

引用:栗洁莹,孙宗喜,杨梅,唐红珍,卢蓉萍,魏江存,赵湘培.UPLC-Q-Orbitrap HRMS结合网络药理学分析辛夷鼻炎合剂化学成分及治疗鼻炎机制[J].中医药导报,2026,32(4):88-95.

UPLC-Q-Orbitrap HRMS结合网络药理学 分析辛夷鼻炎合剂化学成分 及治疗鼻炎机制

栗洁莹,孙宗喜,杨梅,唐红珍,卢蓉萍,魏江存,赵湘培
(广西中医药大学附属国际壮医医院壮瑶医药研究实验室,广西南宁 530201)

[摘要] 目的:利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Orbitrap HRMS)结合网络药理学及分子对接技术系统性探索辛夷鼻炎合剂治疗鼻炎的潜在作用机制。方法:通过UPLC-Q-Orbitrap HRMS液质联用、中医药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、SwissTargetPrediction数据库筛选并获取“辛夷鼻炎合剂”的主要活性成分及其作用靶点;利用疾病基因网络(DisGeNet)、人类基因综合数据库(GeneCards)、药物靶标数据库(DrugBank)、治疗靶点数据库(TTD)和人类孟德尔遗传数据库(OMIM)检索鼻炎相关靶点;药物与疾病的靶点绘制韦恩图得到350个共同靶点;以STRING在线分析平台分析药物与疾病共同靶点,进行蛋白质-蛋白质相互作用网络构建;利用DAVID生物信息数据库对药物与疾病共同靶点进行基因本体论(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并利用Cytoscape 3.10.2软件构建“药物-成分-靶点-疾病”网络图。最后通过AutoDock软件进行分子对接,并采用PyMol软件进行可视化分析。结果:辛夷鼻炎合剂共筛选出78个有效化学成分,其核心成分与鼻炎交集靶点350个。辛夷鼻炎合剂治疗鼻炎的作用机制主要涉及脂质和动脉粥样硬化、晚期糖基化终末产物与其受体(AGE-RAGE)信号通路以及MAPK信号通路等调节通路。辛夷鼻炎合剂主要成分木犀草素与核心靶点磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)有较高的亲和力。结论:辛夷鼻炎合剂可能通过其有效成分齐墩果酸、木犀草素、槲皮素、小檗碱、咖啡酸、黄芩素与肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-6(IL-6)、GAPDH、蛋白激酶B(Akt1)、肿瘤蛋白p53(TP53)、白蛋白(ALB)等治疗鼻炎的相关靶点,通过调控AGE-RAGE、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶B(PI3K-Akt)、C型凝集素受体(C-type lectin receptor)等关键通路以及其相关蛋白聚糖等发挥治疗鼻炎的作用。

[关键词] 鼻炎;辛夷鼻炎合剂;UPLC-Q-Orbitrap HRMS;网络药理学;分子对接

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2026)04-0088-08

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.04.014

Analysis of Chemical Constituents and Anti-Rhinitis Mechanism of Xinyi Rhinitis Mixture (辛夷鼻炎合剂) via UPLC-Q-Orbitrap HRMS Combined with Network Pharmacology

SU Jieying, SUN Zongxi, YANG Mei, TANG Hongzhen, LU Rongping, WEI Jiangcun, ZHAO Xiangpei
(Zhuang and Yao Medicine Research Laboratory, The Affiliated International Zhuang Medicine Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi 530201, China)

[Abstract] Objective: To systematically explore the potential therapeutic mechanisms of Xinyi Rhinitis Mixture (辛夷鼻炎合剂) in the treatment of rhinitis by using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) combined with network pharmacology and molecular docking techniques. Methods: The main active components of Xinyi Rhinitis Mixture and their corresponding action targets were screened and obtained by UPLC-Q-Orbitrap HRMS, the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and the SwissTargetPrediction database. Rhinitis-related targets were retrieved from the DisGeNet, GeneCards, DrugBank, Therapeutic Target Database (TTD) and Online

*基金项目:广西中医药管理局自筹经费科研课题(GXZYA20220176);广西中医药多学科交叉创新团队项目(GZKJ2309);国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目-少数民族药学(壮药学)(zyyzdxk-2023165)

通信作者:赵湘培,女,副研究员,研究方向为民族药药理及作用机制研究

Mendelian Inheritance in Man (OMIM) databases. A Venn diagram was plotted for the drug and disease targets, yielding 350 common targets. The STRING online analysis platform was used to analyze the common targets of the drug and disease and construct a protein-protein interaction (PPI) network. The DAVID bioinformatics database was employed to perform Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis on the common targets, and the Cytoscape 3.10.2 software was used to construct the "drug-component-target-disease" network diagram. Finally, molecular docking was performed by the AutoDock software, and visual analysis was conducted by the PyMol software. Results: A total of 78 effective chemical components were identified in Xinyi Rhinitis Mixture, and 350 common targets were obtained from the intersection of the action targets of its core components and rhinitis-related targets. The therapeutic mechanisms of Xinyi Rhinitis Mixture for rhinitis mainly involve regulatory pathways such as lipid and atherosclerosis, the advanced glycation end product-receptor for advanced glycation end products (AGE-RAGE) signaling pathway and the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. Luteolin, a major component of the mixture, showed high affinity for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), the core target. Conclusion: Xinyi Rhinitis Mixture may exert its anti-rhinitis effects by acting on the rhinitis-related targets including tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), GAPDH, protein kinase B (Akt1), tumor protein p53 (TP53) and albumin (ALB) through its effective components such as oleanolic acid, luteolin, quercetin, berberine, caffeic acid and baicalein. It exerts the therapeutic effects by regulating the key signaling pathways including the AGE-RAGE, MAPK, phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B (PI3K-Akt) and the C-type lectin receptor pathways, as well as their related proteoglycans.

[Keywords] rhinitis; Xinyi Rhinitis Mixture; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; network pharmacology; molecular docking

鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是耳鼻喉科的常见病、多发病。随着经济快速发展和人们生活水平不断提高,特别是城市空气污染的加重,近年来,其发病率有逐步上升的趋势。一项Meta研究结果显示,我国儿童患病率为15.79%,成人为13.26%。目前,鼻炎尚无根治方法,西医常用的抗组胺药及激素药物虽能够有效缓解症状,但远期效果不好且易出现不良反应;而特异性免疫治疗虽有可能改变疾病自然进程,但目前我国变应原疫苗的标准化和质量控制尚不完善,且免疫治疗的疗程长、费用高,限制了其在国内临床的使用^[1]。中医药治疗鼻炎具有整体调节、不良反应少、疗效持久、不易产生耐药性等独特优势,临床认可度与患者接受度较高,现已成为中医药临床治疗的优势病种之一。

