

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2024.11.018

刘册家, 刘羽康, 张京华, 等. 北豆根配方颗粒的抗炎、抗肿瘤有效成分研究——基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 与网络药理学 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2024, 46(11): 227-240.

# 北豆根配方颗粒的抗炎、抗肿瘤有效成分研究

## ——基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 与网络药理学

刘册家, 刘羽康, 张京华, 姚元成, 李金鑫,  
张凤超, 刘兴村, 张玉伟, 曹桂云, 孟兆青

山东宏济堂制药集团股份有限公司 中药研究院, 济南 250103

**摘要:** 为探究北豆根配方颗粒抗炎、抗肿瘤有效成分及作用机制, 采用超高效液相色谱—飞行时间质谱联用 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 技术对其化学成分进行分析鉴定; 筛选北豆根配方颗粒主要活性成分和抗炎、抗肿瘤作用对应的靶点, 构建“药物—有效成分—靶点”和核心蛋白相互作用 (PPI) 网络, 对关键靶点进行基因本体论 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 并进行分子对接验证, 结果表明: 北豆根配方颗粒共鉴定出 33 个生物碱类化合物, PPI 分析发现 HSP90AA1, SRC, STAT3 等为北豆根配方颗粒抗炎作用核心靶点, MAPK8, MAPK14, CDK2 等为抗肿瘤作用核心靶点, KEGG 通路富集分析发现北豆根配方颗粒抗炎、抗肿瘤作用与癌症信号通路、表皮生长因子受体信号通路、内分泌等相关, 分子对接结果显示: 7 个代表性化学成分与 7 个核心靶点均具有较低的结合能, 综上所述, 本研究首次基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对北豆根配方颗粒化学成分进行全面分析鉴定, 并通过网络药理学和分子对接技术探讨其发挥抗炎、抗肿瘤作用的有效成分及作用机制, 为北豆根配方颗粒药效物质基础研究奠定基础, 为其质量控制与临床应用提供参考依据。

**关键词:** 北豆根; 配方颗粒; 化学成分; 网络药理学;

UPLC-Q-TOF-MS/MS; 分子对接

中图分类号: R917

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2024)11-0227-14

# Analysis of Anti-inflammatory, Anti-tumor Active Components of Menispermum Rhizoma Formula Granules

## ——Based on UPLC-Q-TOF-MS and Network Pharmacology

收稿日期: 2024-02-22

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2021CXGC010511).

作者简介: 刘册家, 博士研究生, 高级工程师, 从事中药质量控制工作.

通信作者: 孟兆青, 博士, 正高级工程师; 曹桂云, 博士, 正高级工程师.

LIU Cejia, LIU Yukang, ZHANG Jinghua, YAO Yuancheng,  
LI Jinxin, ZHANG Fengchao, LIU Xingcun,  
ZHANG Yuwei, CAO Guiyun, MENG Zhaoqing

Academy of traditional Chinese Medicine, ShandongHongjitang Pharmaceutical Group Co. Ltd., Jinan 250103, China

**Abstract:** The aim of this study was to explore the anti-inflammatory, anti-tumor active components of *Menispermum Rhizoma* formula granules and their mechanisms of action. Ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS) was used to analyze the chemical components of *Menispermum Rhizoma* formula granules. The targets corresponding to the anti-inflammatory and anti-tumor effects of *Menispermum Rhizoma* formula granules were screened and drug active ingredients-target genes network and the key protein-protein interaction (PPI) network were constructed. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of key targets were performed. The molecular docking verification was performed. Finally, molecular docking technology was employed to verify the results of network analysis. The results showed that a total of 33 alkaloid compounds were identified in *Menispermum Rhizoma* formula granules. PPI analysis found that HSP90AA1, SRC, STAT3, etc. were the core targets of anti-inflammatory, and MAPK8, MAPK14, CDK2, etc. were the core anti-tumor targets. KEGG enrichment analysis found that the anti-inflammatory and anti-tumor effects of *Rhizoma Menispermum* formula granules were related to cancer signaling pathway, epidermal growth factor receptor signaling pathway and endocrine. The results of molecular docking showed low docking energies of 7 representative chemical components with 7 core targets. In summary, this study is the first to comprehensively analyze and identify the chemical components of *Menispermum Rhizoma* formula granules based on UPLC-Q-TOF-MS/MS technology, and explore the effective ingredients and mechanisms of its anti-inflammatory and anti-tumor effects through network pharmacology and molecular docking, which laid a foundation for the basic research on the pharmacodynamic substances of *Menispermum Rhizoma* formula granules and provided a reference for quality control and clinical use.

**Key words:** *Menispermum Rhizoma*; formula granules; chemical components; network pharmacology; UPLC-Q-TOF-MS; molecular docking

北豆根是防己科植物蝙蝠葛(*Menispermum dauricum* DC.)的干燥根茎,始载于《中国药植志》<sup>[1]</sup>,其对咽喉肿痛、肠炎、痢疾、风湿痹痛等疾病有明确的治疗作用,因而被收载于《中华人民共和国药典》<sup>[2]</sup>。北豆根中含有生物碱类、酚酸类、挥发油、多糖等多种成分,其中生物碱类是主要活性成分,包括氧化异阿朴菲类、双苄基异喹啉类、原小檗碱类、吗啡烷类等<sup>[3]</sup>。现代药理研究表明,北豆根具有抗炎<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5]</sup>、抗心律失常<sup>[6]</sup>、抗脑缺血<sup>[1,7]</sup>、抗阿尔兹海默症<sup>[8]</sup>、免疫调节<sup>[9]</sup>等多种药理作用。其提取物已被开发成多种制剂,如北豆根片、北豆根胶囊,用于治疗咽喉肿痛、扁桃体炎、支气管炎等,取得了良好的临床效果。

北豆根配方颗粒是以北豆根饮片投料,经水提取、浓缩、干燥和制粒而成,在易用性方面优于传统煎煮方式,大大提高了患者用药的顺应性。虽然目前北豆根配方颗粒已经在临床上广泛应用,但仅有其

质量标准的研究报道<sup>[10]</sup>,尚无系统性的化学成分研究.北豆根配方颗粒经过水提取制得,其化学成分、物质基础必然与药材、饮片有较大差异,因此亟需对北豆根配方颗粒的活性成分、药理作用及作用机制进行研究.

