

- [10] 朱文学, 赵雅婷, 吴建章, 等. 根茎类中药材干燥技术与装备研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(1): 153-171.
- [11] 赖文, 杨利民, 韩佳宏, 等. 不同干燥方法对林下参品质的影响[J]. 中国野生植物资源, 2023, 42(2): 62-68.
- [12] 朱新焰, 丛琨, 石亚娜, 等. 不同初加工方法对黄精品质的影响研究[J]. 中国药房, 2019, 30(18): 2537-2541.
- [13] 刘怡菲. 不同干燥方式对黄精生理生化指标的影响[J]. 吉林林业科技, 2019, 48(4): 11-14.
- [14] Falade K O, Abbo E S. Air-drying and rehydration characteristics of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits[J]. *J Food Eng*, 2007, 79(2): 724-730.
- [15] 李玲, 杨玉玲, 黄玉玲, 等. 2 种类型滇黄精生药学指标和化学成分动态分析[J]. 中成药, 2021, 43(6): 1548-1554.
- [16] 李玲, 黄玉玲, 杨玉玲, 等. 滇黄精不同部位理化指标与化学成分差异性研究[J]. 农学学报, 2021, 11(8): 70-75.
- [17] 李芷萍, 李占明, 吴雨凌, 等. 微波一步固化脱水多花黄精切片的植物化学成分、水分状态及形态研究[J]. 中国果菜, 2021, 41(6): 80-87.
- [18] Li R S, Tao A E, Yang R M, et al. Structural characterization, hypoglycemic effects and antidiabetic mechanism of a novel polysaccharides from *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110687.
- [19] 衡银雪, 郑旭煦, 殷钟意, 等. 不同干燥方法对黄精干燥特性和品质的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(7): 158-161; 167.
- [20] 刘勇, 徐娜, 陈骏飞, 等. 不同干燥方法对三七药材性状与内在结构及其品质的影响[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5714-5723.
- [21] Fan B L, Wei G L, Gan X F, et al. Study on the varied content of *Polygonatum cyrtonema* polysaccharides in the processing of steaming and shining for nine times based on HPLC-MS/MS and chemometrics[J]. *Microchemical J*, 2020, 159: 105352.
- [22] Fan L P, Li J W, Deng K Q, et al. Effects of drying methods on the antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*[J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 87(2): 1849-1854.
- [23] 吴伟菁, 陈家凤, 赵海军, 等. 加工方式对黄精多糖的结构和活性影响的研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(17): 482-493.
- [24] 范天慈, 窦志英, 李捷, 等. 不同干燥方式对中药成分影响的研究进展[J]. 中国现代中药, 2021, 23(11): 2017-2024.

基于 UPLC-Q-Orbitrap/MS/MS 的搜风愈喘方成分分析及网络药理学研究

郑海涛^{1,2}, 丁 樱^{1,2}, 闫永彬^{1,2*}, 宋纯东^{1,2}, 张 霞^{1,2}, 陈文霞^{1,2}, 张宇婧², 任献青^{1,2*}
(1. 河南中医药大学第一附属医院儿科医院, 河南 郑州 450003; 2. 河南中医药大学儿科医学院, 河南 郑州 450003)

摘要: 目的 分析搜风愈喘方化学成分, 并对其治疗哮喘的作用机制进行网络药理学研究。方法 采用 UPLC-Q-Orbitrap/MS/MS 技术对搜风愈喘方干浸膏及其含药血清进行成分鉴定, Xcalibur 软件进行数据采集和分析, 利用数据库信息对质谱峰进行指认, 并结合文献确定化合物的药理活性。结果 从干浸膏和含药血清中共鉴定出 25 个共有成分。网络药理学发现, 主要成分除了可靶向作用于哮喘外, 还可作用于消化系统、内分泌系统疾病; 分子对接结果显示有效成分与哮喘靶点之间的结合能力良好。结论 该方法可鉴定搜风愈喘方主要有效成分和入血成分, 搜风愈喘方通过“多成分-多靶点-多途径”发挥治疗哮喘的作用, 可为后续其作用机制研究提供参考。

关键词: 搜风愈喘方; 干浸膏; 含药血清; 成分分析; 药理作用; 网络药理学

中图分类号: R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)12-4193-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.049

收稿日期: 2025-03-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81973903, 82174438); 河南省自然科学基金项目 (232300420277); 河南省中医药科学专项课题 (重点课题) (20-21ZY1002); 河南省中医药国家中医临床研究基地科研专项 (2019JDZX2031); 河南省中医学“双一流”创建科学研究中心-青年骨干科技创新培育项目 (HSRP-DFCTCM-2023-7-14)

作者简介: 郑海涛 (1988—), 男, 博士, 主治医师, 从事中医药防治小儿肺系和脾系疾病的研究。Tel: (0371) 66242894, E-mail: zhenghaitaozz@163.com

*通信作者: 闫永彬 (1969—), 男, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 从事中医药防治小儿肺系和脾系疾病的研究。Tel: (0371) 66212322, E-mail: yanyongbin827@sina.com

任献青 (1973—), 男, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事中医防治小儿肺系和免疫相关疾病的研究。E-mail: renxq723@163.com

搜风愈喘方是河南中医药大学第一附属医院儿科五区治疗小儿哮喘的协定处方，是第四批全国优秀中医临床人才、第四批全国名老中医药专家学术经验继承人闫永彬教授根据“伏风暗瘀宿痰”的哮喘中医病机新说，创立的治疗小儿哮喘经验方，由白僵蚕、蝉蜕、地龙、橘络、红花、党参、山楂、莱菔子、炙麻黄、杏仁、炙枇杷叶、礞石、甘草组成。方中僵蚕、蝉蜕、地龙搜风通络，以搜深伏肺络之风邪；橘络犹如肺之络脉，实有同气相求之妙；党参补气健脾，助血运行；红花活血消瘀；山楂、莱菔子化食消滞；礞石、炙麻黄、苦杏仁、炙枇杷叶化痰降气以平喘咳。本方病证相符、机圆法活，共奏搜风消瘀祛痰、降逆止咳平喘之功^[1]。该方剂验效于临床十余年，前期临床研究表明，该方可提高临床疗效，减轻哮喘患儿急性期咳嗽、喘息、胸闷等症状，缩短症状缓解时间和体征消失时间，并改善肺功能^[2-3]。大量研究表明，搜风愈喘方可调控TGF-β1通路，降低细胞因子IL-13、IL-25及TGF-β1、VEGF表达，抑制哮喘气道重塑，发挥治疗哮喘的作用^[4-6]。本研究基于“制剂质量标志物”的概念^[7-8]，采用LC/MS法分析搜风愈喘方干浸膏的主要活性成分及入血成分，以期揭示其药效物质基础，并运用网络药理学阐释其多成分、多靶点、多通路、多效应的科学内涵，以期为其基础作用机制的深入研究提供参考。

