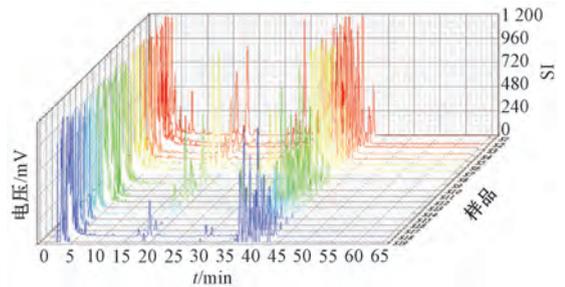


图1 19批桔梗HPLC-ELSD指纹图谱

3.2.3 GO、KEGG 通路富集分析 宣肺功效GO富集分析中生物过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)条目分别有164、19、50个,而利咽功效分别有158、15、37个,选取前10个作图,见图7。由此可知,上述2种功效发挥涉及不同生物过程,对多种细胞组分、分子功能都有影响,通路分别有66、62个,主要由器官癌症通路、炎症反应通路(如IL-17通路、TNF通路、HIF-1通路)、糖尿病中的AGE-RAGE通路、机体免疫调节及细胞增殖分化通路等构成,选取前30条作图,见图8。

3.2.4 分子对接 由表3可知,各质量标志物与核心靶蛋白均具有良好的结合活性(结合能<5.0 kcal/mol)^[12]。由图9可知,各质量标志物与氨基酸残基之间除了常规氢键作用、碳氢键连接外,桔梗皂苷D₃还与PTGS2受体的388