辛夷鼻炎方是广西中医药大学唐红珍教授的经验方,具有较好的临床疗效基础。其组方融合了中医通鼻窍的经典名方“苍耳子散”与治疗外寒内饮的千古名方“小青龙汤”的精髓。辛夷鼻炎合剂由辛夷、炒苍耳子、麻黄、白芍、五味子、细辛、桂枝、法半夏、炒牛蒡子、干姜、桔梗、陈皮、炙甘草共13味药组成,主要用于治疗鼻炎、鼻窦炎,感受风寒或鼻炎导致的流涕、喷嚏、咳嗽、头晕、头痛。方中辛夷芳香行气,祛风通窍,为君药;炒牛蒡子、苍耳子、细辛、五味子、白芍、炙甘草散寒通窍,敛阴止痛,为臣药;法半夏、麻黄、干姜、桂枝、陈皮辛温解表,温肺化饮,健脾化湿,共为佐使药。诸药合用,共奏辛温解表、祛风通窍、温肺化饮之效。

广西中医药大学附属国际壮医医院壮瑶医药研究实验室拟将辛夷鼻炎方开发为合剂,因其化学成分及治疗机制尚未进行系统的实验研究,故本研究采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨串联质谱 (UPLC-Q-Orbitrap HRMS)

技术结合网络药理学的内容,对辛夷鼻炎合剂的化学成分和基因靶点、蛋白分子、信号通路的预测等进行研究,通过分子对接进行数据验证保证研究的合理性,系统地阐释辛夷鼻炎合剂潜在的药理作用,发现可能参与调控的分子机制,为今后治疗鼻炎提供药学研究资料。

1 材料与与方法

1.1 药物与试剂 辛夷(批号:20210802)、炒牛蒡子(批号:20210601)、苍耳子(批号:2111001)、细辛(批号:20210701)、五味子(批号:20211101)、白芍(批号:20210801)、炙甘草(批号:20211101)、法半夏(批号:20210702)、麻黄(批号:20210601)、干姜(批号:20210701)、桂枝(批号:20211101)、陈皮(批号:20211001)均购自广西仙荣中药有限公司,经广西中医药大学附属国际壮医医院陈少锋副主任药师鉴定为正品,最终由广西国际壮医医院制剂中心制备成合剂。色谱甲醇(赛默飞世尔科技有限公司,批号:2BC121802);甲酸(分析纯,重庆川东化工有限公司化学试剂厂,批号:20220223)。

1.2 主要仪器 色谱仪(型号:Dionex UltiMate 3000RS)和高分辨质谱仪(型号:Q Exactive)均购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司;纯水/超纯水一体机系统(德国默克密理博公司,型号:Integral 10);微量冷冻离心机(北京大龙兴创实验仪器有限公司,型号:D3024R);涡旋振荡器(武汉赛维尔生物科技有限公司,型号:MX-F);超声波清洗器(深圳洁盟清洗设备有限公司,型号:JP-040S)。

1.3 UPLC-Q-Orbitrap HRMS分析条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:WelchAQ-C₁₈(150.0 mm×2.1 mm, 1.8 μm);流速:0.30 mL/min;流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-甲醇(B);流动相梯度(1 min, 2%B; 5 min, 20%B; 10 min, 50%

B; 15 min, 80%B; 27 min, 95%B; 30 min, 2%B); 柱温箱温度 35 °C; 自动进样器温度 10.0 °C; 自动进样器进样体积 5.0 μL。

1.3.2 质谱条件 采用电喷雾电离源, 正负离子切换扫描, 电喷雾电压为 3.2 kV (Positive Negative), 碰撞能量梯度依次为 30、40、60 eV, 毛细管温为 300 °C, 鞘气流速为 40 arb, 辅助气流速为 15 arb, 离子传输管温度为 350 °C, 一级分辨率为 70 000, 二级分辨率为 17 500, 扫描范围 (*m/z*) 为 100~1 500。

1.3.3 供试品溶液的制备 取辛夷、炒牛蒡子、苍耳子等 13 味药加水煎煮 2 次, 药液浓缩, 取浓缩液即得辛夷鼻炎合剂。取辛夷鼻炎合剂, 干燥, 即得辛夷鼻炎合剂干膏粉。取辛夷鼻炎合剂干膏粉 0.1 g, 加入 1 mL 80% 甲醇和研磨珠, 研磨 5 min, 涡旋 10 min。在 4 °C 条件下离心 10 min, 离心力 20 000×g, 离心半径 5 cm, 取上层清液过滤后上机分析。

1.3.4 数据采集与分析 将供试品按照“1.3.1”及“1.3.2”项下的条件进行色谱、质谱分析, 通过 CD3.3 (Compound Discoverer 3.3, Thermo Fisher) 初步整理高分辨液质采集的数据, 再进行数据库 (mzCloud) 检索比对。

1.4 网络药理学分析

1.4.1 化合物信息收集与活性成分的筛选 利用液质联用得到化合物在 PubChem 数据库中以其化学名查找对应的 Smiles 号, 导入 SwissADME 网站, 需要同时满足以下 2 个条件: 以胃肠吸收 (gastrointestinal absorption) 为“High”; 5 种类药性预测 (Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge) 结果中有 3 个及以上为“Yes”。通过筛选的化合物导入 Swiss Target Prediction (http://www.swisstargetprediction.ch/) 平台进行预测潜在靶点。

1.4.2 相关靶点的筛选 在疾病基因网络 (DisGeNet)、人类基因综合数据库 (GeneCards)、药物靶标数据库 (DrugBank)、治疗靶点数据库 (Therapeutic Target Database, TTD)、人类孟德尔遗传数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)