1 材料

1.1 药物 搜风愈喘方组方为白僵蚕10 g、蝉蜕6 g、地龙10 g、橘络6 g、红花6 g、党参10 g、山楂10 g、莱菔子10 g、炙麻黄6 g、杏仁10 g、炙枇杷叶10 g、礞石10 g、甘草6 g，以上饮片均购于河南中医药大学第一附属医院门诊中药房，经河南中医药大学中药资源与鉴定学科代丽萍副教授鉴定为正品。按照处方比例称取上述饮片，加水，料液比1:10，热回流提取2次，每次1 h，合并提取液(约2 200 mL)，过滤，浓缩，烘干得干浸膏(20.96 g，1 g相当于药物5.25 g)，4℃保存；临用时稀释成所需浓度。

1.2 动物及含药血清制备 SPF级SD大鼠10只，体质量(200±20)g，购自杭州医学院[实验动物生产许可证号SCXK(浙)2019-0002，实验动物质量合格证号20221116Aazz0100018699，实验动物使用许可证号SCXK(浙)2022-0041]，自由进食饮水，环境温度18~24℃，相对湿度50%~70%，保持12 h/12 h昼夜节律。适应性喂养3 d后，首次灌胃给药剂量为每天4 mL/只，后6 d为每天2 mL/200 g(即5 g/kg)。最后一次灌胃前禁食12 h，灌胃后1 h，将大鼠麻醉后心尖取血，每只取5 mL以上血液(不加肝素钠)，封装在不同离心管内，静置1 h后4℃、3 000 r/min离心10 min，取上层血清，56℃水浴30 min，灭活补体，0.22 μm滤器过滤除菌，-80℃保存备用。

1.3 试剂 乙腈、甲醇、甲酸(色谱纯，货号CDA-S-620125、CDA-S-620095、CDA-S-290038，上海安普生物科技有限公司)；其他试剂均为分析纯。

1.4 仪器 Ultimate 3000 超高效液相色谱仪(配置PDA

检测器)、Q Exactive HF-X质谱仪、Xcalibur 2.1工作站，购自美国Thermo Fisher Scientific公司；Milli-Q超纯水制备仪(美国Millipore公司)；LGJ-10B冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂有限公司)。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 搜风愈喘方干浸膏溶液 取“1.1”项下干浸膏100 mg，加入100 μL预冷水，涡旋60 s，加入400 μL预冷的甲醇-乙腈(1:1)，涡旋60 s，低温超声处理2次，每次30 min，-20℃放置1 h沉淀蛋白，4℃、12 000 r/min离心20 min，取上清液，真空干燥，加入200 μL 30%乙腈复溶，涡旋，4℃、14 000 ×g离心15 min，取上清液，即得。

2.1.2 搜风愈喘方含药血清 取“1.2”项下血清，4℃缓慢解冻后，取0.5~1 mL，加入等体积甲醇-乙腈(1:1)，涡旋60 s，低温超声处理2次，每次30 min，-20℃放置1 h沉淀蛋白，4℃、12 000 r/min离心20 min，取上清液，冷冻干燥，加入200 μL 30%乙腈复溶，涡旋，4℃、14 000 ×g离心15 min，取上清液，即得。

2.1.3 色谱条件 Waters HSS T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)；流动相水(含0.1%甲酸)(A)-乙腈(含0.1%甲酸)(B)，梯度洗脱(0~1.0 min, 0% B；1.0~9.0 min, 0%~95% B；9~13 min, 95% B；13~13.1 min, 95%~0% B；13.1~17.0 min, 0% B)；体积流量0.3 mL/min；柱温40℃；进样量2 μL。为避免仪器检测信号波动而造成的影响，采用随机顺序进行样本的连续分析。样本队列中插入QC样品，用于监测和评价系统的稳定性及实验数据的可靠性。

2.1.4 质谱条件 电喷雾离子源(ESI)；鞘气压力40 psi(1 psi=6.895 kPa)；辅助气压力10 psi；离子喷雾电压3 000、-2 800 V，温度350℃；离子传输管温度320℃；Full-scan MS2模式；正、负离子扫描；一级扫描范围70~1 050 Da，二级200~2 000 Da；一级分辨率70 000，二级17 500。原始数据采用Progenesis QI软件进行基线过滤、峰识别、积分、保留时间校正、峰对齐，最终得到一个保留时间、质荷比和峰强度的数据矩阵，利用江苏三泰生物科技有限公司自建中草药二级质谱数据库，根据相应裂解规律匹配法对含有MS/MS数据的峰进行鉴定。

2.1.5 数据处理和成分鉴定 数据预处理：1) 总峰归一化，删除QC样本相对标准偏差≥30%的变量；2) 将数据进行log10转化，得到最终用于后续分析的数据矩阵。根据化合物准确的相对分子质量及二级碎片离子信息，并参考文献[9-38]鉴定搜风愈喘方的主要化学成分及含药血清成分，其药理作用通过检索中医药百科全书(ETCM, <http://www.temip.cn/ETCM/index.php/Home/Index/>)、有机小分子生物活性数据(PumChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)、化学产品搜索引擎(ChemBook, <https://www.chemicalbook.com/indexCN.aspx>)进行确定。

2.1.6 网络药理学研究 将搜风愈喘方干浸膏和含药血清共有成分导入 BATMAN-TCM (a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine)^[9] 平台, 进行靶标基因预测及分析。通过计算“共有成分-靶标”与“已知药物-靶标”之间的相似性得分 (score) 预测靶标基因, 以 $score \geq 20$ 为标准, 并对靶标基因进行疾病