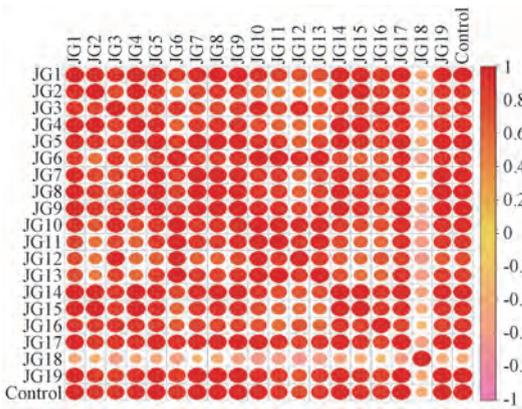


图3 相似度热图

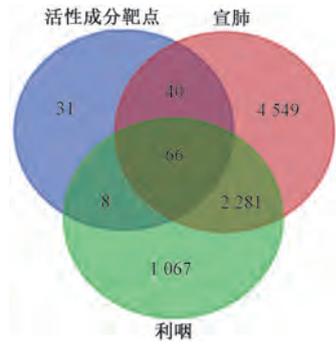


图4 桔梗活性成分-功效靶点交集韦恩图

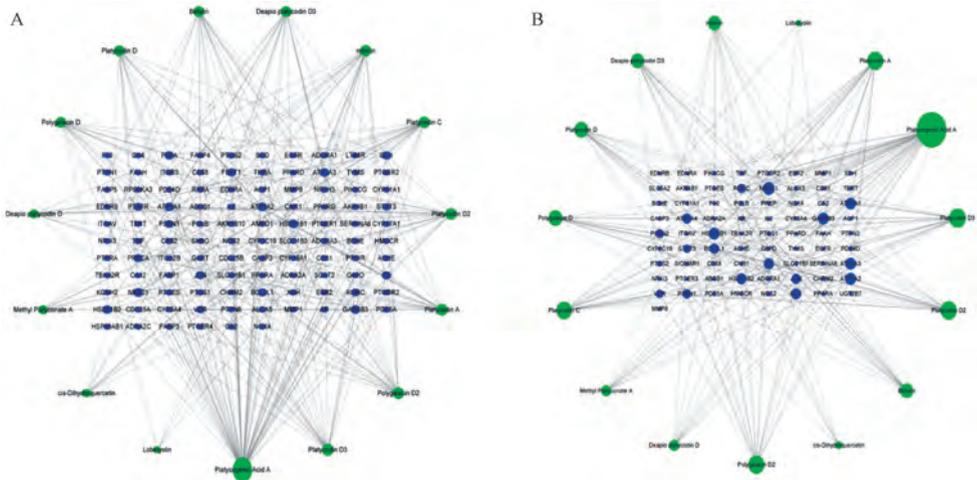


图5 桔梗宣肺 (A)、利咽 (B) 功效成分-靶点网络

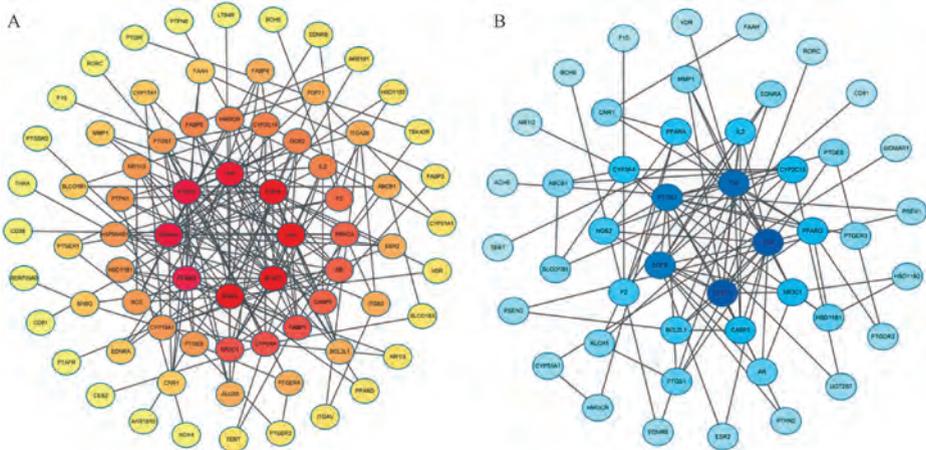


图6 桔梗成分与宣肺 (A)、利咽 (B) 功效蛋白互作网络图

号组氨酸产生 π - π 共轭作用。

3.3 细胞实验

3.3.1 抗肿瘤活性 由图 10 可知, 各质量标志物对 A549 细胞均有抑制作用, 并呈时间依赖性, 以桔梗皂苷 A 更明显; 与模型组比较, 桔梗皂苷 A、桔梗皂苷 D₂、远志皂苷 D₂ 在 24、48、72 h 均表现出明显抑制作用 ($P < 0.01$)。

3.3.2 IL-17、TNF 水平 由表 4 可知, 各质量标志物干预后 A549 细胞上清 IL-17、TNF 水平降低 ($P < 0.01$), 以桔梗皂苷 A 更明显。

3.3.3 细胞 mRNA 表达 以前期 PPI 网络筛选所得度值排名靠前的 6 种基因为目标基因, 进行 qPCR 验证, 结果见图 11。由此可知, 与模型组比较, 各质量标志物作用于 A549