本研究首次建立了一种高效、灵敏的超高效液相色谱—飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS/MS)技术对北豆根配方颗粒化学成分进行鉴定,并通过网络药理学、分子对接技术筛选北豆根配方颗粒中的抗炎、抗肿瘤主要活性成分并进行靶点预测,构建“药物—有效成分—靶点”之间的相互作用关系,初步阐述其抗炎、抗肿瘤机制,旨在为更全面地研究北豆根配方颗粒的物质基础、药理作用、作用机制提供参考,为其质量控制、临床应用提供依据.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与amp;仪器

#### 1.1.1 主要药品与amp;试剂

北豆根配方颗粒(山东宏济堂制药集团股份有限公司,批号 2010001).青藤碱、蝙蝠葛碱(山东沃德森生物科技有限公司,批号分别为 WDS170062-202006, WDS020017-202005,纯度均 $\geq 98.0\%$ ),异紫堇定碱、紫堇达明碱(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 J26HB175042, J21HB188701,纯度分别 $\geq 98.0\%$ ,  $\geq 95.0\%$ ),木兰花碱(上海鸿永生物科技有限公司,批号为 130015-202105,纯度 $\geq 98.0\%$ ),左旋千金藤定碱(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号 16562-13-3,纯度 $\geq 98.0\%$ ),蝙蝠葛苏林碱(江苏永健医药科技有限公司,批号 200470-210103,纯度 94.4%),粉防己碱(中国食品药品检定研究院,批号 110711-201810,纯度 $\geq 98.0\%$ ).乙腈、甲醇均为质谱级(美国 Fisher Scientific 公司,批号分别为 215625, 222631),乙酸(天津市科密欧化学试剂有限公司, HPLC 级,批号 20210510),超纯水为屈臣氏水.

#### 1.1.2 仪器

试验所用到的仪器主要有:Agilent 1290 型高效液相色谱系统(美国 Agilent 科技有限公司),6530 Q-TOF 质谱仪(美国 Agilent 科技有限公司),KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),BSA224S-CW 电子天平(国别赛多利斯科技仪器有限公司),XS105 电子天平(METTLER TOLEDO).

### 1.2 方法

#### 1.2.1 北豆根配方颗粒成分解析

1) 供试品溶液的制备.取北豆根配方颗粒适量,研细,精密称定 0.2 g,置具塞锥形瓶中,加入 50% 甲醇 25 mL,回流提取 30 min,放冷,摇匀,过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,即得.

2) 混合对照品溶液的制备.取对照品适量,置于量瓶中,加甲醇制成混合对照品溶液,超声使对照品完全溶解,过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,即得.

3) 色谱条件.色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ),以甲醇(A)—5 mmol/L 的乙酸水溶液(B)为流动相.梯度洗脱:0~2 min, 5% A; 2~6 min, 5%~15% A; 6~10 min, 15%~20% A; 10~18 min, 20%~60% A; 18~20 min, 60% A; 20~30 min, 60%~90% A.流速为 0.3 mL/min,波长为 290 nm,进样量为 1  $\mu\text{L}$ ;柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ .

4) 质谱条件.正离子模式,电喷雾电离(ESI),毛细管电压为 4 000 V,雾化器压力为 35 Psi,干燥气体温度为 300  $^{\circ}\text{C}$ ,流速为 8 L/min.数据采集和处理采用 Agilent MassHunter Qualitative Analysis Navigator(VB.08.00)软件(美国 Agilent 科技有限公司).

5) 化合物结构鉴定.按照上述条件对供试品进行检测,得到正离子模式下质谱数据,采用 Agilent

MassHunter Qualitative Analysis Navigator B. 08. 00 质谱分析软件进行数据采集, 根据保留时间、分子式和裂解规律等信息确认化学成分及结构信息, 并推导化合物的质谱裂解规律.

### 1. 2. 2 基于网络药理学预测北豆根配方颗粒抗炎、抗肿瘤作用机制

1) 潜在活性组分数据库的构建. 通过中药系统药理学分析平台(TCMSP)(<https://old.tcmsp-e.com/>)检索北豆根配方颗粒中化学成分, 按  $OB \geq 30\%$ ,  $DL \geq 0.18$  为条件进行初步筛选. 并根据本试验化学成分鉴定结果, 选择配方颗粒中含量较高的化学成分, 构建北豆根配方颗粒潜在活性成分数据库.

2) 北豆根配方颗粒活性成分靶点预测与疾病靶点收集. 将筛选的化学成分输入 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取 SMILES 格式, 将其导入 SwissTargetPrediction 数据库中(<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 获取成分靶点信息. 在 DisGeNET 数据库(<https://www.disgenet.org>)和 GeneCard 数据库(<http://www.genecard.org/>)中以抗炎“*Inflammation*”和抗肿瘤“*Tumor*”为关键词进行搜索, 分别收集整理为抗炎、抗肿瘤基因靶点. 将活性成分靶点和疾病靶点取交集即为北豆根配方颗粒抗炎、抗肿瘤作用的潜在靶点.

3) “药物—有效成分—靶点”网络的构建与分析. 为明确北豆根配方颗粒中活性成分与疾病之间的联系, 将潜在活性成分和疾病基因导入 Cytoscape 3. 9. 1 软件绘制“药物—有效成分—靶点”可视化网络图.

4) 蛋白相互作用网络(PPI)构建及核心靶点筛选. 将交集靶点导入 STRING 平台(<https://cn.string-db.org/>), 获取蛋白相互作用网络. 下载 PPI 相互作用关系文件并导入 Cytoscape 3. 9. 1 软件中进行网络图优化和拓扑学分析, 并计算各靶点的度值(*degree*)、介度(*betweenness*)、紧密度(*closeness*), 选取三者平均数以上的交集靶点为关键核心靶点.

5) 交集靶点的功能和通路富集分析. 将交集靶点导入 Metascape 数据库进行基因本体论(*gene ontology*, GO)和京都基因与基因组百科全书(*kyoto encyclopedia of genes and genomes*, KEGG)通路富集分析, 选择物种为“*Homo sapiens*”, 通过微生信在线平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)进行可视化作图.

### 1. 2. 3 分子对接

北豆根配方颗粒主要为生物碱类化学成分, 选取了蝙蝠葛苏林碱、千金藤定碱、木兰花碱、青藤碱、蝙蝠葛碱、异紫堇定碱、紫堇达明碱作为代表性成分与酪氨酸激酶 SRC 等核心靶点进行分子对接. 从 PubMed 中获取 7 个代表性化合物的二级结构, 通过 Open Babel 2. 4. 1 将其转化为 PDB 格式, 并通过 AutoDock Tools 1. 5. 7 对 PDB 格式的文件进行加电荷处理, 作为对接配体保存为 PDBQT 文件. 从 RCSB PDB 数据库中下载 SRC, ERBB2, MAPK8, MAPK3, HSP90AA1, STAT3 和 CDK2 受体蛋白的 3D 结构, 将受体蛋白通过 pymol 软件去除蛋白原有的配体以及水分子、氯原子、金属原子等非蛋白分子, 保存为 PDB 格式. 将输出的 PDB 格式的蛋白用 AutoDock Tools 1. 5. 7 软件进行加氢处理, 最终保存为 PDBQT 文件. 用 Autodock Vina 1. 1. 2 将 7 个配体分别与 7 个受体蛋白进行分子对接. 最后选取了蝙蝠葛苏林碱作为代表性活性成分, 进行其与 7 个受体蛋白的可视化分析.