富集分析, 最后构建“成分-靶标-通路-疾病”网络图。

3 结果

3.1 质量控制

3.1.1 样本基峰色谱 (BPC) 图 本实验分别对搜风愈喘方干浸膏、含药血清、空白血清进行数据采集, 并对其正负离子 BPC 图进行比对, 见图 1~2。

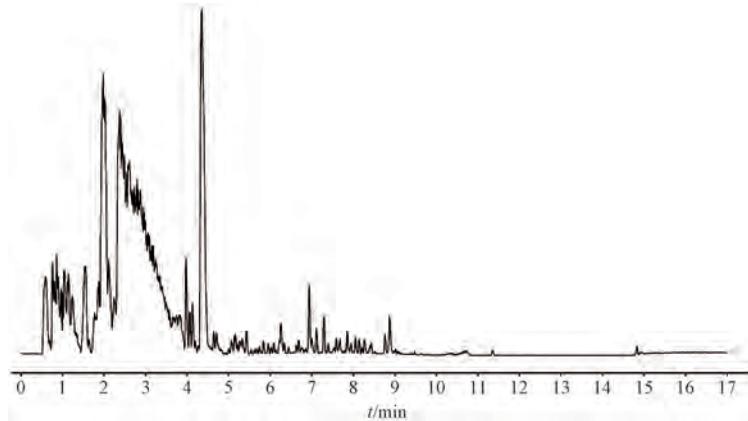


图 1 搜风愈喘方干浸膏、含药血清及空白血清正离子模式下 BPC 图

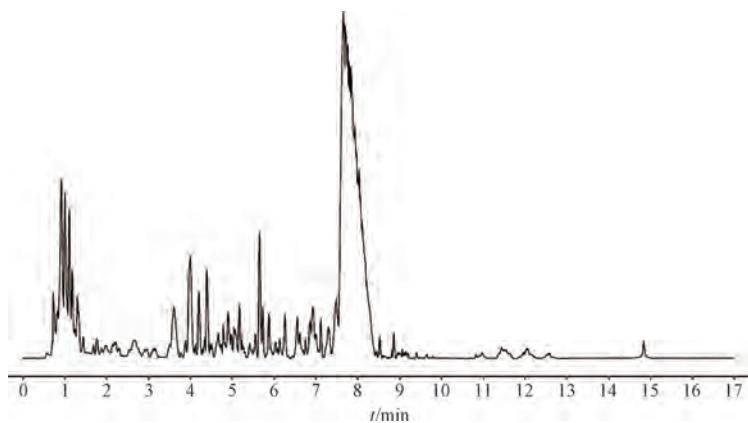
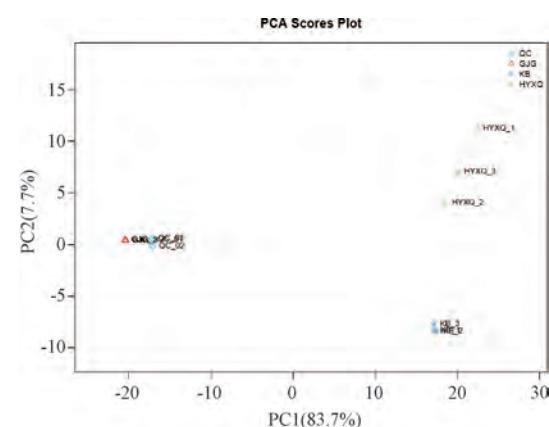


图 2 搜风愈喘方干浸膏、含药血清及空白血清负离子模式下 BPC 图

3.1.2 主成分分析 通过中药非靶代谢组学对搜风愈喘方干浸膏、含药血清和空白血清进行鉴定, 在正、负离子模式下共鉴定注释得到 25 个化合物。PCA 结果显示, 第一主成分解释率为 83.7%, 第二主成分解释率为 7.7%。不同组别样本这两个维度上有明显的分离, QC 样本明显聚集在一起, 表明实验体系稳定结果可靠, 见图 3。以上结果说明中药组、含药血清和空白血清组的代谢物轮廓有明显差异。

3.1.3 聚类热图 为了进一步了解搜风愈喘方干浸膏、含药血清和空白血清代谢物的变化规律, 对代谢物进行归一化处理并绘制聚类热图, 见图 4。红色部分表示代谢物表达量较高, 绿色表示代谢物表达量低, 颜色越深表示代谢物表达量越高或者越低。由此可知, 入血成分在血液中表达量比中药中更低, 说明其利用率低或者经体内代谢转化为其他类型的成分。

3.1.4 代谢物分类 按照文献 [10] 中 ClassyFire 分类方法对代谢物进行分类, 并根据代谢物数目绘制分类饼状图,

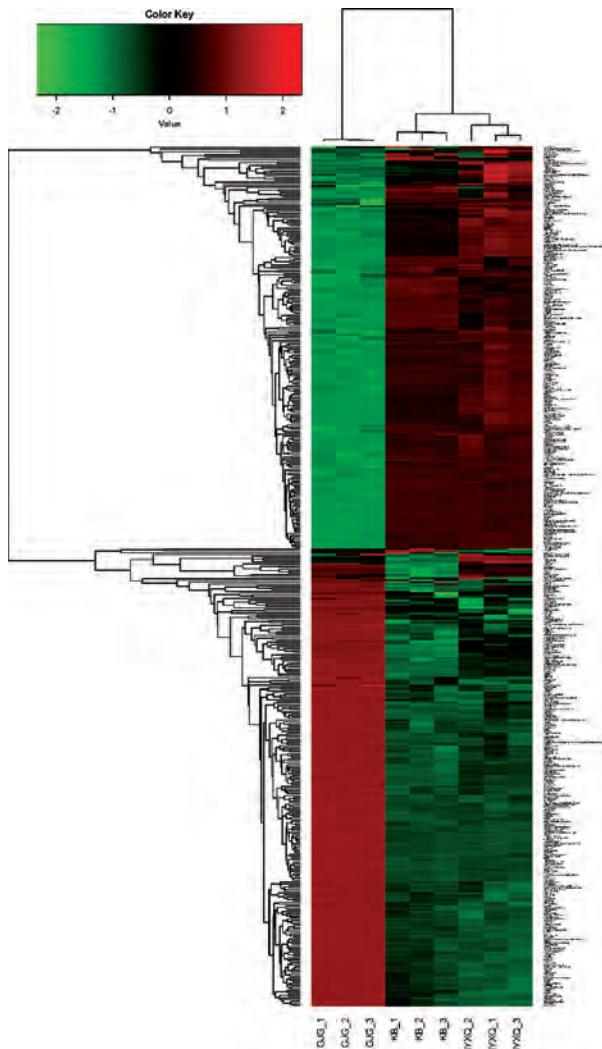


注: GJG 为干浸膏, HYXQ 为含药血清, KB 为空白血清。

图 3 主成分分析得分图

见图 5。

3.1.5 搜风愈喘方干浸膏、含药血清、空白血清化学成分



注: GJG 为干浸膏, HYXQ 为含药血清, KB 为空白血清。

图 4 聚类热图

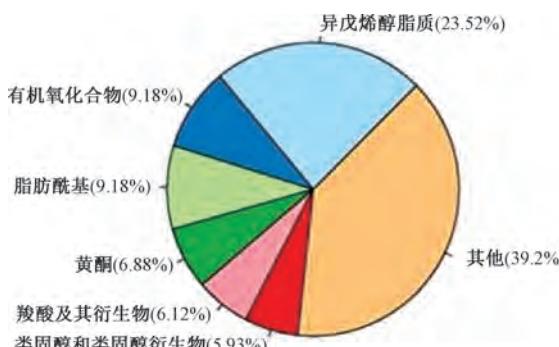


图 5 代谢物分类

Venn图分析 初步从搜风愈喘方干浸膏中共检测到864种成分,含药血清中共检测到589种成分,空白血清中共检测到558种成分;除去空白血清中的成分,搜风愈喘方干浸膏和含药血清共有25种入血成分(除phyllanthurinolactone外),见图6。