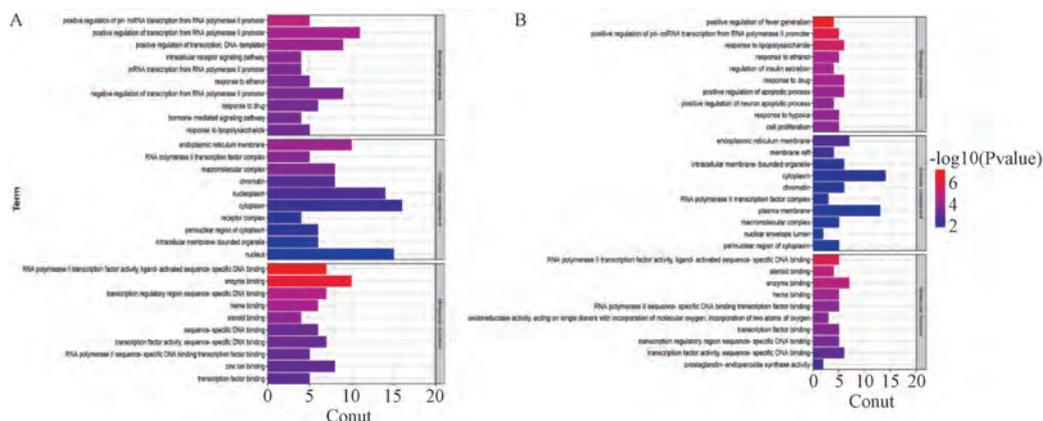


图7 宣肺 (A)、利咽 (B) GO 富集分析图

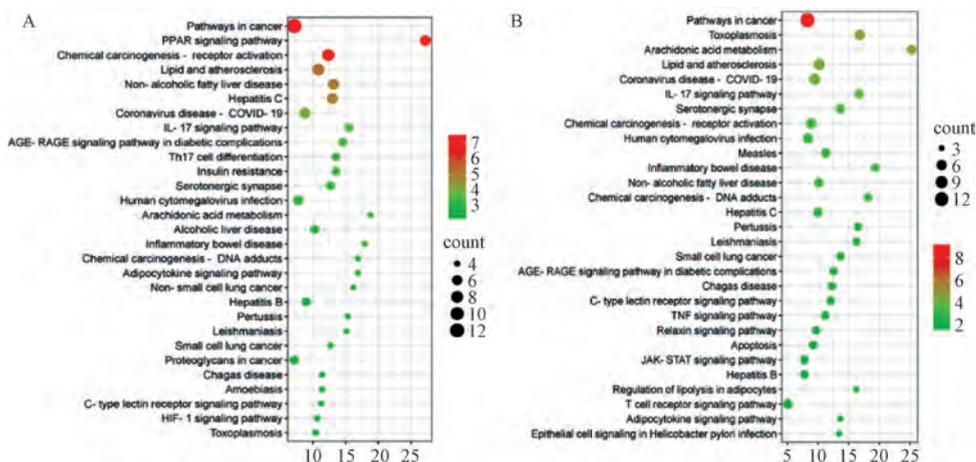


图8 宣肺 (A)、利咽 (B) KEGG 富集分析图

表3 桔梗质量标志物与潜在靶标结合能信息

靶标	PDBID	活性成分	结合能/(kcal·mol ⁻¹)	平均值/(kcal·mol ⁻¹)
EGFR	5F19	桔梗皂苷 A	-7.9	-7.78
		桔梗酸 A	-7.9	
		桔梗皂苷 D ₂	-8.6	
		桔梗皂苷 D ₃	-7.4	
		远志皂苷 D ₂	-7.1	
JUN	1JNM	桔梗皂苷 A	-10.0	-9.2
		桔梗酸 A	-8.4	
		桔梗皂苷 D ₂	-8.3	
		桔梗皂苷 D ₃	-9.6	
		远志皂苷 D ₂	-9.7	
PTGS2	5F19	桔梗皂苷 A	-8.8	-8.78
		桔梗酸 A	-7.3	
		桔梗皂苷 D ₂	-8.5	
		桔梗皂苷 D ₃	-10.6	
		远志皂苷 D ₂	-8.7	
RXRA	1BY4	桔梗皂苷 A	-10.0	-10.96
		桔梗酸 A	-8.2	
		桔梗皂苷 D ₂	-11.2	
		桔梗皂苷 D ₃	-12.9	
		远志皂苷 D ₂	-12.5	
STAT3	6TLC	桔梗皂苷 A	-7.6	-7.74
		桔梗酸 A	-6.8	
		桔梗皂苷 D ₂	-8.0	
		桔梗皂苷 D ₃	-8.1	
		远志皂苷 D ₂	-8.2	
TNF	1TNR	桔梗皂苷 A	-8.5	-7.86
		桔梗酸 A	-7.6	
		桔梗皂苷 D ₂	-7.5	
		桔梗皂苷 D ₃	-7.9	
		远志皂苷 D ₂	-7.8	