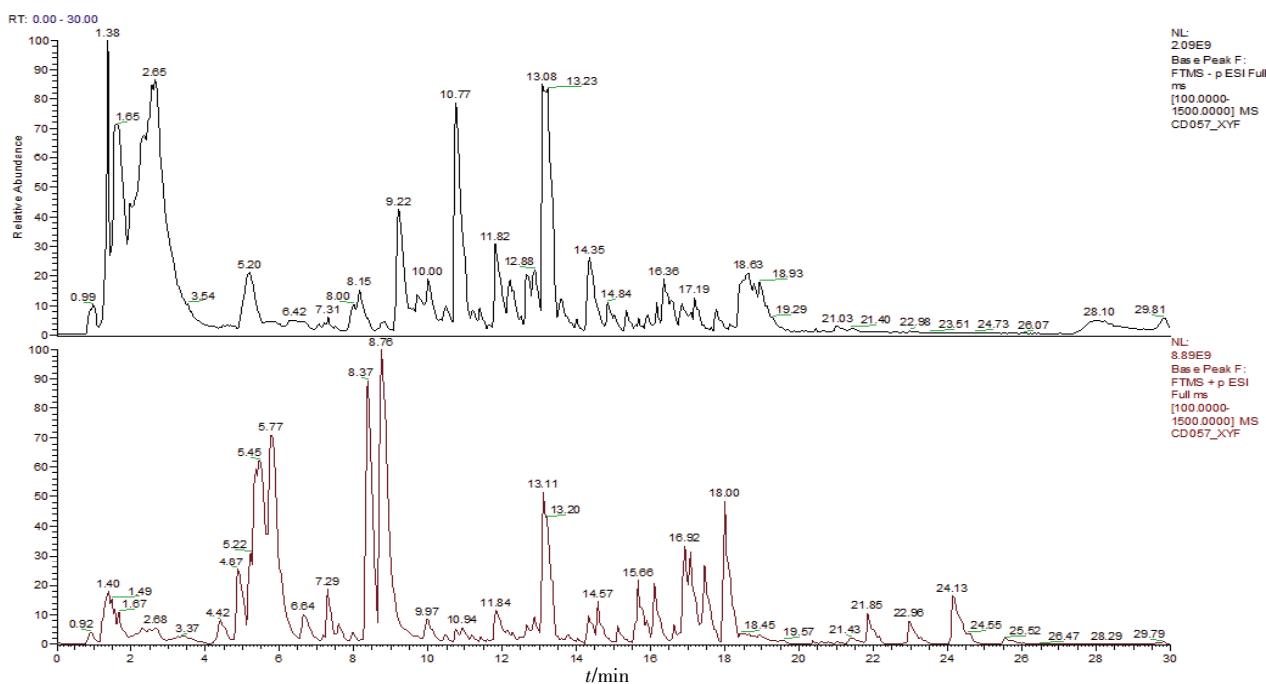
中以“Rhinitis”为关键词搜索鼻炎疾病靶点。将上述 5 个数据库得到的疾病靶点通过微生信网站 (https://www.bioinformatics.com.cn) 制作相关靶点的韦恩图。

1.4.3 “成分-靶点”网络的构建 将上述得到的药物靶点和疾病靶点各自删除重复后, 在微生信网站生成成分与靶点的韦恩图, 得到辛夷鼻炎合剂和鼻炎共同作用的靶点。导出共同靶点, 在 Excel 中建立网络文件和属性文件, 利用 Cytoscape 3.10.2 软件中进行可视化处理, 构建成分-靶点网络图。

1.4.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络的构建 将上述韦恩图中药物靶点和疾病靶点交集的关键靶点导入 STRING 数据库 (https://cn.string-db.org/cgi/input.pl) 构建 PPI 网络, 选择蛋白种属为“homo sapiens”, 设置最低置信度为 0.4, 其他参数不变, 得到蛋白相互作用关系的网络图, 下载 TSV 格式。将该文件导入到 Cytoscape 3.10.2 软件, 并使用插件 Centiscape 2.2 功能进行拓扑分析, 删除 Degree 值小的数组后, 利用 Cytoscape-Tools 编辑网络图样式获得核心靶点的 PPI 网络图, 探究辛夷鼻炎合剂多靶标、多效用、多层次作用机制。

1.4.5 基因本体论富集分析与京都基因与基因组百科全书通路分析 将关键靶点输入至 DAVID 在线分析数据库, 勾选基因本体论 (Gene Ontology, GO) 的生物学过程 (biological process, BP)、细胞组成 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 分析; 同时利用京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集进行信号通路分析 (以 *p* 值为筛选标准)。最后在微生信网站上选用 GO 分析中前 10 条进行可视化绘制富集数量统计柱状图, KEGG 选取排名前 20 的富集通路进行气泡图展示。

1.4.6 分子对接 从 PubChem 数据库中获取药物成分的小分子配体 2D 结构, 利用 ChemDraw 画出, 导入到 Chem3D 中保存



注: 黑色为负离子模式 TIC; 红色为正离子模式 TIC。

图 1 辛夷鼻炎合剂化学成分 TIC

为pdb格式。从RCSB PDB数据库(RCSB Protein Data Bank)中获取核心靶点的三维结构,利用PyMOL输入删除水分子和加氢的命令。选择PPI网络图导出的前6个关键靶点、药物成分与关键靶点网络图中边数较多的前6个主要成分作为小分子配体,利用AutoDockTools软件将关键靶点和小分子配体分别保存为“pdbqt”文件。用AutoDock Vina对处理完毕的药物成分配体和关键靶蛋白进行分子对接验证,并计算其最低结合能。结合能最低结合模式可利用PyMOL软件对进行可视化分析,最后导出模型图片。