## 2 结果与分析

### 2. 1 北豆根配方颗粒成分鉴定

通过比对北豆根药材、饮片中化合物保留时间、准分子离子、二级碎片离子及化合物裂解规律的质谱信息, 共鉴定出 33 个化合物(表 1), 包括 9 个阿朴菲类和氧化异阿朴菲类、8 个单苄基异喹啉类、8 个双苄基异喹啉类、4 个吗啡烷类、3 个原小檗碱类化合物和 1 个简单喹啉类, 其中 8 个化合物与对照品进行对照确认.

表 1 北豆根配方颗粒化学成分

序号	保留时间 ( $t_R$ )	化合物名称	[M+H] <sup>+</sup> /[M] <sup>+</sup>		误差	分子式	主要离子碎片 ( $m/z$ )	化合物 分类
			理论值 ( $m/z$ )	实测值 ( $m/z$ )				
1	4.330	1-表去氯尖防己碱	364.176 0	364.175 4	-1.65	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	289.108 5	f
2	5.442	青藤定	384.121 4	384.121 5	0.26	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>6</sub>	341.078 7, 305.101 8, 277.107 4, 287.092 1	f
3	5.519	去甲基乌药碱	272.128 7	272.128 7	0.00	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub>	255.102 3, 107.049 8	d
4*	6.050	青藤碱	330.170 5	330.170 2	-0.91	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	271.097 3, 255.101 4, 239.069 8, 223.075 1	f
5	6.166	蝙蝠葛明	398.137 0	398.136 8	-0.50	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> ClNO <sub>6</sub>	362.157 7, 341.079 2, 305.102 5, 287.092 1, 277.108 7, 273.073 7	f
6	6.514	peppone	314.139 2	314.140 2	3.18	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	282.111 1, 296.127 7, 151.074 8	g
7	7.073	pseudolaudanine	344.186 2	344.186 8	1.74	C <sub>20</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	151.074 8	d
8	7.145	乌药碱	286.144 3	286.143 9	-1.40	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	107.049 5	d
9	7.206	2,3-二氢蝙蝠葛宁碱	354.134 1	354.134 0	-0.28	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>	339.110 6, 296.091 9	b
10*	7.239	异紫堇定碱	342.170 5	342.170 0	-1.46	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	311.128 2, 297.111 9, 279.100 9, 265.085 5	a
11	7.244	N-甲基乌药碱	300.160 0	300.159 6	-1.33	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	269.118 7, 107.048 5	d
12	7.261	光千金藤碱	298.144 3	298.144 0	-1.01	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	269.119 6	a
13*	7.537	木兰花碱	342.170 0	342.170 7	2.05	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	282.088 3, 279.100 9, 265.085 5, 237.090 8	a
14	7.537	蝙蝠葛新可林碱	597.296 5	597.296 1	-0.67	C <sub>36</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	554.248 5, 192.101 3, 160.075 3	e
15	7.537	romneine	342.170 5	342.170 7	0.58	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	297.113 7	d
16*	7.803	千金藤定碱	328.154 9	328.155 6	2.13	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	313.131 1, 192.103 4, 151.075 1	g
17	8.367	莲心季胺碱	314.175 1	314.175 5	1.27	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	282.149 1, 269.117 2, 237.091 0	d
18	8.367	杏黄罂粟碱	314.175 6	314.175 5	-0.32	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	107.048 4	d
19	8.577	(1R, 1'R)-dauricisoline A	625.327 3	625.327 7	0.64	C <sub>38</sub> H <sub>45</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	206.117 0, 192.101 8	e
20	8.687	(1R, 1'R)-dauricisoline E	639.342 9	639.343 2	0.47	C <sub>39</sub> H <sub>47</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> <sup>+</sup>	608.298 8, 596.298 6	e
21	8.820	(-)-pseudocurine	595.280 8	595.280 1	-1.18	C <sub>36</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	192.100 8	e
22	8.909	cissampentine A	609.296 5	609.293 8	-4.43	C <sub>37</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	192.101 3	e
23*	8.909	蝙蝠葛苏林碱	611.312 1	611.313 1	1.64	C <sub>37</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	580.269 3, 568.269 0, 213.092 4, 206.117 5, 192.102 3, 177.080 2	e
24	9.097	蝙蝠葛任碱	356.185 7	356.186 6	2.53	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> NO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	324.158 6, 311.125 3, 279.099 2, 251.104 4, 248.080 8	a
25*	9.263	紫堇达明碱	342.170 5	342.170 0	-1.46	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	298.108 1, 192.101 5	g
26*	9.478	蝙蝠葛碱	625.327 8	625.328 9	1.76	C <sub>38</sub> H <sub>44</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	594.284 6, 582.284 7, 580.270 1, 213.090 5, 206.118 1	e
27	9.904	白蓬叶灵	208.097 4	208.097 2	-0.96	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	196.098 3	c
28	10.274	二氢蝙蝠葛啡碱	324.123 6	324.123 0	-1.85	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>	309.098 4	b
29	10.335	蝙蝠葛啡碱	322.107 9	322.107 4	-1.55	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>	307.086 0, 306.075 9, 294.110 4, 279.090 5, 278.080 9, 250.086 2	b
30*	11.778	粉防己碱	623.312 1	623.312 8	1.12	C <sub>38</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	381.181 9, 192.100 8, 174.091 3	e
31	12.519	menidaurine A	434.196 7	434.197 1	0.92	C <sub>26</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>5</sub>	403.154 0, 227.072 6, 206.115 8	d
32	17.810	蝙蝠葛定碱	306.076 6	306.075 3	-4.25	C <sub>18</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>4</sub>	263.056 0	b
33	21.504	蝙蝠葛宁碱	352.118 5	352.118 1	-1.14	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	308.089 4, 294.077 0	b

注: \* 表示通过对照品对比确认, a 为阿朴非类, b 为氧化异阿朴非类, c 为简单异喹啉类, d 为苜蓿基异喹啉类, e 为双苜蓿基异喹啉类, f 为吗啡烷类, g 为原小檗碱类。

### 2.1.1 单苄基异喹啉类

单苄基异喹啉类是以 1-苄基异喹啉为母核所衍生出来的, 这类生物碱并没有大  $\pi$  共轭系统, 容易发生母核骨架断裂, 并根据苄基所连接的不同基团形成  $m/z$  107, 137, 151 特征碎片. 现以化合物 3 为例进行裂解规律分析. 化合物 3 保留时间为 5.519 min, 准分子离子峰为  $m/z$  272.128 3  $[M+H]^+$ , 二级质谱可见碎片离子  $m/z$  255.102 3  $[M+H-NH_3]^+$ , 107.049 8  $[M+H-C_9H_{11}NO_2]^+$ , 结合相关文献<sup>[11-12]</sup> 推测为去甲基乌药碱, 分子式为  $C_{16}H_{17}NO_3$ . 去甲基乌药碱可能的裂解途径见图 1.