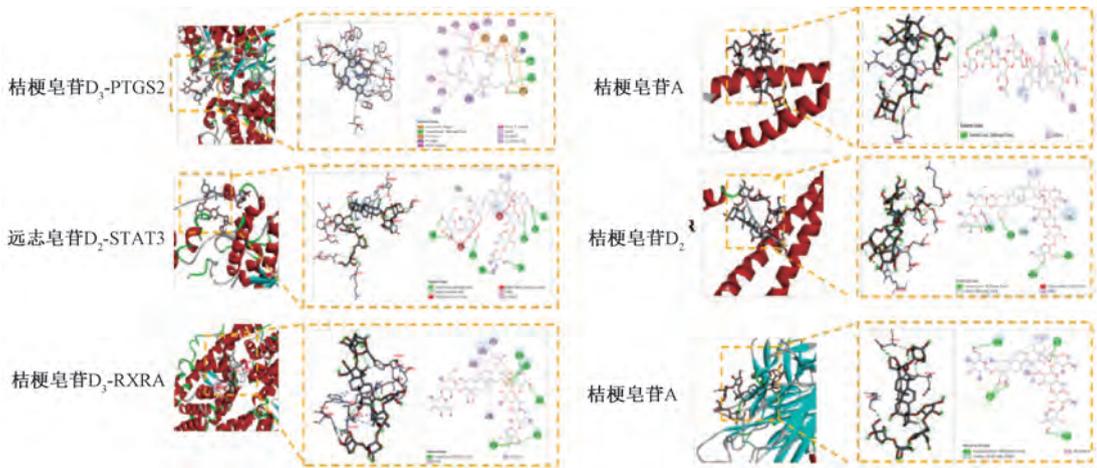
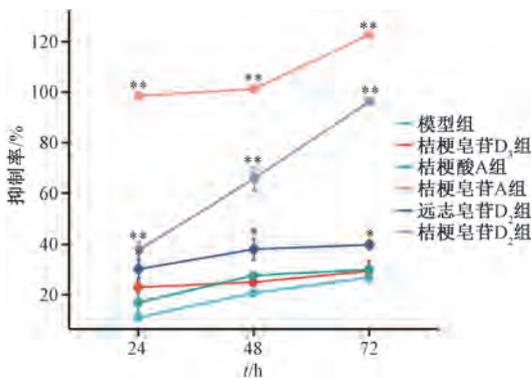


图9 质量标志物与核心靶点分子对接



注：与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

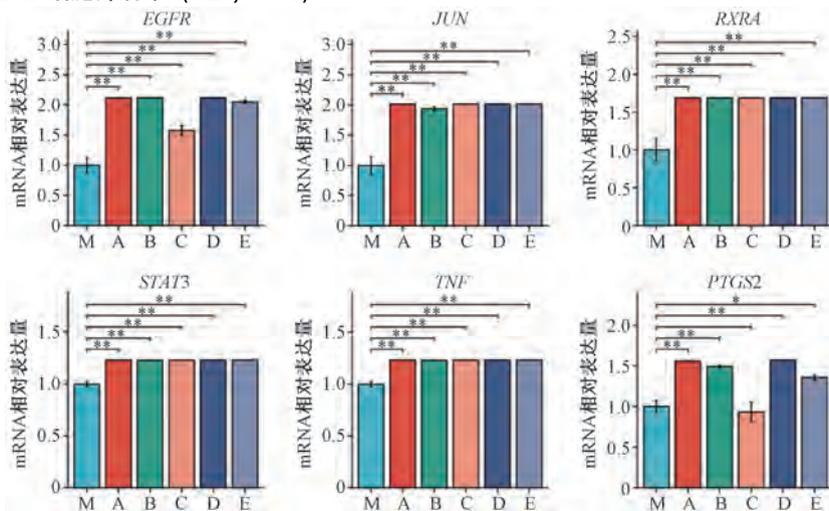
图10 各组A549细胞抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