2 结 果

2.1 辛夷鼻炎合剂成分分析 UPLC-Q-Orbitrap HRMS分析

表1 辛夷鼻炎合剂的化学成分鉴定表

| 序号 | t/min | 加合离子 | 实测m/z | 分子式 | 计算分子量 | 化合物 | 中文名 |
|----|--------|-----------------------------------|------------|---|------------|-------------------------------|---------|
| 1 | 1.287 | [M-H] ⁻ | 154.061 04 | C ₆ H ₉ N ₃ O ₂ | 155.068 31 | L-Histidine | L-组氨酸 |
| 2 | 1.342 | [M+H] ⁺ | 175.118 84 | C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂ | 174.111 56 | DL-Arginine | DL-精氨酸 |
| 3 | 1.347 | [M+H] ⁺ | 180.086 52 | C ₆ H ₁₃ NO ₅ | 179.079 25 | D-Glucosamine | D-氨基葡萄糖 |
| 4 | 1.356 | [M+H] ⁺ | 104.107 38 | C ₅ H ₁₃ NO | 103.100 10 | Choline | 胆碱 |
| 5 | 1.390 | [M+H] ⁺ | 133.060 78 | C ₄ H ₈ N ₂ O ₃ | 132.053 50 | Asparagine | 天冬酰胺 |
| 6 | 1.450 | [M+H] ⁺ | 138.054 86 | C ₇ H ₇ NO ₂ | 137.047 58 | Trigonelline | 葫芦巴碱 |
| 7 | 1.808 | [M+H] ⁺ | 136.061 84 | C ₅ H ₅ N ₅ | 135.054 57 | Adenine | 腺嘌呤 |
| 8 | 2.056 | [M+H] ⁺ | 124.039 54 | C ₆ H ₅ NO ₂ | 123.032 27 | Nicotinic acid | 烟酸 |
| 9 | 2.114 | [M+H] ⁺ | 123.055 56 | C ₆ H ₆ N ₂ O | 122.048 28 | Nicotinamide | 烟酰胺 |
| 10 | 2.649 | [M-H] ⁻ | 191.018 72 | C ₆ H ₈ O ₇ | 192.026 00 | Citric acid | 柠檬酸 |
| 11 | 2.656 | [M-H] ⁻ | 111.007 33 | C ₃ H ₄ O ₃ | 112.014 61 | 2-Furoic acid | 2-糠酸 |
| 12 | 2.804 | [M+NH ₄] ⁺ | 182.081 25 | C ₆ H ₁₁ NO ₃ | 164.047 42 | L-Tyrosine | L-酪氨酸 |
| 13 | 3.065 | [M+H+MeOH] ⁺ | 166.122 62 | C ₁₀ H ₁₅ NO | 133.089 13 | Hordeinine | 大麦芽碱 |
| 14 | 4.033 | [M-H] ⁻ | 125.023 19 | C ₆ H ₆ O ₃ | 126.030 46 | Pyrogallol | 焦性没食子酸 |
| 15 | 4.424 | [M+NH ₄] ⁺ | 152.106 90 | C ₉ H ₁₃ NO | 134.073 11 | Norephedrine | 去甲麻黄碱 |
| 16 | 4.484 | [M+H] ⁺ | 268.103 79 | C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₄ | 267.096 53 | Adenosine | 腺苷 |
| 17 | 5.157 | [M+NH ₄] ⁺ | 166.086 26 | C ₉ H ₁₁ NO ₂ | 148.052 43 | L-Phenylalanine | L-苯丙氨酸 |
| 18 | 5.178 | [M-H] ⁻ | 169.013 17 | C ₇ H ₆ O ₅ | 170.020 49 | Gallic acid | 没食子酸 |
| 19 | 5.910 | [M+H] ⁺ | 127.039 13 | C ₆ H ₆ O ₃ | 126.031 87 | 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde | 5-羟甲基糠醛 |
| 20 | 6.472 | [M-H] ⁻ | 241.082 84 | C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅ | 242.090 34 | Thymidine | 胸苷 |
| 21 | 6.486 | [M-H] ⁻ | 153.018 28 | C ₇ H ₆ O ₄ | 154.025 56 | Gentisic acid | 龙胆酸 |
| 22 | 6.581 | [M-H] ⁻ | 167.034 00 | C ₈ H ₈ O ₄ | 168.041 27 | Homogentisic acid | 尿黑酸 |
| 23 | 7.235 | [M+H] ⁺ | 163.123 05 | C ₁₀ H ₁₄ N ₂ | 162.115 77 | Nicotine | 尼古丁 |
| 24 | 7.424 | [M+H] ⁺ | 330.169 86 | C ₁₉ H ₂₃ NO ₄ | 329.162 58 | Sinomenine | 青藤碱 |
| 25 | 8.160 | [M-H] ⁻ | 353.087 49 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 354.094 78 | Neochlorogenic acid | 新绿原酸 |
| 26 | 8.271 | [M+NH ₄] ⁺ | 187.123 06 | C ₁₂ H ₁₁ N | 169.089 22 | 4-Aminobiphenyl | 4-氨基联苯 |
| 27 | 8.717 | [M-H] ⁻ | 339.072 02 | C ₁₅ H ₁₆ O ₉ | 340.079 30 | Esculin | 七叶苷 |
| 28 | 9.023 | [M+H+MeOH] ⁺ | 163.075 23 | C ₁₀ H ₁₀ O ₂ | 130.041 79 | Methyl cinnamate | 肉桂酸甲酯 |
| 29 | 9.628 | [M+H] ⁺ | 112.039 79 | C ₃ H ₅ NO ₂ | 111.032 51 | Pyrrole-2-carboxylic acid | 吡咯-2-羧酸 |
| 30 | 9.630 | [M-H] ⁻ | 121.028 21 | C ₇ H ₆ O ₂ | 122.035 49 | Benzoic acid | 苯甲酸 |
| 31 | 9.649 | [M+H] ⁺ | 123.044 40 | C ₇ H ₆ O ₂ | 122.037 13 | 4-Hydroxybenzaldehyde | 4-羟基苯甲醛 |
| 32 | 9.743 | [M+H] ⁺ | 355.101 99 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 354.094 85 | Chlorogenic acid | 绿原酸 |
| 33 | 9.934 | [M+H+MeOH] ⁺ | 207.065 28 | C ₁₁ H ₁₂ O ₅ | 174.031 78 | Sinapinic acid | 芥子酸 |
| 34 | 10.112 | [M-H+HAc] ⁻ | 239.055 73 | C ₉ H ₈ O ₄ | 180.041 67 | Caffeic acid | 咖啡酸 |
| 35 | 10.509 | [M+H] ⁺ | 153.054 63 | C ₈ H ₈ O ₃ | 152.047 35 | Vanillin | 香草醛 |
| 36 | 11.208 | [M-H] ⁻ | 165.054 72 | C ₈ H ₁₀ O ₃ | 166.061 99 | 3-Phenyllactic acid | 3-苯基乳酸 |
| 37 | 11.274 | [M+H+MeOH] ⁺ | 167.070 33 | C ₈ H ₈ O ₃ | 134.036 85 | 2-Anisic acid | 2-茴香酸 |
| 38 | 11.330 | [M+H] ⁺ | 149.096 10 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148.088 82 | trans-Anethole | 反式茴香脑 |

得到辛夷鼻炎合剂的正离子和负离子,由此对辛夷鼻炎合剂化学成分进行计算,其总离子流图(total ion current chromatogram, TIC)见图1。分析得到的数据通过CD3.3进行初步整理后与mzCloud数据库进行比对,匹配到813个化合物,其中mzCloud best match中综合评分大于60分的化合物有438个。质谱信息结合对照品裂解规律,鉴定出化合物78个,包含了氨基酸(L-组氨酸、DL-精氨酸等)、酚类(如水杨酸、烟酸酚)、羧酸类(如咖啡酸、柠檬酸、新绿原酸等)、香豆素类(如白花前胡甲素、苯银杏素、麻黄酮等)、黄酮类(木犀草素、黄芩素、槲皮素)、生物碱类(去甲麻黄碱、青藤碱、麻黄碱等)和其他有机化合物(如齐墩果酸、桉叶油醇等)。(见表1)

续表1:

| 序号 | t/min | 加合离子 | 实测m/z | 分子式 | 计算分子量 | 化合物 | 中文名 |
|----|--------|-------------------------------------|------------|---|------------|--|----------------------------|
| 39 | 11.430 | [M+H] ⁺ | 193.049 55 | C ₁₀ H ₈ O ₄ | 192.042 15 | 7-hydroxy-6-methoxy-2H-chromen-2-one | 7-羟基-6-甲氧基-2H-色烯-2-酮 |
| 40 | 11.518 | [M+H] ⁺ | 336.122 62 | C ₂₀ H ₁₇ NO ₄ | 335.115 34 | Berberine | 小檗碱 |
| 41 | 11.818 | [M-H] ⁻ | 173.080 86 | C ₈ H ₁₄ O ₄ | 174.088 13 | Suberic acid | 辛二酸 |
| 42 | 11.851 | [M+H] ⁺ | 257.080 35 | C ₁₅ H ₁₂ O ₄ | 256.073 08 | Isoliquiritigenin | 异甘草素 |
| 43 | 12.058 | [M+H] ⁺ | 147.043 96 | C ₉ H ₆ O ₂ | 146.036 68 | Coumarin | 香豆素 |
| 44 | 12.106 | [M+H] ⁺ | 433.112 70 | C ₂₇ H ₂₀ O ₁₀ | 432.105 43 | Vitexin | 牡荆素 |
| 45 | 12.205 | [M-H] ⁻ | 609.146 06 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ | 610.153 26 | Rutin | 芦丁 |
| 46 | 12.232 | [M-H] ⁻ | 525.161 38 | C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁ | 526.168 65 | albiflorin | 芍药内酯苷 |
| 47 | 12.298 | [M+H] ⁺ | 435.128 33 | C ₂₇ H ₂₂ O ₁₀ | 434.121 05 | Prunin | 樱桃花苷 |
| 48 | 12.305 | [M-H] ⁻ | 579.171 51 | C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄ | 580.178 74 | Naringin | 柚皮苷 |
| 49 | 12.371 | [M+H] ⁺ | 417.117 61 | C ₂₁ H ₂₀ O ₉ | 416.110 37 | Daidzin | 大豆苷 |
| 50 | 12.432 | [M+H] ⁺ | 207.065 16 | C ₁₁ H ₁₀ O ₄ | 206.057 88 | Scoparone | 东莨菪内酯 |
| 51 | 12.687 | [M+H] ⁺ | 611.195 92 | C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅ | 610.189 08 | Hesperidin | 橙皮苷 |
| 52 | 12.688 | [M+H-H ₂ O] ⁺ | 137.132 39 | C ₁₀ H ₁₈ O | 154.135 67 | Eucalyptol | 桉叶油醇 |
| 53 | 12.903 | [M-H] ⁻ | 137.023 15 | C ₇ H ₆ O ₃ | 138.030 42 | Salicylic acid | 水杨酸 |
| 54 | 13.261 | [M+H] ⁺ | 447.127 69 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀ | 446.120 42 | Glycitin | 黄豆黄苷 |
| 55 | 13.364 | [M+H] ⁺ | 431.132 97 | C ₂₂ H ₂₂ O ₉ | 430.125 69 | Ononin | 芒柄花苷 |
| 56 | 13.375 | [M-H] ⁻ | 187.096 65 | C ₉ H ₁₆ O ₄ | 188.104 02 | Azelaic acid | 壬二酸 |
| 57 | 13.563 | [M+H] ⁺ | 286.234 87 | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ | 286.047 59 | Luteolin | 木犀草素 |
| 58 | 13.570 | [M+H] ⁺ | 449.107 57 | C ₂₇ H ₂₀ O ₁₁ | 448.100 45 | Trifolin | 三叶豆苷 |
| 59 | 13.783 | [M+H] ⁺ | 359.148 44 | C ₂₀ H ₂₂ O ₆ | 358.141 29 | Matairesinol | 罗汉松脂素 |
| 60 | 13.976 | [M+H] ⁺ | 271.060 00 | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ | 270.052 72 | Galangin | 高良姜素 |
| 61 | 14.289 | [M+H] ⁺ | 471.201 08 | C ₂₈ H ₃₀ O ₈ | 470.193 89 | Limonin | 柠檬苦素 |
| 62 | 14.308 | [M-H] ⁻ | 431.098 21 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 432.105 51 | Afzelin | 阿福豆苷 |
| 63 | 14.603 | [M-H] ⁻ | 267.066 35 | C ₁₆ H ₁₂ O ₄ | 268.073 62 | Formononetin | 芒柄花素 |
| 64 | 14.626 | [M+H] ⁺ | 255.064 74 | C ₁₅ H ₁₀ O ₄ | 254.057 47 | Daidzein | 大豆苷元 |
| 65 | 15.822 | [M+H] ⁺ | 269.080 44 | C ₁₆ H ₁₂ O ₄ | 268.073 24 | 7-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-4H-chromen-4-one | 7-羟基-3-(4-甲氧基苯基)-4H-色烯-4-酮 |
| 66 | 16.108 | [M+H+MeOH] ⁺ | 177.090 84 | C ₁₀ H ₈ O | 144.057 35 | 1-Naphthol | 1-萘酚 |
| 67 | 16.152 | [M+H-H ₂ O] ⁺ | 415.210 75 | C ₂₃ H ₃₂ O ₇ | 432.214 10 | Schisandrin | 五味子素 |
| 68 | 16.740 | [M+H-H ₂ O] ⁺ | 221.189 73 | C ₁₅ H ₂₄ O | 238.193 02 | (-)-Caryophyllene oxide | (-)-石竹烯氧化物 |
| 69 | 16.922 | [M+H] ⁺ | 403.137 70 | C ₂₁ H ₂₂ O ₈ | 402.130 42 | Nobiletin | 川陈皮素 |
| 70 | 17.271 | [M+H] ⁺ | 337.106 57 | C ₂₀ H ₁₈ O ₆ | 336.099 31 | Sesamin | 芝麻素 |
| 71 | 17.466 | [M+H] ⁺ | 373.127 38 | C ₂₀ H ₂₀ O ₇ | 372.120 12 | Tangeritin | 橘皮素 |
| 72 | 17.524 | [M+H] ⁺ | 277.179 53 | C ₁₇ H ₂₄ O ₃ | 276.172 27 | Shogaol | 姜烯酚 |
| 73 | 17.582 | [M+H] ⁺ | 179.070 14 | C ₁₀ H ₁₂ O ₄ | 178.062 87 | 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propanoic acid | 3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙酸 |
| 74 | 18.002 | [M+H] ⁺ | 166.122 53 | C ₁₀ H ₁₅ NO | 165.115 25 | Ephedrine | 麻黄碱 |
| 75 | 18.240 | [M+H] ⁺ | 151.075 35 | C ₉ H ₁₀ O ₂ | 150.068 07 | 4'-Methoxyacetophenone | 4'-甲氧基苯乙酮 |
| 76 | 18.511 | [M+H] ⁺ | 279.158 97 | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | 278.151 67 | Dibutyl phthalate | 邻苯二甲酸二丁酯 |
| 77 | 19.244 | [M-H] ⁻ | 285.207 21 | C ₁₆ H ₃₀ O ₄ | 286.214 49 | Hexadecanedioic acid | 十六烷二酸 |
| 78 | 19.509 | [M-H] ⁻ | 271.228 00 | C ₁₆ H ₃₂ O ₃ | 272.235 27 | 16-Hydroxyhexadecanoic acid | 16-羟基十六烷酸 |
| 79 | 20.077 | [M+H] ⁺ | 305.247 34 | C ₂₀ H ₃₂ O ₂ | 304.240 07 | Arachidonic acid | 花生四烯酸 |
| 80 | 20.756 | [M+H] ⁺ | 469.330 84 | C ₂₈ H ₄₆ O ₄ | 468.323 63 | Diisodecyl phthalate | 邻苯二甲酸二异癸酯 |
| 81 | 21.501 | [M+H] ⁺ | 256.263 15 | C ₁₆ H ₃₃ NO | 255.255 88 | Hexadecanamide | 十六酰胺 |
| 82 | 21.843 | [M-H] ⁻ | 455.353 09 | C ₂₀ H ₃₈ O ₃ | 456.360 38 | Oleonic acid | 齐墩果酸 |
| 83 | 22.095 | [M-H] ⁻ | 279.233 00 | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | 280.240 23 | Linoleic Acid | 亚油酸 |
| 84 | 22.573 | [M-H] ⁻ | 255.232 91 | C ₁₆ H ₃₂ O ₂ | 256.240 20 | Palmitic acid | 棕榈酸 |
| 85 | 22.693 | [M+H] ⁺ | 284.294 68 | C ₁₈ H ₃₇ NO | 283.287 40 | Stearamide | 硬脂酰胺 |
| 86 | 22.832 | [M-H] ⁻ | 281.248 75 | C ₁₈ H ₃₄ O ₂ | 282.256 03 | Oleic acid | 油酸 |
| 87 | 22.999 | [M+H] ⁺ | 271.059 75 | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ | 270.052 48 | Baicalin | 黄芩素 |