3.1.6 含药血清成分相关性分析 对25种入血成分进行相关性分析,例如柚皮素(抗过敏、抗增殖、抗动脉粥样硬化、抗病毒、抗炎、抗氧化^[11])与柚皮素-7-O-葡萄糖醛

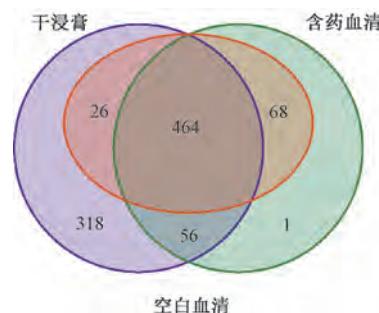
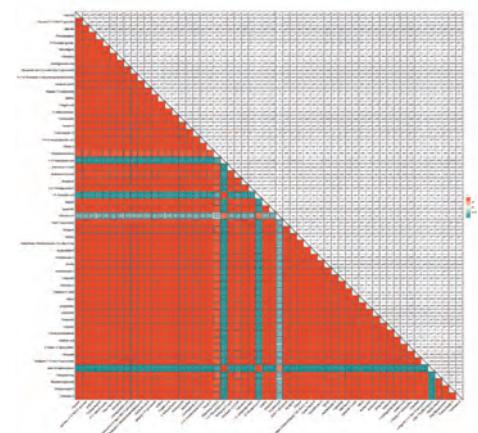


图 6 搜风愈喘方干浸膏、含药血清及空白血清化学成分交集 Venn 图

酸苷(抗过敏^[12])、槲皮素(抗过敏、抗氧化、抗炎、免疫调节、抗菌、抗肿瘤^[13])、山柰酚(抗氧化、抗凋亡、抗炎、抗菌、抗癌、心脏保护、神经保护、抗糖尿病、抗骨质疏松、抗焦虑、镇痛、抗过敏^[14,29])等在药理作用方面具有一定的相似性或相同性,说明它们之间具有明显的正相关性,见图7。



注: 方块表示代谢物之间的相关性,颜色越深表示相关性越大,颜色越浅表示相关性越小;红色表示正相关,蓝色表示负相关。

图 7 含药血清成分相关性分析

3.2 搜风愈喘方入血成分鉴定 从含药血清中共鉴定得到25个共有活性成分,见表1,总离子流图见图8。

3.3 搜风愈喘方各成分药理作用 搜风愈喘方的功效是搜风消瘀祛痰、降逆止咳平喘,与之相对应的药理作用就是选择成分的依据。将各成分的药理作用与搜风愈喘方的药理作用进行比对,并结合2020年版《中国药典》含量测定项下确定的指标成分,初步确定搜风愈喘方主要成分,见表2。

3.4 网络药理学研究

3.4.1 “成分-靶点-通路-疾病”网络构建 将搜风愈喘方中的25个主要化合物导入BATMAN-TCM平台及Swiss Target Prediction、OMIM、TTD数据库,最终得到相关靶点249个。使用Cytoscape软件分析成分与靶点蛋白节点关系、靶点蛋白与通路节点以及疾病之间的关系,构建“成分-靶点-通路-疾病”网络,见图9。由此可知,搜风愈喘方的主要成分可靶向作用于哮喘、消化系统、内分泌系统等疾病,