表4 各组TNF、IL-17水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	IL-17/(pg·mL ⁻¹)	TNF/(pg·mL ⁻¹)
模型组	368.571±14.286	16.571±2.571
桔梗皂苷D ₃ 组	154.286±14.286**	11.167±0.833**
桔梗酸A组	275.714±21.429**	11.893±1.393**
桔梗皂苷A组	90.000±7.143**	4.481±0.448**
远志皂苷D ₂ 组	297.143±14.286**	9.905±0.762**
桔梗皂苷D ₂ 组	147.857±7.857**	6.68±0.963**

注：与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

细胞后，除桔梗皂苷A对PTGS2基因转录无显著差异 ($P > 0.05$) 外，其余各组细胞EGFR、JUN、RXRA、STAT3、TNF、PTGS2 mRNA表达升高 ($P < 0.01$)。



注：M为模型组，A~E分别为桔梗皂苷D₃组、桔梗酸A组、桔梗皂苷A组、远志皂苷D₂组、桔梗皂苷D₂组。与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

图11 质量标志物对A549细胞EGFR、JUN、RXRA、STAT3、TNF、PTGS2 mRNA表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论与结论

本实验建立桔梗 HPLC-ELSD 指纹图谱，发现 12 个共有峰，并指出其中 6 个，可为后续网络药理学研究提供支撑，也能为该药材质量评价体系建立提供参考。

网络药理学结果表明，核心靶点参与机体炎症与组织

分化过程^[13]，如花生四烯酸经 PTGS2 途径，代谢物引起机体发热、水肿^[14]，其部分靶点通过参与体内细胞增殖与分化过程^[15]，引导干细胞转化提高组织损伤修复^[16]，并在肺组织中通过抑制 EGFR 的磷酸化过程，阻滞肺组织纤维化^[17]；STAT3 调节神经递质受体、离子通道蛋白表达^[18]，

增加机体疼痛阈值^[19]；人体上呼吸道平滑肌细胞中的TAS2R受体激活后能促使支气扩张，抑制平滑肌细胞增殖以降低气道炎症^[20]，并增加呼吸道上皮纤毛的摆动频率，促进机体排除痰液^[21]。另外，PPAR通路在机体抗炎与免疫反应中发挥着重要作用，当肺泡上皮组织中PPAR表达被炎症因子激活后^[22]不仅能减轻炎症困扰，还可抑制MUC5AC基因转录；气道分泌大量黏液^[23]后，体内缺氧诱导因子1A（HIF-1A）表达会造成机体炎症加剧^[24]；花生四烯酸代谢通路负责合成多种炎症介质，其原型成分与代谢产物均会使机体遭受过度免疫反应损害。

细胞实验结果表明，质量标志物能干预炎症因子的表达，延缓炎症发展，而且对NSCLC细胞系A549细胞增殖具有显著抑制作用，表明质量标志物在抗炎、抑制肿瘤细胞增殖方面可发挥较强活性，通过调节相关通路与靶点mRNA表达来达到宣肺、利咽功效。

综上所述，本实验从“可测性”角度出发，建立桔梗HPLC-ELSD指纹图谱，表征成分信息，并基于“有效性”原则结合网络药理学，将传统功效与现代疾病相对应，进行细胞实验验证。结果显示，桔梗皂苷D₃、桔梗皂苷D₂、桔梗皂苷A、远志皂苷D₂、桔梗酸A与相关靶点及其通路之间的关系最密切，而且均具有良好的药理活性，初步确定为桔梗发挥宣肺、利咽的质量标志物，可为后续相关研究奠定了基础，也为合理建立其他中药质量评价标准提供参考。

参考文献：

[1] 孙萍, 徐慧, 黄艳红, 等. 桔梗化学成分的提取方法和药理作用概述[J]. 中国酿造, 2022, 41(9): 18-23.

[2] 崔钰伟, 臧凝子, 战丽彬, 等. 从苦味觉受体在呼吸道疾病中的研究进展分析肺系疾病苦味药物应用的物质基础[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2023, 25(6): 2105-2110.