2.2 辛夷鼻炎合剂网络药理学分析

2.2.1 化合物信息收集与活性成分的筛选 将质谱定性出87个化合物进行Swiss ADME(<http://www.swissadme.ch/>)筛选,满足标准条件的化合物共有78个,将以上78个化合物的SMILES号导入到Swiss Target Prediction在线网站进行靶点预测,选择Probability ≥ 0.1 的靶点蛋白,作为辛夷鼻炎合剂的潜在靶点。

2.2.2 相关靶点的筛选 将5个网站搜索得到的疾病靶点删除各自数据库中的重复基因后,得到疾病基因网络(DisGeNet)10个基因靶点、人类基因综合数据库(GeneCards)4 081个基因靶点、人类孟德尔遗传数据库(OMIM)3个基因靶点、治疗靶点数据库(Therapeutic Target Database)37个基因靶点和药物靶标数据库(DrugBank)11个基因靶点。将上述5个数据库得到的疾病靶点通过微生信网站生成韦恩图可直观显示其关系。(见图2)

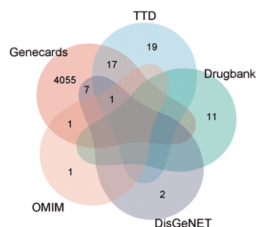


图2 Rhinitis 疾病靶点韦恩图

2.2.3 “成分-靶点”网络的构建 药物靶点和疾病靶点各自删除重复后,在Venny 2.1.0网站生成韦恩图(见图3),得到辛夷鼻炎合剂成分靶点和鼻炎疾病共同作用的350个靶点。将350个靶点以网络和属性文件的形式导入到cytoscape 3.10.2软件中制作“成分-靶点”网络图,分析该网络可知有705个节点和2 169条边组成。(见图4)

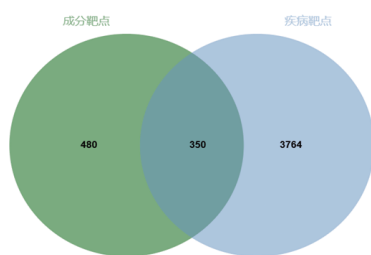


图3 “辛夷鼻炎合剂成分-鼻炎疾病”交集靶点韦恩图

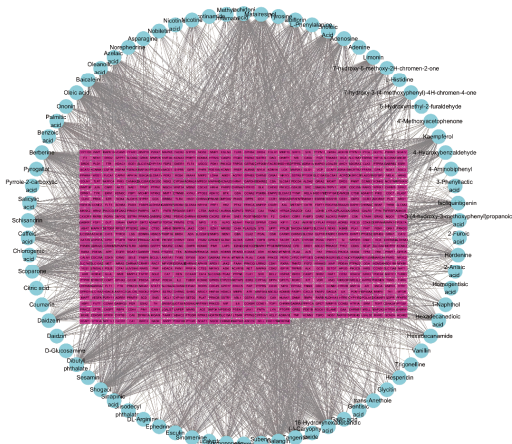


图4 “辛夷鼻炎合剂活性成分-靶点”网络图

2.2.4 PPI网络的构建 将得到药物靶点和疾病靶点交集的靶点导入STRING数据库中制作PPI网络,由此导出数据后利用cytoscape 3.10.2软件进行美化处理,该网路图有347个节点,7 543条边。使用插件Centscape 2.2功能进行数据分析,以Betweenness值为31.969 75, Closeness值为0.002 012, Degree值为5, 筛选得到150个节点,4 560条边。修改颜色和气泡性状后获得核心靶点的PPI网络图。若这些基因越重要, Degree值越高,则表现为节点越大,气泡颜色越深。(见图5)

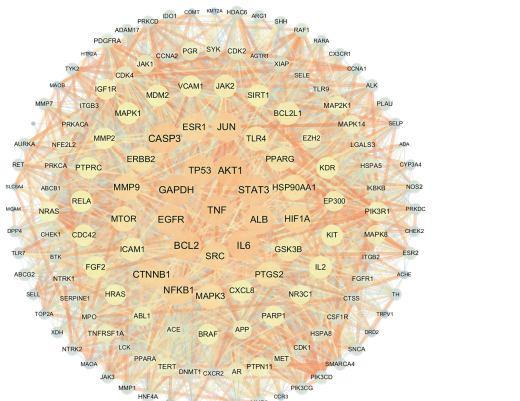


图5 “辛夷鼻炎合剂-鼻炎”交集靶点 PPI 网络图

2.2.5 GO富集分析与KEGG通路富集分析 将交集靶点导入DAVID在线分析数据库的Functional Annotation Clustering中,物种选择Homo species, 下载生物学过程(biological process, BP)、细胞组成(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)的Chart文件。通过P值富集分析,选取前10条GO通路(即BP、CC、MF)进行可视化绘制富集数量统计柱状图(见图6)。结果显示,辛夷鼻炎合剂的生物过程主要与磷酸化(phosphorylation)、负向调节凋亡过程(negative regulation of apoptotic process)、对外源性刺激的响应(response to xenobiotic stimulus)、炎症反应(inflammatory response)等有关;细胞组成主要富集于细胞膜(plasma membrane)、受体复合物(receptor complex)、细胞质(cytoplasm)、脂质筏(membrane raft)、含蛋白复合物(protein-containing complex)等;分子功能主要与蛋白酪氨酸激酶活性(protein tyrosine kinase activity)、酶结合(enzyme binding)、相同蛋白结合(identical protein binding)、ATP结合(ATP binding)等相关。对KEGG通路进行富集分析以P值筛选前20条通过微生信网站作出气泡图(见图7),辛夷鼻炎合剂治疗鼻炎主要通过AGE-RAGE、MAPK、PI3K-Akt、C-type lectin receptor等信号通路发挥抗炎作用。