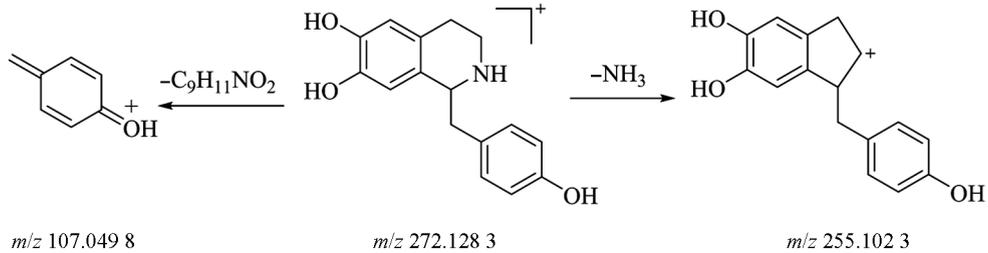


图 1 去甲基乌药碱的质谱裂解规律

### 2.1.2 双苄基异喹啉类

双苄基异喹啉类生物碱是通过氧桥将两个苄基四氢异喹啉连接组成的生物碱, 由于醚键数目、芳香氧基数目、氧桥性质等不同, 导致其结构多变<sup>[13-14]</sup>. 化合物 30 保留时间为 11.778 min, 准分子离子峰为  $m/z$  623.312 8  $[M+H]^+$ , 二级质谱可见碎片离子  $m/z$  381.181 9  $[M+H-C_{16}H_{18}O_2]^+$ , 192.100 8  $[M+H-C_{27}H_{29}NO_4]^+$ , 174.091 3  $[M+H-C_{27}H_{31}NO_5]^+$ , 结合对照品和相关文献推测为粉防己碱, 分子式为  $C_{38}H_{42}N_2O_6$ <sup>[15]</sup>. 粉防己碱可能的裂解途径见图 2.

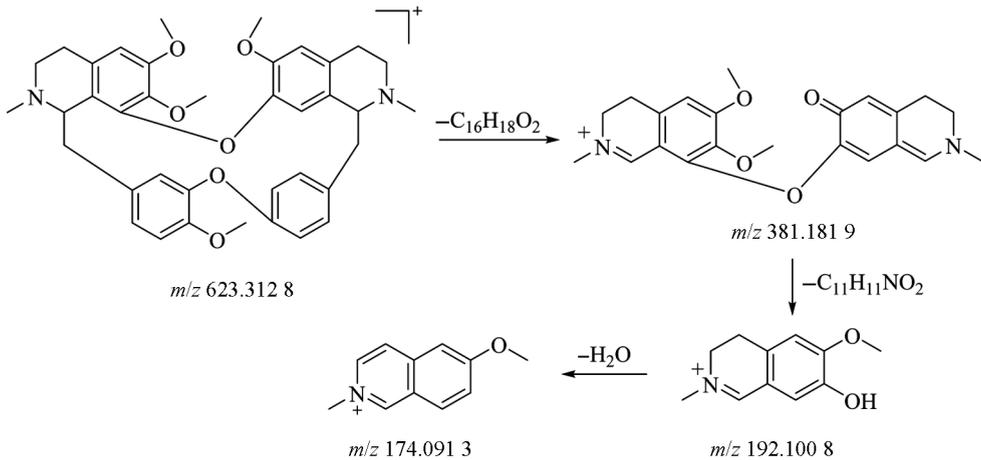


图 2 粉防己碱的质谱裂解规律

### 2.1.3 阿朴菲类及氧化异阿朴菲类

从北豆根配方颗粒中鉴定出 4 个阿朴菲类化合物和 5 个氧化异阿朴菲类化合物. 阿朴菲类化合物具有联苯型的四环特殊结构, 并含有不同的氧化态和取代基<sup>[16]</sup>, 而氧化异类阿朴菲类中均含有 1 个 1-氮杂苯并蒽酮结构<sup>[17]</sup>. 这 2 类化合物与苄基异喹啉类生物碱的质谱裂解规律相似, 但是阿朴菲类生物碱不会发生母核骨架的断裂, 只可能在侧链会发生断裂或重组. 现以化合物 13, 33 为例进行裂解规律分析. 化合物 13 保留时间为 7.537 min, 准分子离子峰为  $m/z$  342.170 7  $[M]^+$ , 二级质谱可见碎片离子  $m/z$  282.088 3  $[M-C_2H_7N-CH_3 \cdot]^+$ , 265.085 5  $[M-C_2H_7N-CH_3OH]^+$ , 237.090 8  $[M-C_2H_7N-CH_3OH-CO]^+$ , 结合对照品和相关文献推测为木兰花碱<sup>[18]</sup>, 分子式为  $C_{20}H_{24}NO_4^+$ . 化合物 33 的保留时间为 21.504 min, 准分子离子峰为  $m/z$  352.118 5, 二级质谱中主要碎片离子峰有  $m/z$  308.089 4  $[M+H-CH_3-CO]^+$ ,

294.077 0[M+H-CH<sub>3</sub>-CO-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 结合相关文献推测为蝙蝠葛宁碱<sup>[19]</sup>, 分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>. 木兰花碱可能的裂解途径见图 3.

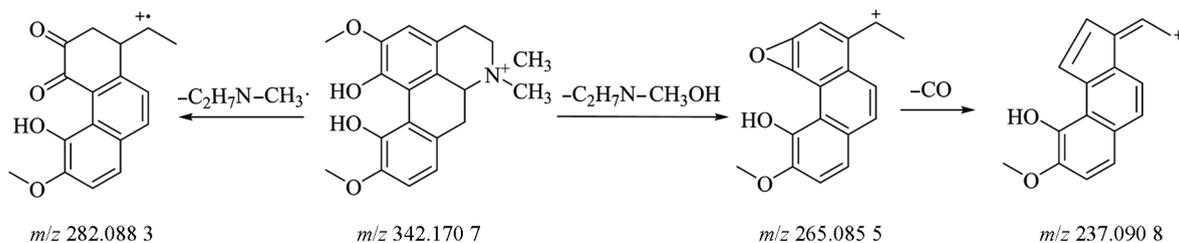


图 3 木兰花碱的质谱裂解规律

### 2.1.4 吗啡烷类

吗啡烷类是由苜基异喹啉经过碳碳偶联、酚羟基氧化等过程衍生而来的一类具有部分饱和菲核的具四环基本骨架的生物碱<sup>[20]</sup>, 是目前临床上用于镇痛的主要成分之一<sup>[21]</sup>. 现以化合物 4 为例进行裂解规律分析. 化合物 4 保留时间为 6.050 min, 准分子离子峰为  $m/z$  330.170 2[M+H]<sup>+</sup>, 二级质谱可见碎片离子为  $m/z$  271.097 3[M+H-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>N]<sup>+</sup>, 255.101 4[M+H-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>NO]<sup>+</sup>, 239.069 8[M+H-C<sub>4</sub>H<sub>13</sub>NO]<sup>+</sup>, 223.075 1[M+H-C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>N]<sup>+</sup>. 结合对照品和相关文献推测为青藤碱<sup>[22]</sup>, 分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>. 青藤碱可能的裂解途径见图 4.