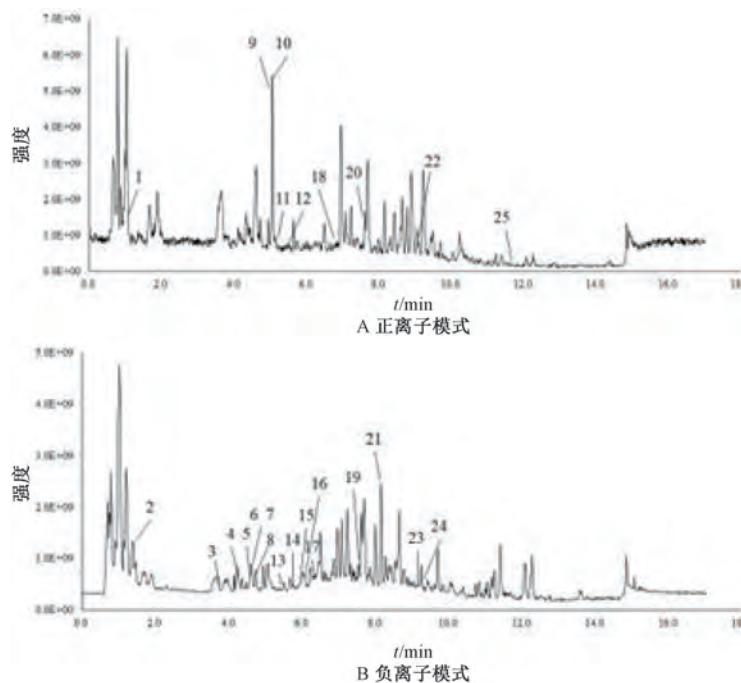


图8 搜风愈喘方含药血清总离子流图

表1 搜风愈喘方含药血清化学成分鉴定结果

序号	t_R /min	分子式	理论值	实测值	误差(10^{-6})	加合形式	化合物
1	1.10	$C_{10}H_{15}N_3O_4$	283.1402	283.1396	-1.936	$M+H-2H_2O$, $M+ACN+H$	5-甲基-2'-脱氧胞苷
2	1.35	$C_8H_{15}NO_3$	218.1035	218.1032	-1.207	$M+FA-H$	苦马豆碱
3	3.77	$C_{21}H_{20}O_{11}$	447.0933	447.0937	0.979	$M-H$	柚皮素-7-O-葡萄糖醛酸苷
4	4.34	$C_{15}H_{20}O_9$	325.0929	325.0927	-0.597	$M-H_2O-H$	黄钟花酮
5	4.58	$C_{21}H_{22}O_{10}$	433.1140	433.1138	-0.504	$M-H$	南酸枣苷
6	4.60	$C_{24}H_{38}O_{12}$	517.2290	517.2288	-0.421	$M-H$, $M+Cl$, $M+FA-H$	7Z三磷豆苷 I
7	4.62	$C_{16}H_{26}O_9$	343.1398	343.1397	-0.312	$M-H_2O-H$	白花败酱醇苷
8	4.68	$C_{12}H_{18}O_3$	255.1238	255.1238	-0.162	$M+FA-H$	氧化叶烯酮 A
9	4.95	$C_{10}H_{14}O_2$	184.1332	184.1330	-1.009	$M+NH_4$	3-羟基紫苏醛
10	5.09	$C_{21}H_{22}O_{10}$	435.1286	435.1282	-0.794	$M+H$	半皮桉苷
11	5.13	$C_{15}H_{10}O_7$	303.0499	303.0494	-1.901	$M+H$	槲皮素
12	5.34	$C_{27}H_{28}O_{14}$	609.1814	609.1806	-1.413	$M+CH_3OH+H$	8-C-(2-鼠李糖基-6-脱氧己吡喃糖酰基)木犀草素
13	5.47	$C_8H_8O_4$	503.1195	503.1195	0.041	$3M-H$	2,4-二羟基-6-甲基苯甲酸
14	5.82	$C_{24}H_{20}O_9$	451.1035	451.1036	0.319	$M-H$	金鸡纳素 Ia
15	5.91	$C_{15}H_{12}O_6$	287.0561	287.0559	-0.634	$M-H$	香橙素
16	6.08	$C_{15}H_{12}O_5$	317.0667	317.0665	-0.494	$M+FA-H$	柚皮素
17	6.32	$C_{20}H_{26}O_4$	375.1814	375.1809	-1.195	$M+FA-H$	15-脱氧普鲁兰酸
18	6.82	$C_{15}H_{10}O_6$	287.0550	287.0544	-1.980	$M+H$	山柰酚
19	7.54	$C_{30}H_{48}O_7$	501.3222	501.3221	-0.128	$M-H_2O-H$	桔梗皂苷元
20	7.63	$C_{20}H_{18}O_4$	323.1278	323.1271	-2.021	$M+H$	光甘草素
21	8.11	$C_{20}H_{20}O_4$	369.1344	369.1340	-1.076	$M+FA-H$	(S)-2,3,9,10-四氢-5-羟基-8,8-二甲基-4H,8H-苯并[1,2-B:3,4-B']二吡喃-4-酮
22	9.16	$C_{29}H_{50}O_3$	429.3727	429.3722	-1.042	$M+H_2O$	D-A-生育酚酮
23	9.18	$C_{30}H_{46}O_5$	485.3272	485.3270	-0.427	$M-H$	梔子花乙酸
24	9.33	$C_{29}H_{44}O_6$	469.2959	469.2956	-0.663	$M-H_2O-H$	远志皂苷
25	11.61	$C_{27}H_{48}O_3$	443.3495	443.3513	4.125	$M+Na$	胆甾-3,5,6三醇

表2 搜风愈喘方的定性“制剂质量标志物”的基本信息及药理活性

序号	化合物名称	CAS	药理作用
1	5-甲基-2'-脱氧胞昔	838-07-3	表观遗传修饰, 调控生理功能
2	苦马豆碱	72741-87-8	抗肿瘤、免疫调节 ^[15]
3	柚皮素-7-O-葡萄糖醛酸昔	158196-34-0	抗过敏 ^[12]
4	黄钟花醒	84-79-7	抗肿瘤、促进伤口愈合、皮肤再生 ^[16, 17]
5	南酸枣昔	81202-36-0	广谱抗菌 ^[18]
6	7Z 三磷豆昔 I	1018898-17-3	改善肠道屏障功能 ^[19]
7	白花败酱醇昔	99933-30-9	抗炎、抗肿瘤、免疫调节 ^[20, 21]
8	氧化叶烯酮 A	363610-34-8	抑制巨噬细胞中 NO 的产生 ^[22]
9	3-羟基紫苏醒	1932348-11-2	抗氧化、抗炎、抗菌、抗肿瘤、调节免疫 ^[23]
10	半皮桉昔	71963-94-5	抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤 ^[24]
11	槲皮素	117-39-5	抗过敏、抗氧化、抗炎、免疫调节、抗菌和抗肿瘤 ^[13]
12	8-C-(2-鼠李糖基-6-脱氧己吡喃糖酰基)木犀草素	933463-03-7	抗肿瘤、诱导细胞凋亡、收缩细胞骨架、诱导上皮生物标志物、逆转上皮-间充质转化 ^[25]
13	2,4-二羟基-6-甲基苯甲酸	480-64-8	抗神经炎症、清除自由基、保护心肌细胞 ^[26]
14	金鸡纳素 Ia	85081-24-9	抗氧化、抗胆碱酯酶活性 ^[27]
15	香橙素	480-20-6	抗炎、抗肿瘤、免疫调节, 调控自噬、细胞凋亡、内质网应激 ^[28]
16	柚皮素	480-41-1	抗过敏、抗增殖、抗动脉粥样硬化、抗病毒、抗炎、抗氧化 ^[11]
17	15'-脱氧普鲁兰酸	95523-05-0	未知
18	山柰酚	482-39-3	抗氧化、抗凋亡、抗炎、抗菌、抗癌、心脏保护、神经保护、抗糖尿病、抗骨质疏松、抗焦虑、镇痛和抗过敏活性 ^[14, 29]
19	桔梗皂昔元	22327-82-8	保护神经、抗肿瘤、抗糖尿病、抗炎活性、免疫佐剂活性 ^[30, 31]
20	光甘草素	60008-03-9	雌激素样活性、调节血管损伤和动脉粥样硬化形成、抗骨质疏松 ^[32, 33]
21	(S)-2,3,9,10-四氢-5-羟基-8,8-二甲基-2-苯基-4H,8H-苯并[1,2-B:3,4-B']二吡喃-4-酮	104055-79-0	未知
22	D-A-生育酚醌	7559-4-8	抗氧化 ^[34]
23	梔子花乙酸	108864-53-5	保护神经 ^[35]
24	远志皂昔	1260-04-4	抗氧化、抗炎 ^[36]
25	胆甾-3,5,6 三醇	35089-25-9	抗肿瘤、保护神经 ^[37, 38]