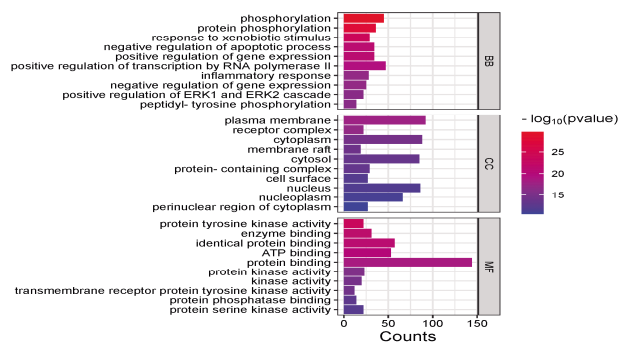


图6 GO 功能富集分析

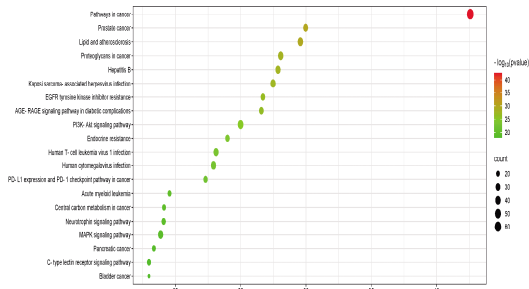


图7 KEGG 通路富集分析

2.2.6 核心靶点分子对接验证 以PPI筛选的前6个核心靶点:肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)(PDB ID:1XU1)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)(PDB ID:5ZO6)、磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)(PDB ID:6YND)、蛋白激酶B α (protein kinase B alpha, Akt1)(PDB ID:8R5K)、肿瘤蛋白p53(tumor protein p53, TP53)(PDB ID:6VA5)、白蛋白(albumin, ALB)(PDB ID:9IK6)与主要成分中前6个成分如齐墩果酸、木犀草素、槲皮素、小檗碱、咖啡酸、黄芩素进行分子对接验证,结合能均小于5.0,表示其具有自我结合的能力良好。结合能越小,则对接效果越好。所有药物成分的结合能数据以热图的形式表现,颜色越深,表明结合能越小,结合活性越大(见图8)。最后利用PyMOL软件将对对接分数较低的模型组合进行可视化处理。(见图9)

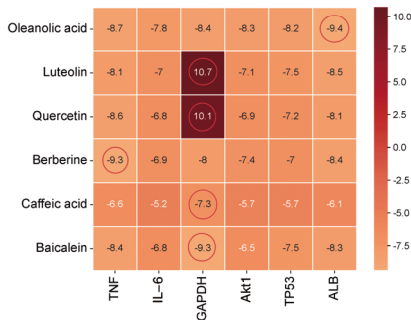
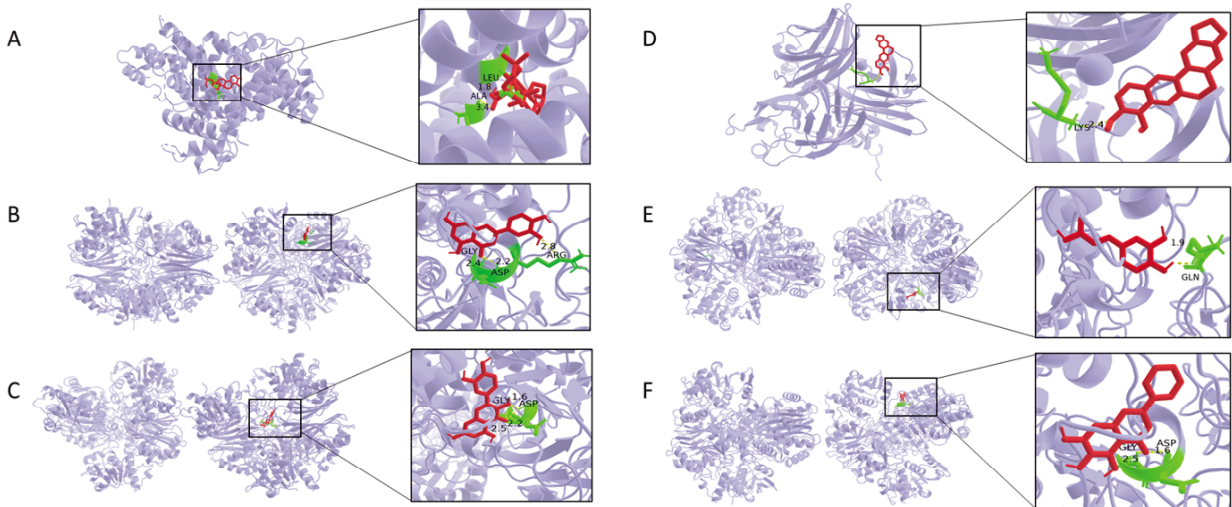


图8 辛夷鼻炎合剂核心成分与核心靶点的分子对接结合能热图



注:A.齐墩果酸-TNF;B.木犀草素-GAPDH;C.槲皮素-GAPDH;D.小檗碱-ALB;E.咖啡酸-GAPDH;F.黄芩素-GAPDH。

图9 辛夷鼻炎合剂核心成分与核心靶点的分子对接

3 讨论

鼻炎,中医称之鼻,临床上多见变应性鼻炎、慢性鼻炎患者,具有病情反复发作、缠绵难愈的特点。中医药调节免疫平衡、抗过敏、抗炎等功效对变应性鼻炎有良好的治疗作用^[2-4]。但由于鼻炎的发病机制复杂,辛夷鼻炎合剂发挥治疗作用的具体药理机制尚不明确。

3.1 KEGG通路富集分析揭示辛夷鼻炎合剂的关键作用途径 本研究利用“药物-成分-靶点-疾病”网络预测辛夷鼻炎合剂作用的核心成分,根据KEGG功能富集分析结果显示,辛夷鼻炎合剂可能是通过蛋白磷酸化、负向调节凋亡及炎症反应参与细胞内的调控。蛋白质磷酸化通常由蛋白激酶催化的ATP的磷酸基团转移到蛋白质的氨基酸残基上,从而调节蛋白质的活性和功能;负向调节凋亡过程则涉及抑制细胞死亡相关蛋白的活性,维持细胞的稳定性和生存。基因表达的正向调节通常通过增强基因转录或翻译来实现,而负向调节则通过抑制这些过程来减少基因产物的生成;炎症反应涉及多种信号通路的激活,包括蛋白磷酸化的级联反应,这些反应可以调节免疫细胞的功能和炎症介质的释放^[5-7]。

3.2 GO功能富集分析阐释其潜在的分子生物学过程 在GO通路富集分析中发现多条线路与炎症和细胞凋亡有关,BP涉及磷酸化、负向调节凋亡过程、对外源性刺激的响应和炎症反应等方面。这些过程在细胞信号传导和免疫反应中起着重要作用。此外,负向调节凋亡过程可以通过抑制促凋亡因子的表达来实现,如PTEN对PI3K/Akt通路的负向调节作用^[8]。炎症反应则涉及细胞因子和信号分子的调控,如TIM-4的表达受到P38通路的负向调节^[9]。CC主要涉及细胞膜、受体复合物、细胞质、脂质筏和含蛋白复合物等。这些结构在细胞信号传导和细胞功能中起着关键作用。而MF包括蛋白酪氨酸激酶活性、酶结合、相同蛋白结合和ATP结合等。