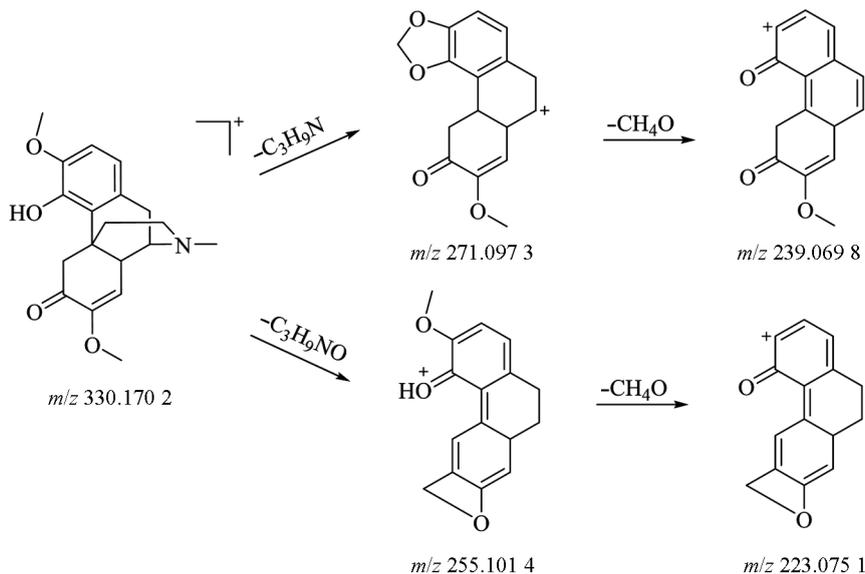


图 4 青藤碱的质谱裂解规律

### 2.1.5 原小檗碱类

这类生物碱不存在大  $\pi$  共轭系统, 母核容易发生逆狄尔斯-阿德尔(RDA)裂解, 出现  $m/z$  200 以下碎片峰<sup>[23]</sup>, 现以化合物 16 为例进行裂解规律分析. 化合物 16 保留时间为 7.803 min, 准分子离子峰为  $m/z$  328.155 6[M+H]<sup>+</sup>, 二级质谱可见碎片离子为  $m/z$  313.131 1[M+H-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 192.103 4[M+H-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 151.075 1[M+H-C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. 结合对照品和相关文献推测为千金藤啶碱<sup>[23]</sup>, 分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>. 千金藤啶碱可能的裂解途径见图 5.

## 2.2 基于网络药理学预测北豆根配方颗粒目标成分抗炎、抗肿瘤作用机制

### 2.2.1 北豆根配方颗粒活性成分及靶点筛选

根据 OB, DL 值筛选出 9 个活性成分: 去甲基乌药碱、衡州乌药碱、异紫堇定碱、千金藤定碱、杏黄罂粟碱、蝙蝠葛明、青藤碱、紫堇达明碱、光千金藤碱; 并在此基础上, 筛选出 5 个含量较高且类药性较好的

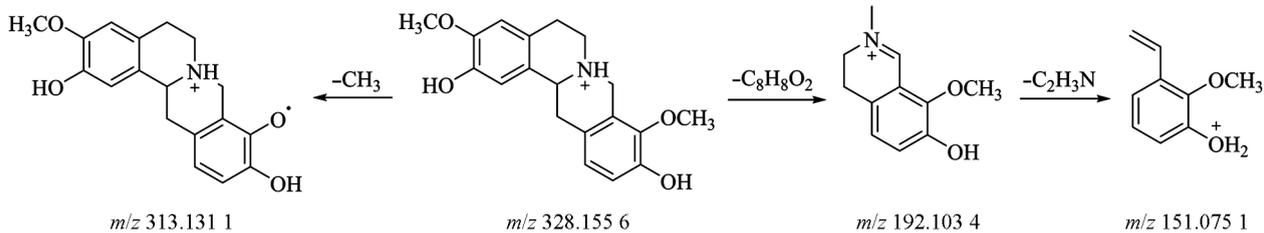


图 5 千金藤啞碱的质谱裂解规律

活性成分：蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱、木兰花碱、青藤定、莲心季铵碱；共计 14 个活性成分。通过 SwissTargetPrediction 和 Uniprot 数据库筛选出与 14 个活性成分相关的靶点共 339 个。通过 DisGeNET 和 GeneCard 数据库获得抗炎相关靶点 1 998 个、抗肿瘤相关靶点 2 300 个。将成分和疾病靶点通过 Venny 2.1 分析后得到抗炎相关共同靶点 146 个、抗肿瘤相关共同靶点 138 个。

### 2.2.2 “药物—有效成分—靶点”网络构建

构建北豆根配方颗粒“药物—有效成分—靶点”网络，见图 6，抗炎网络中共包括 161 个节点、394 条相互关系，抗肿瘤网络中共包括 153 个节点、345 条相互关系。对网络图进行拓扑学分析，依照度值排名靠前的抗炎成分主要有木兰花碱、异紫堇定碱、蝙蝠葛苏林碱、紫堇达明碱、千金藤定碱、蝙蝠葛碱、杏黄罂粟碱；抗肿瘤成分主要有千金藤定碱、异紫堇定碱、蝙蝠葛苏林碱、木兰花碱、蝙蝠葛碱、紫堇达明碱、杏黄罂粟碱、青藤碱，表明北豆根配方颗粒可能通过多组分协同发挥抗炎、抗肿瘤作用，且主要组分基本相同。