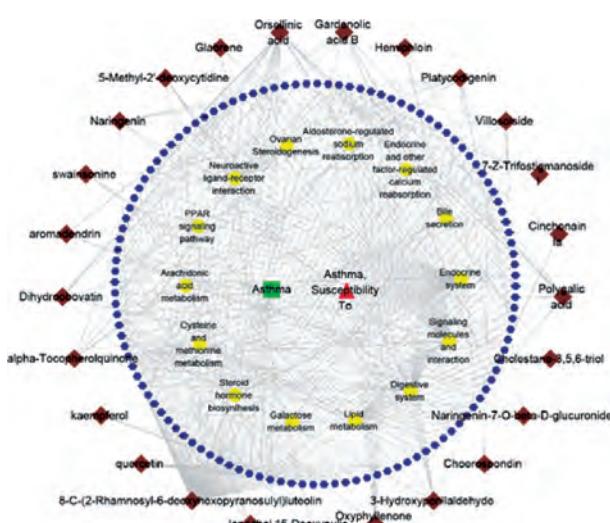


图9 搜风愈喘方“成分-靶点-通路-疾病”网络

在物质基础层面一定程度上解释了中药复方“异病同治”的科学内涵；涉及脂质代谢、半乳糖代谢、PPAR通路、信号分子和相互作用等多种代谢、信号传导通路。搜风愈喘方的主要成分存在多个化合物作用于同一个靶点，也存在

一个化合物与多个靶点发生作用的现象，说明了其多靶点、多效应的物质基础。

3.4.2 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 在 GeneCards、OMIM、TTD 数据库中检索得到哮喘相关靶点 8 167 个，去重后，与 25 种入血成分对应的 249 个靶点取交集，绘制 Venn 图，得到共有靶点 139 个，见图 10。通过 GO 功能富集分析，筛选出相关性最高的前 10 条反应过程，可知生物过程主要涉及脂多糖反应、外生素刺激反应、调节炎症反应、调节脂质代谢、脂肪酸代谢过程等；分子功能主要参与核类固醇受体活性、前列腺素受体活性、有机酸结合、配体激活转录因子活性、核受体活性、氧化还原酶活性、类固醇结合等；细胞组成主要涉及突触前膜、突触后膜、突触膜、质膜外侧等，表明搜风愈喘方可能通过参与多种生物调控过程治疗哮喘，见图 11。KEGG 通路富集分析，主要涉及神经活性配体-受体相互作用、IL-17 信号通路、鞘脂信号通路、脂肪细胞因子信号通路等，见图 12。

3.4.3 疾病富集分析 通过 OMIM、TTD 数据库进行疾病富集分析，涉及到的疾病包括哮喘（易感性）、脑损伤、动脉粥样硬化性心血管疾病、神经退行性疾病、痛经、高胆固醇血症、高胆红素血症等，见图 13。

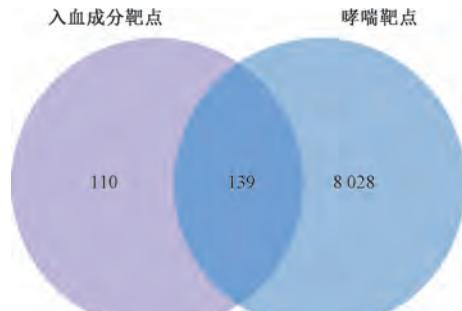


图 10 搜风愈喘方入血成分-哮喘交集靶点 Venn 图

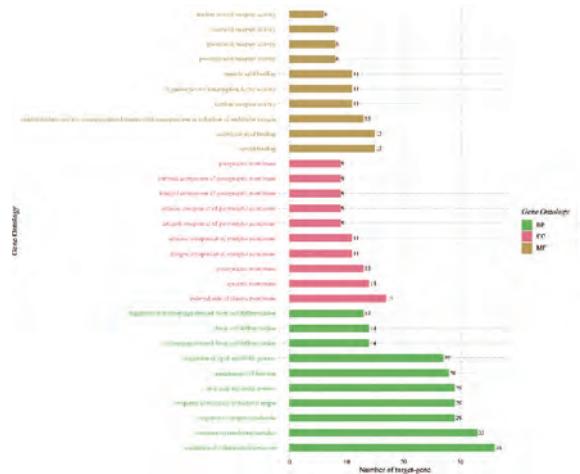
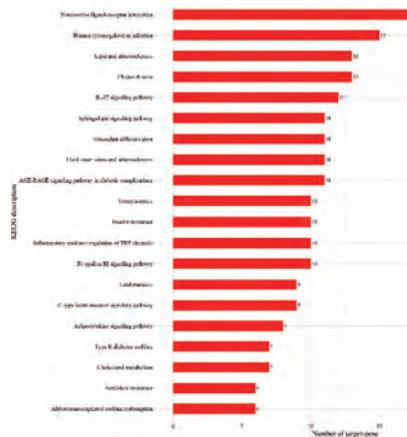


图 11 GO 功能富集分析



3.4.4 搜风愈喘方中核心成分与核心靶点蛋白分子对接验证 选取搜风愈喘方已检测到核心成分中的 5 个香橙素 (aromadendrin)、半皮桉昔 (hemiphloin)、山柰酚 (kaempferol)、柚皮素 (naringenin)、槲皮素 (quercetin) 与富集到哮喘核心靶点蛋白分子中的前 5 位 CCL24、IL13、ITGB3、PPARG、PTSG2 进行分子对接，见图 14。以结合能表示小分子与靶蛋白结合的优劣，FullFitness、Estimated ΔG 分值越低，对接效果越好，结果见表 3。由此可知，结合能均小于 -5.0 kcal/mol，在一定程度上验证了搜风愈喘方成分-靶点之间的结合活性。

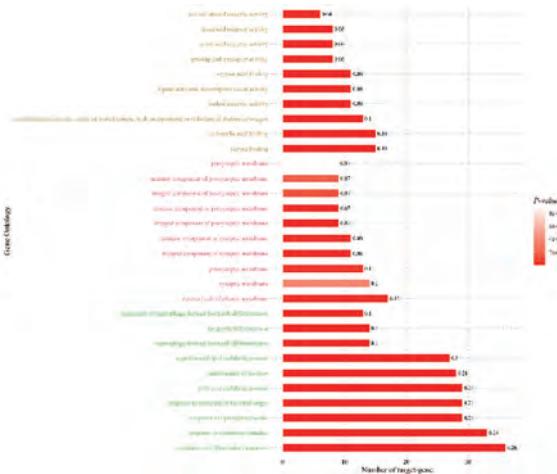


图 11 GO 功能富集分析

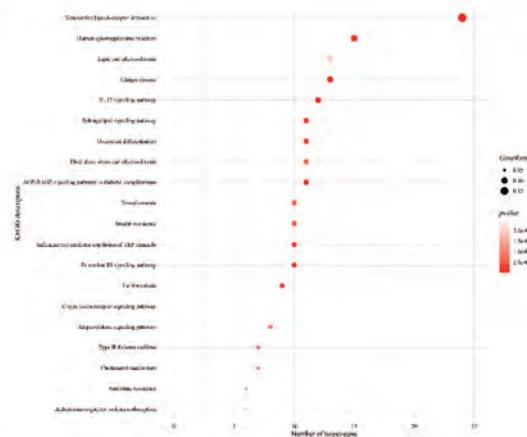


图 12 KEGG 富集分析

4 讨论

中药复方是在中医理论指导下中医整体观念与辨证论治思想、“君臣佐使”配伍原则统一融合的具体体现，具有多成分、多靶点、多途径、多层次、多系统干预疾病的作用特点，归根结底在于其复杂的物质基础，这也突显了中药复方研究的困难程度。通过对中药复方物质基础中有效成分的系统研究，从而明确中药复方的化学成分及其理化性质，是深入研究中药复方物质基础、作用机制、配伍规律、药代动力学、药效动力学的基础^[39]。本实验通过 UPLC-Q-Orbitrap/MS/MS 对中药复方样品进行快速高效的处理，得到有关化合物的丰富信息，如保留