[3] 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.

[4] 蔡楠, 曹宁宇, 赵利斌, 等. 基于“五原则”的血必净注射液质量标志物的预测分析[J]. 天津中医药, 2021, 38(8): 1062-1070.

[5] 谭姣章, 夏建成, 周红玲, 等. 熄风活络胶囊HPLC特征图谱建立及11个成分含量测定[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(6): 938-945.

[6] 王慧, 梁燕青, 于兴泰, 等. 基于指纹图谱和网络药理学的江枳壳质量标志物预测分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(13): 198-208.

[7] Hopkins A L. Network pharmacology[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10): 1110-1111.

[8] 解静, 高杉, 李琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. 中草药, 2019, 50(10): 2257-2265.

[9] 何金波. 宣肺通腑法治疗哮喘—慢阻肺重叠综合征的临床研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.

[10] 李彦, 孙洪胜, 李玥, 等. 中药治疗哮喘-慢阻肺重叠的Meta分析[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2022, 24(10): 3913-3925.

[11] 宋嘉懿. 肺肺炎丸治疗慢性阻塞性肺疾病的网络药理学研究及临床观察[D]. 天津: 天津中医药大学, 2021.

[12] 曾凡, 陈柏屹, 王康, 等. 基于网络药理学探究加味独活寄生合剂对膝关节炎作用机制及实验验证[J]. 中国药理学通报, 2023, 39(2): 340-347.

[13] 尤雪瑶, 谭影影, 王伟, 等. 基于网络药理学和分子对接的柴银颗粒治疗流感作用机制研究[J]. 中国药师, 2022, 25(12): 2123-2130.

[14] Sheldrick E L, Derecka K, Marshall E, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptors and the control of levels of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 by arachidonic acid in the bovine uterus[J]. *Biochem J*, 2007, 406(1): 175-183.

[15] 陈聪, 周香辉, 张兵, 等. 基于网络药理学及计算机辅助药物设计研究护肝宁片治疗非酒精性脂肪性肝病的作用机制[J]. 药学学报, 2023, 58(3): 695-710.

[16] 袁美玲, 张云, 汪光云, 等. 通窍活血汤含药脑脊液调控ASK1/MKK4/JNK信号通路对OGD/R损伤HT22细胞的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5274-5283.

[17] Shi K, Jiang J, Ma T, et al. Dexamethasone attenuates bleomycin-induced lung fibrosis in mice through TGF- β , Smad3 and JAK-STAT pathway[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(9): 2645-2650.

[18] 刘高丽, 刘静, 王江栓, 等. 草乌甲素通过JAK2/STAT3通路抑制Nav1.6表达减轻奥沙利铂诱发的神经病理性疼痛[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(9): 1628-1635.

[19] Ding H H, Zhang S B, Lv Y Y, et al. TNF- α /STAT3 pathway epigenetically upregulates Nav1.6 expression in DRG and contributes to neuropathic pain induced by L5-VRT[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 29.

[20] Conaway S, Nayak A P, Deshpande D A. Therapeutic potential and challenges of bitter taste receptors on lung cells-ScienceDirect[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2020, 51: 43-49.

[21] Shah A S, Ben-Shahar Y, Moninger T O, et al. Motile cilia of human airway epithelia are chemosensory[J]. *Science*, 2009, 325(5944): 1131-1134.

[22] Stark J M, Coquet J M, Tibbitt C A. The role of PPAR-gamma in allergic disease[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2021, 21(11): 45.

[23] Lakshmi S P, Reddy A T, Banno A, et al. Airway epithelial cell peroxisome proliferator-activated receptor gamma regulates inflammation and mucin expression in allergic airway disease[J]. *J Immunol*, 2018, 201(6): 1775-1783.

[24] Suresh M V, Balijepalli S, Zhang B, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α promotes inflammation and injury following aspiration-induced lung injury in mice[J]. *Shock*, 2019, 52(6): 612-621.