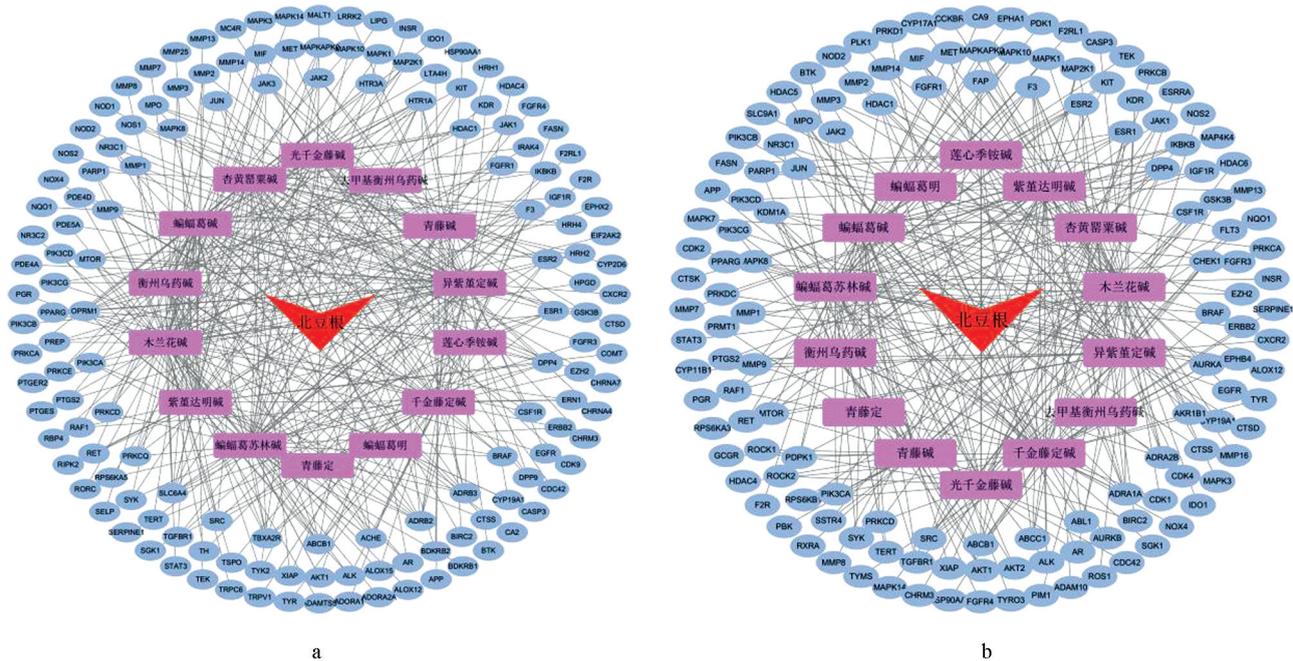


图 6 北豆根配方颗粒抗炎(a)、抗肿瘤(b)有效成分—靶点网络图

### 2.2.3 PPI 网络构建及核心靶点筛选

北豆根配方颗粒抗炎、抗肿瘤 PPI 网络图见图 7。如图所示，抗炎网络中共包括 128 个节点、690 条相互关系，排名前 10 的靶点分别为 HSP90AA1, SRC, STAT3, MAPK3, MAPK1, PIK3CA, EGFR, AKT1, JUN, MAPK8。抗肿瘤网络中共包括 127 个节点、858 条相互关系，排名前 10 的靶点分别为 MAPK8, MAPK14, CDK2, ERBB2, EGFR, HSP90AA1, JUN, HDAC1, SRC, AKT1。

### 2.2.4 GO 功能分析

利用 David 数据库对抗炎作用相关共同靶点和抗肿瘤作用相关共同靶点进行 GO 富集分析，选取生物

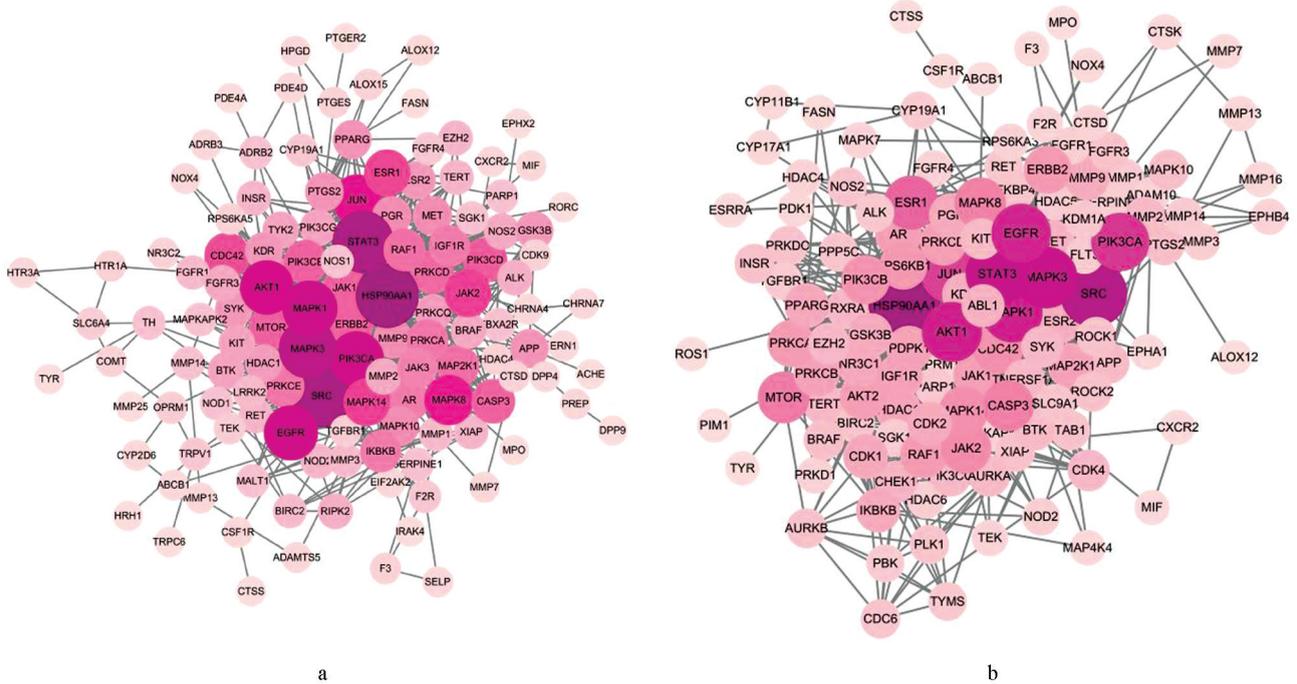


图 7 北豆根配方颗粒抗炎(a)、抗肿瘤(b)作用靶点 PPI 网络图

过程(biological process, BP)、细胞组成(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)中 *p* 值排名前 10 的条目导入微生信在线软件, 绘制 GO 生物功能富集条形图, 如图 8 所示. 抗炎作用 GO 功能分析揭示了 595 个生物过程, 主要包括蛋白质磷酸化、丝裂原活化蛋白激酶级联的正向调节、炎症反应; 83 个细胞组成, 主要涉及细胞质膜、受体复合物、质膜的组成成分等; 138 个分子功能, 主要涉及蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、三磷酸腺苷结合等. 抗肿瘤作用 GO 功能分析最终得到 835 个条目, 其中 BP 条目 615 个, 主要与蛋白质磷酸化、蛋白质自磷酸化、肽基丝氨酸磷酸化等功能有关; CC 条目 87 个, 主要涉及受体复合物、质膜、细胞质基质等; MF 条目 133 个, 主要涉及蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、三磷酸腺苷结合、蛋白激酶活性等.