时间、相对分子质量及特征结构碎片等，为其质量属性研究和后续作用机制研究提供了有效成分的数据支持，有助于建立全程质量控制体系。中药复方的组成绝对不是各味药材化学成分的简单叠加，在共同煎煮过程中，其成分可能会产生复杂的化学反应与比例改变^[40]。该实验的不足之处即搜风愈喘方由 13 味中药组成，成分复杂，且在煎煮过程中易发生多种物质间反应，极易产生新的化合物或次级代谢产物，同时受火候、煎煮时间等影响，其成分存在不同程度的损失^[4,42]。本实验中仍存在一部分响应值高，但未确定药味归属或者未鉴定出来的化合物，有待今后深入研究。

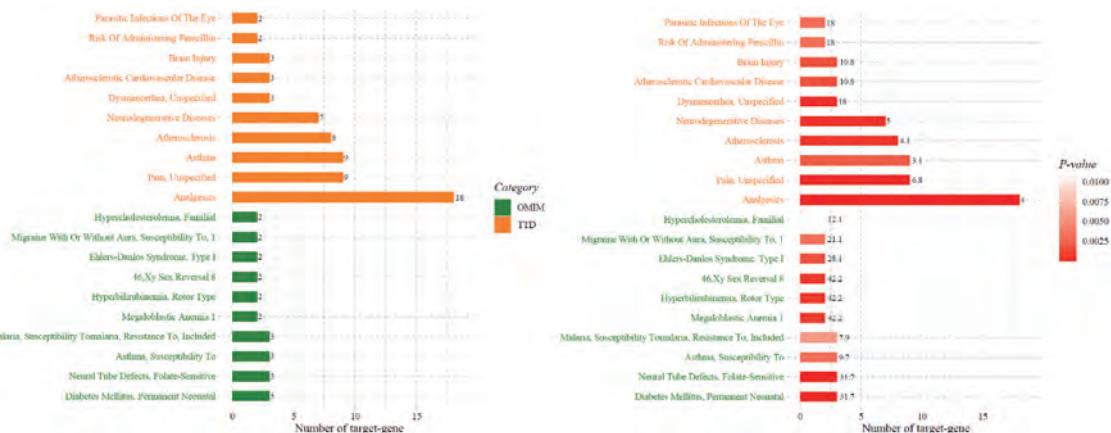


图 13 疾病富集分析

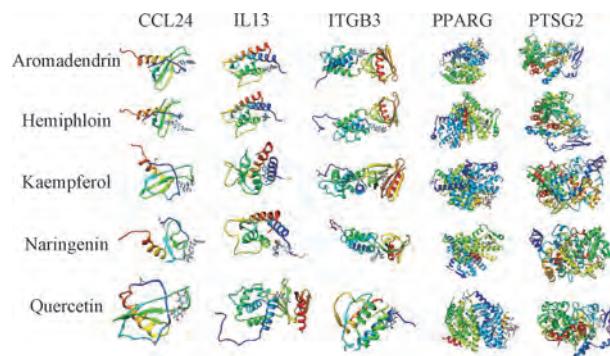


图 14 分子对接图

表 3 主要活性成分与相应关键靶点分子对接结果

(kcal/mol)

活性成分-靶点蛋白	FullFitness	Estimated ΔG
aromadendrin-CCL24	-658.51	-7.29
aromadendrin-IL13	-778.88	-6.85
aromadendrin-ITGB3	-1 626.74	-7.05
aromadendrin-PPARG	-3 302.24	-7.39
aromadendrin- PTSG2	-2 355.29	-7.65
hemiphloin-CCL24	-605.09	-6.16
hemiphloin-IL13	-734.03	-7.47
hemiphloin-ITGB3	-1 580.11	-8.08
hemiphloin-PPARG	-3 255.33	-7.73
hemiphloin- PTSG2	-2 310.21	-8.76
kaempferol-CCL24	-658.03	-7.13
kaempferol-IL13	-781.16	-7.14
kaempferol-ITGB3	-1 627.10	-6.54
kaempferol-PPARG	-3 301.53	-7.20
kaempferol-PTSG2	-2 360.99	-7.60
naringenin-CCL24	-546.71	-7.44
naringenin-IL13	-676.80	-7.81
naringenin-ITGB3	-1 518.66	-8.04
naringenin-PPARG	-3 195.76	-9.79
naringenin-PTSG2	-2 255.05	-9.43
quercetin-CCL24	-656.47	-7.29
quercetin-IL13	-776.81	-6.97
quercetin-ITGB3	-1 624.67	-7.06
quercetin-PPARG	-3 299.10	-7.40
quercetin-PTSG2	-2 359.02	-8.21

参考文献:

- [1] 闫永彬, 贾长虹, 杨明江, 等. 从伏风暗瘀宿痰辨治小儿哮喘[J]. 中医杂志, 2016, 57(21): 1877-1878; 1881.
- [2] 任大鹏, 闫永彬, 李君, 等. 搜风愈喘方辅助治疗小儿支气管哮喘急性发作的效果[J]. 临床医学, 2021, 41(10): 118-120.
- [3] 周宏鹤. 搜风愈喘方治疗儿童哮喘发作期的临床与实验研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.
- [4] 张宇婧, 梁磊, 闫永彬. 基于网络药理学探讨搜风愈喘方拆方“祛宿瘀方”调控儿童哮喘的作用机制[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(10): 3578-3589.
- [5] 梁磊, 张宇婧, 李淑娣, 等. 搜风愈喘方抑制哮喘大鼠气道重塑的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(1): 50-56.
- [6] 张勇. 儿童哮喘伏风暗瘀宿痰证候学研究及搜风愈喘方调控哮喘大鼠气道重塑 VEGF 的实验研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2017.
- [7] 熊诗慧, 邱婷, 王学成, 等. 基于质量标志物 (Q-Marker) 的中药制剂质量过程控制方法与策略[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2534-2540.
- [8] 李涛, 赵小亮, 高文雅, 等. 至宝三鞭丸的定量“制剂质量标志物”研究[J]. 药学学报, 2023, 58(7): 1770-1779.
- [9] Liu Z Y, Guo F F, Wang Y, et al. BATMAN-TCM: a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine[J]. Sci Rep, 2016, 6(1): 21146.
- [10] de Vos R C, Moco S, Lommen A, et al. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. Nat Protoc, 2007, 2(4): 778-791.
- [11] Patel K, Singh G K, Patel D K. A review on pharmacological and analytical aspects of naringenin[J]. Chin J Integr Med, 2018, 24(7): 551-560.
- [12] Yoshimura M, Sano A, Kamei J I, et al. Identification and quantification of metabolites of orally administered naringenin chalcone in rats[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(14): 6432-6437.
- [13] Shen P, Lin W J, Deng X, et al. Potential implications of quercetin in autoimmune diseases[J]. Front Immunol, 2021,