3.3 分子对接验证成分与靶点的分析 为了进一步明确辛夷鼻炎合剂对治疗鼻炎的作用机制,在PPI网络基础上筛选出Degree值排前6的核心靶点TNF、IL-6、GAPDH、Akt1、TP53、ALB与齐墩果酸、木犀草素、槲皮素、小檗碱、咖啡酸、黄芩素

分子对接验证后,发现其结合能力良好。资料显示,TNF通过激活NF- κ B等信号通路调控细胞生存与死亡^[10],IL-6则是炎症早期标志物,参与免疫细胞分化与宿主防御^[11]。GAPDH除糖酵解功能外,亦展现出免疫调节活性,可能通过抑制巨噬细胞炎症反应、调节细胞因子平衡参与鼻炎等炎症性疾病的缓解^[12]。此外,Akt1通过PI3K/Akt/mTOR通路调控细胞代谢与存活,TP53作为重要肿瘤抑制蛋白维持基因组稳定^[13],而ALB则在维持渗透压、物质运输及炎症调节中具有多重生理功能。这些分子在细胞信号传导、免疫调控及疾病发展中均具有重要意义。齐墩果酸^[14]作为强效抗炎剂,通过抑制NF- κ B等关键信号通路,能显著下调TNF- α 、IL-6等促炎因子表达,减轻鼻腔黏膜的炎性损伤与水肿;木犀草素与槲皮素^[15]同属黄酮类化合物,二者不仅具有显著的抗氧化活性以清除自由基,还能稳定肥大细胞膜,抑制组胺、白三烯等过敏介质的释放,直接缓解喷嚏、清涕等I型过敏反应症状;小檗碱^[16]除广谱抗菌作用外,其抗炎特性亦被证实能抑制NLRP3炎症小体等通路;咖啡酸^[17]及其衍生物在抗炎、抗氧化之外,还能通过抑制组氨酸脱羧酶间接减少组胺生成;黄芩素^[18]作为黄芩的主要活性成分,能广泛抑制环氧化酶-2、脂氧合酶及多种细胞因子,在抗炎、抗过敏及缓解鼻黏膜血管充血方面作用明确。辛夷鼻炎合剂核心活性成分能高效结合并调控TNF、IL-6等关键靶点,全面抑制促炎因子释放,稳定肥大细胞,减少过敏介质生成,清除自由基,从而显著减轻鼻黏膜炎性损伤、水肿及充血,有效缓解喷嚏、流涕等过敏与炎症症状。

综上,辛夷鼻炎合剂可能是通过其有效成分齐墩果酸、木犀草素、槲皮素、小檗碱、咖啡酸、黄芩素与TNF、IL-6、GAPDH、Akt1、TP53、ALB等靶点结合,调控治疗鼻炎的AGE-RAGE、MAPK、PI3K-Akt、C-type lectin receptor等关键信号通路来发挥干预治疗鼻炎的作用。通过UPLC-Q-Orbitrap HRMS结合网络药理学发现辛夷鼻炎合剂治疗鼻炎的作用机制,探索了辛夷鼻炎合剂的主要化学成分以及对应的多成分、多靶点、多通路,证明该方剂对于鼻炎的治疗具有一定的作用,但后续研究还需通过其他实验验证其作用机制。

参考文献

- [1] 王孟,郑铭,王向东,等.中国过敏性鼻炎流行病学研究进展[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2019,26(8):415-420.
- [2] 施晓卉,顾蒙泰,沈花,等.玉屏风散对变应性鼻炎大鼠肥大细胞表达、免疫应答及NLRP3炎性小体的影响[J].陕西中医,2025,46(12):1593-1597,1615.
- [3] 叶应召.辛芩颗粒辅助变应性鼻炎临床观察[J].实用中医药杂志,2025,41(6):1274-1277.
- [4] 王笃智.基于文献分析的鼻渊病机演变及古今用药规律研究[D].杭州:浙江中医药大学,2021.
- [5] BRUMATTI G, SALMANIDIS M, EKERT P G. Crossing paths: Interactions between the cell death machinery and growth factor survival signals[J]. Cell Mol Life Sci,2010,67(10):1619-1630.
- [6] FUCHS Y, STELLER H. Programmed cell death in animal development and disease[J]. Cell,2011,147(4):742-758.
- [7] FULDA S, VUCIC D. Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer[J]. Nat Rev Drug Discov,2012,11(2):109-124.
- [8] 李卓立,秦竹,彭婉莹,等.中药单体调控p38 MAPK/NF- κ B信号通路干预变应性鼻炎的研究进展[J].中医药导报,2024,30(12):88-93,135.
- [9] XU Z Q, LI J W, FANG S Y, et al. Cinobufagin disrupts the stability of lipid rafts by inhibiting the expression of caveolin-1 to promote non-small cell lung cancer cell apoptosis[J]. Arch Med Sci,2024,20(3):887-908.
- [10] 牛金明,程莉雅,吴美美.柚皮素对过敏性鼻炎模型大鼠鼻黏膜组织TLR4/NF- κ B/TNF- α 信号通路的影响[J].中国实验诊断学,2023,27(4):483-488.
- [11] HIRANO T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer[J]. Int Immunol,2021,33(3):127-148.
- [12] SNAEBJORNSSON M T, SCHULZE A. Non-canonical functions of enzymes facilitate cross-talk between cell metabolic and regulatory pathways[J]. Exp Mol Med,2018,50(4):1-16.
- [13] HOXHAI G, MANNINGB D. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism[J]. Nat Rev Cancer,2020,20(2):74-88.
- [14] 翟倩倩,沈承亮,李燕,等.齐墩果酸对糖尿病肾病大鼠及NF- κ B/caspase-9信号通路的影响[J].免疫学杂志,2025,41(2):80-85.
- [15] IMRAN M, RAUF A, ABU-IZNEID T, et al. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review [J]. Biomedecine Pharmacother,2019,112:108612.
- [16] 蹇睿,杨敏,郑书林.小檗碱对小鼠痛风性关节炎模型中NLRP3/TLRs的调控作用[J].重庆医科大学学报,2020,45(2):251-256.
- [17] MIRZAEI S, GHOLAMIM H, ZABOLIAN A, et al. Caffeic acid and its derivatives as potential modulators of oncogenic molecular pathways: New hope in the fight against cancer[J]. Pharmacol Res,2021,171:105759.
- [18] DINDA B, DINDA S, DASSHARMA S, et al. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalein against inflammatory disorders[J]. Eur J Med Chem,2017,

(收稿日期:2025-05-30 编辑:时格格)