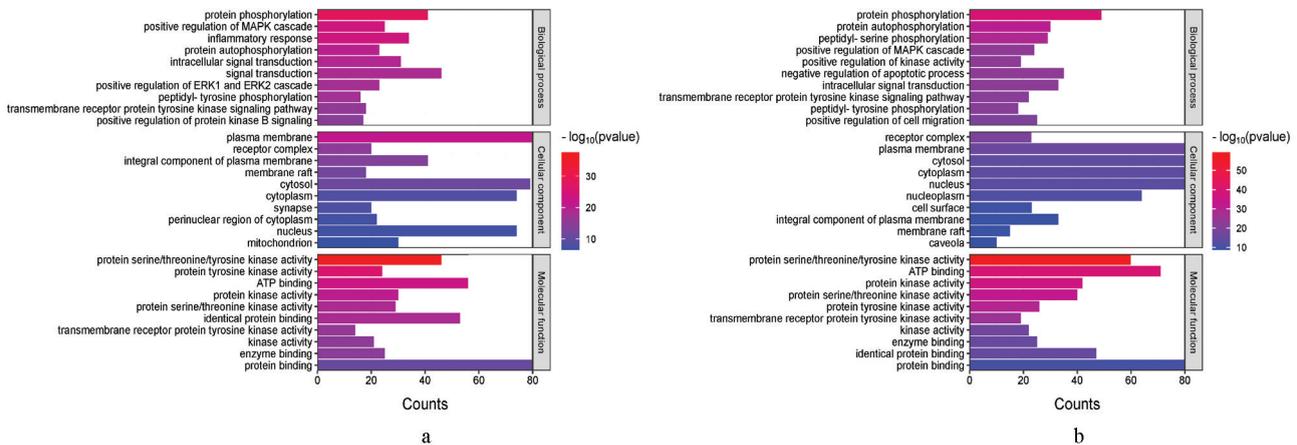


图 8 北豆根配方颗粒抗炎(a)、抗肿瘤(b)作用 GO 功能分析

### 2.2.5 KEGG 通路富集分析

KEGG 通路富集分析可知, 北豆根配方颗粒抗炎作用、抗肿瘤作用可能与癌症信号通路(Pathways in cancer)、表皮生长因子受体信号通路(EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)、内分泌(Endocrine resistance)、AGE-RAGE 信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)等相关. 北豆根配方颗粒发挥抗炎、抗肿瘤作用的途径可能相似(图 9).

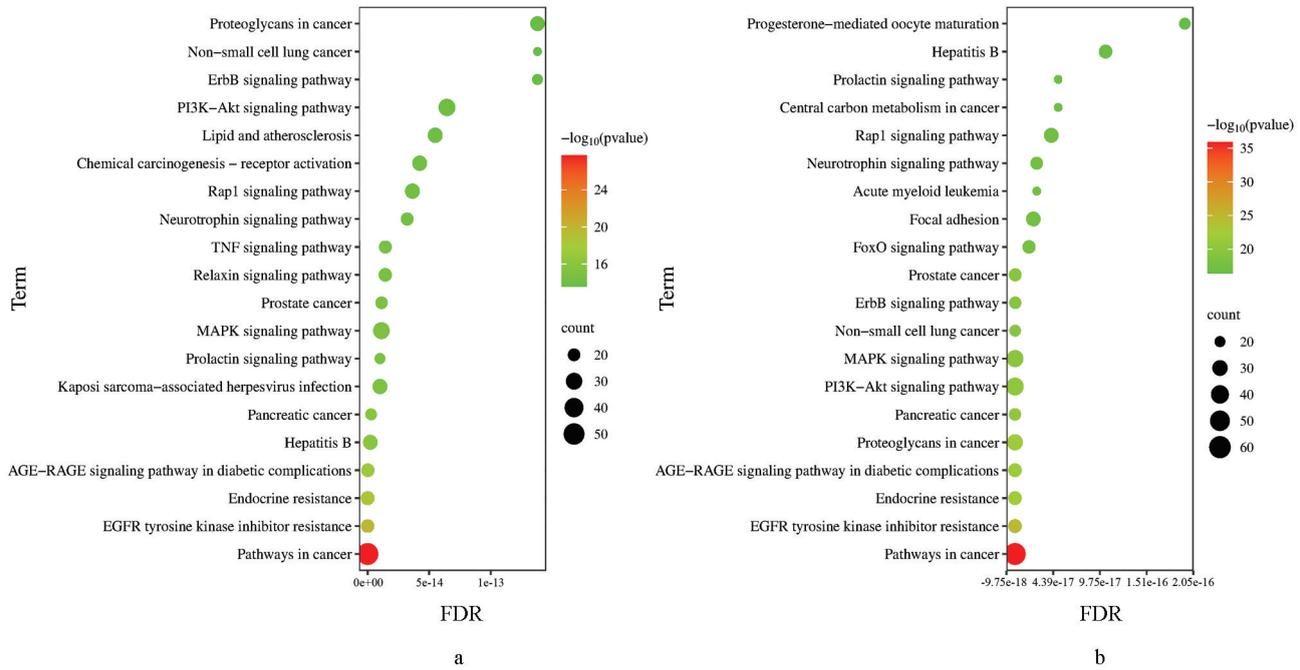


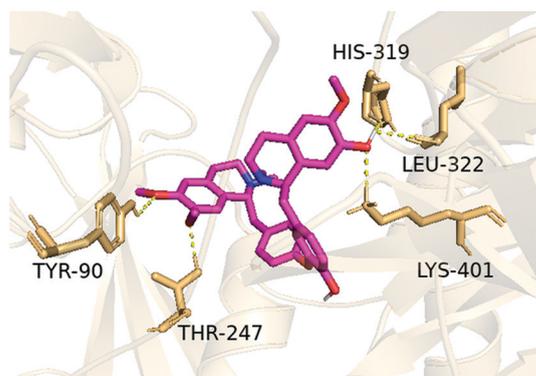
图 9 北豆根配方颗粒抗炎(a)、抗肿瘤(b)作用 KEGG 富集分析

### 2.3 分子对接

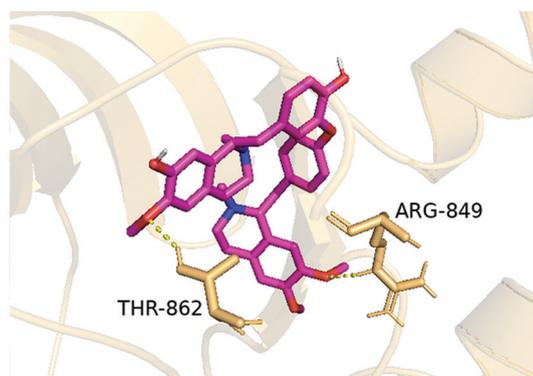
一般认为结合能小于 0 时表明配体可以自发地与受体结合,且能量越低,结合的可能性越大.当结合能小于  $-5.0$  kcal/mol 时说明配体具有良好的结合活性,小于  $-7.0$  kcal/mol 说明具有强烈的结合活性,且数值越低表明结合强度越大<sup>[24]</sup>. 7 个代表性成分均为网络药理学筛选出来抗炎、抗肿瘤主要成分,且经对照品比对,其与 7 个核心靶点的分子对接结果见表 2,结合能均低于  $-5.0$  kcal/mol,说明 7 个成分均可以较好地与靶点结合.其中蝙蝠葛苏林碱、千金藤定碱、木兰花碱与 SRC, ERBB2, MAPK8, MAPK3, HSP90AA1, STAT3 和 CDK2 的结合能均低于  $-7.0$  kcal/mol,表明该成分与以上核心靶点结合能力较强,潜在生物活性较高.蝙蝠葛苏林碱与靶点的分子对接可视化结果见图 10.如图 10 所示, SRC 与蝙蝠葛苏林碱形成氢键的作用位点包括 TYR-90, THR-247, LYS-401, LEU-322, HIS-319; ERBB2 与蝙蝠葛苏林碱形成氢键的作用位点为 THR-862 和 ARG-849; MAPK8 与蝙蝠葛苏林碱形成氢键的作用位点为 ASN-114; MAPK3 与蝙蝠葛苏林碱形成氢键的作用位点为 LYS-71 和 LYS-168; HSP90AA1 与蝙蝠葛苏林碱形成氢键的作用位点为 LYS-58; STAT3 与蝙蝠葛苏林碱形成氢键的作用位点包括 LEU-260, GLN-247, GLU-324, GLN-326, ALA-250; CDK2 与蝙蝠葛苏林碱形成氢键的作用位点为 LEU-83.