- 12: 689044.
- [14] Jin Y H, Zhai Z A, Jia H, et al. Kaempferol attenuates diquat-induced oxidative damage and apoptosis in intestinal porcine epithelial cells[J]. *Food Funct*, 2021, 12(15): 6889-6899.
- [15] Mohla S, Humphries M J, White S L, et al. Swainsonine: a new antineoplastic immunomodulator[J]. *J Natl Med Assoc*, 1989, 81(10): 1049-1056.
- [16] Bibi S, Ahmad F, Alam M R, et al. Lapachol-induced upregulation of Sirt1/Sirt3 is linked with improved skin wound healing in alloxan-induced diabetic mice[J]. *Iran J Pharm Res*, 2021, 20(3): 419-430.
- [17] Hussain H, Green I R. Lapachol and lapachone analogs: a journey of two decades of patent research (1997-2016) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2017, 27(10): 1111-1121.
- [18] 吕永镇, 王玉兰, 楼朱雄, 等. 南酸枣树皮中柑桔素和南酸枣甙的分离鉴定[J]. 药学学报, 1983(3): 199-202.
- [19] Parveen A, Choi S, Kang J H, et al. Trifostigmanoside I, an active compound from sweet potato, restores the activity of MUC2 and protects the tight junctions through PKC α / β to maintain intestinal barrier function[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 291-291.
- [20] 李娜. 白花败酱草化学成份、抗炎作用以及总皂苷提取纯化工艺研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2006.
- [21] 马趣环, 石晓峰, 范彬, 等. 糜叶败酱正丁醇部位化学成分研究[J]. 中草药, 2015, 46(11): 1593-1596.
- [22] Muraoka O, Fujimoto M, Tanabe G, et al. Absolute stereostructures of novel norcadinane- and trinoreudesmane-type sesquiterpenes with nitric oxide production inhibitory activity from *Alpinia oxyphylla*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11(16): 2217-2220.
- [23] 钟萍, 汪镇朝, 刘英孟, 等. 紫苏叶挥发油化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(13): 215-225.
- [24] 符前雨. 榆树皮的化学成分及其生物活性研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2021.
- [25] Imran M, Rauf A, Abu-Izneid T, et al. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108612.
- [26] 张海娟. 五种植物的化学成分及其生物活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2007.
- [27] Martins N O, de Brito I M, Araújo S S O, et al. Antioxidant, anticholinesterase and antifatigue effects of *Trichilia catigua* (catuaba) [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 172.
- [28] Lee H S, Kim E N, Jeong G S. Aromadendrin protects neuronal cells from methamphetamine-induced neurotoxicity by regulating endoplasmic reticulum stress and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2274-2274.
- [29] Calderon-Montano J M, Burgos-Moron E, Perez-Guerrero C, et al. A review on the dietary flavonoid kaempferol[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2011, 11(4): 298-344.
- [30] Yang Z Y, Liu B P, Yang L E, et al. Platycodigenin as potential drug candidate for Alzheimer's disease via modulating microglial polarization and neurite regeneration[J]. *Molecules*, 2019, 24(18): 3207-3207.
- [31] Xie Y, Ye Y P, Sun H X, et al. Contribution of the glycidic moieties to the haemolytic and adjuvant activity of platycodigenin-type saponins from the root of *Platycodon grandiflorum*[J]. *Vaccine*, 2008, 26(27-28): 3452-3460.
- [32] Somjen D, Knoll E, Vaya J, et al. Estrogen-like activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2004, 91(3): 147-155.
- [33] Azizsoltani A, Piri K, Behzad S, et al. Ethyl acetate extract of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*) enhances proliferation and osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Iran J Pharm Res*, 2018, 17(3): 1057-1067.
- [34] Bindoli A, Valente M, Cavallini L. Inhibition of lipid peroxidation by alpha-tocopherolquinone and alpha-tocopherolhydroquinone [J]. *Biochem Int*, 1985, 10 (5): 753-761.
- [35] Lu D, Zhang W, Jiang Y, et al. Two new triterpenoids from *Gardenia jasminoides* fruits[J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(19): 2789-2794.
- [36] Zamudio-Cuevas Y, Andonegui-Elguera M A, Aparicio-Juarez A, et al. The enzymatic poly (gallic acid) reduces pro-inflammatory cytokines *in vitro*, a potential application in inflammatory diseases[J]. *Inflammation*, 2021, 44 (1): 174-185.
- [37] Soules R, Noguer E, Iuliano L, et al. Improvement of 5, 6alpha-epoxycholesterol, 5, 6beta-epoxycholesterol, cholestan-3beta, 5alpha, 6beta-triol and 6-oxo-cholestan-3beta, 5alpha-diol recovery for quantification by GC/MS [J]. *Chem Phys Lipids*, 2017, 207(Pt B): 92-98.
- [38] Hu H, Zhou Y, Leng T, et al. The major cholesterol metabolite cholestan-3beta, 5alpha, 6beta-triol functions as an endogenous neuroprotectant[J]. *J Neurosci*, 2014, 34 (34): 11426-11438.
- [39] 杨丽平, 杜茂波, 马放, 等. 基于LC/MS技术的益气清热膏冻干粉及含药血清成分鉴定[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4725-4730.
- [40] 王力彬, 冯甜, 王芳, 等. 基于UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS对白虎加人参汤的全成分分析及化学成分鉴定[J]. 药物流行病学杂志, 2023, 32(2): 198-206.
- [41] 许丽玲, 范君婷, 董惠敏, 等. 经典名方黄芪桂枝五物汤标准煎液化学成分的UPLC-Q-TOF-MS分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5614-5630.
- [42] 何天雨, 王璐, 李林, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的经典名方竹茹汤化学成分鉴定及网络药理学研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5235-5245.