表 2 分子对接结合能结果

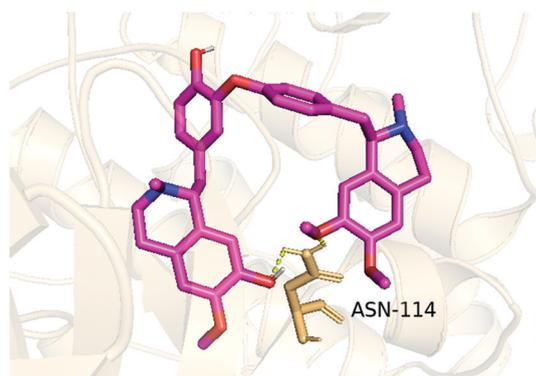
化合物名称	SRC	ERBB2	MAPK8	MAPK3	HSP90AA1	STAT3	CDK2	kcal/mol
蝙蝠葛苏林碱	-10.0	-10.1	-7.6	-10.7	-8.4	-8.2	-10.3	
千金藤定碱	-8.2	-8.5	-8.1	-9.3	-7.4	-7.3	-9.1	
木兰花碱	-9.1	-8.9	-7.9	-10.0	-8.8	-7.1	-9.4	
青藤碱	-7.1	-7.0	-6.9	-7.4	-6.8	-7.2	-6.6	
蝙蝠葛碱	-9.6	-9.4	-5.7	-11.2	-10.2	-7.1	-9.6	
异紫堇定碱	-8.3	-9.1	-8.4	-9.5	-8.0	-5.9	-9.2	
紫堇达明碱	-9.1	-8.4	-6.8	-9.3	-9.0	-7.3	-9.0	



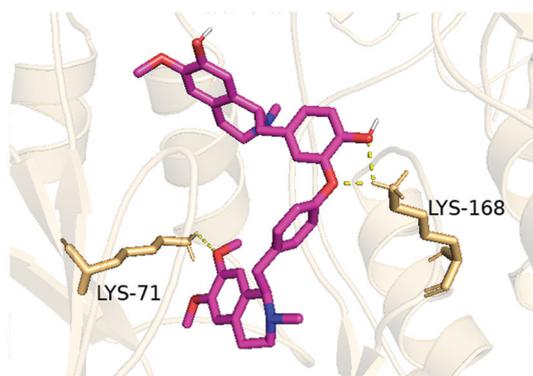
a. 蝙蝠葛苏林碱-SRC



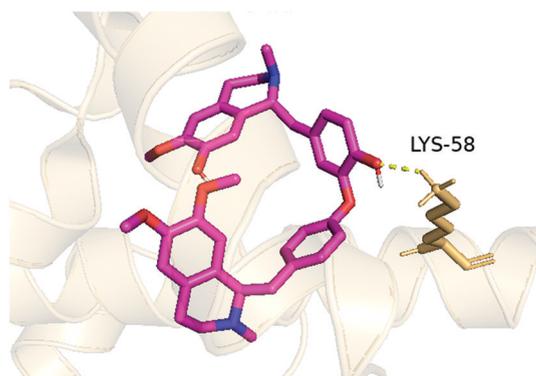
b. 蝙蝠葛苏林碱-ERBB2



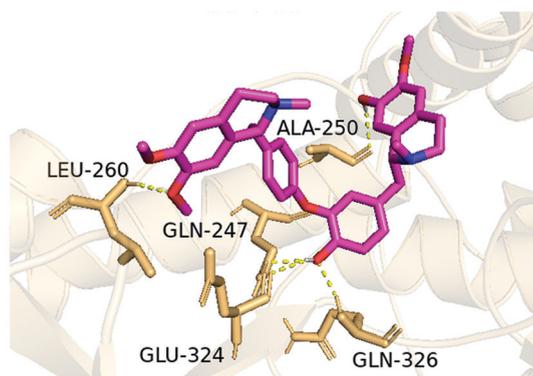
c. 蝙蝠葛苏林碱-MAPK8



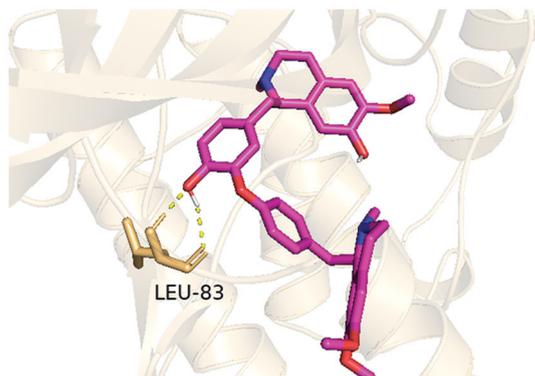
d. 蝙蝠葛苏林碱-MAPK3



e. 蝙蝠葛苏林碱-HSP90AA1



f. 蝙蝠葛苏林碱-STAT3



g. 蝙蝠葛苏林碱-CDK2

图 10 蝙蝠葛苏林碱与核心靶点的分子对接

## 3 讨论与结论

### 3.1 讨论

北豆根配方颗粒作为新型中药饮片已经获得广泛的应用,但其化学物质基础及作用机制研究仍然滞后,不利于其质量控制及在临床的进一步推广.为了阐明北豆根配方颗粒的功物质基础与作用机制,从而确保临床用药的安全性和有效性,本试验首次采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对北豆根配方颗粒中的化学成分进行系统分析,通过网络药理学和分子对接对其抗炎、抗肿瘤作用机制进行研究.本研究鉴定出包括阿朴菲类、双苄基异喹啉类、吗啡烷类等 33 个生物碱类化合物,并筛选出与北豆根配方颗粒抗肿瘤、抗炎活性相关的主要活性成分为木兰花碱、异紫堇定碱、蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱、紫堇达明碱、千金藤定碱、杏黄罂粟碱.木兰花碱可通过调控 NF- $\kappa$ B,MAPK,PI3K/Akt 信号通路来发挥免疫抑制作用从而对抗炎症<sup>[25]</sup>,也可通过 miR-410-3p,HMGB1,NF- $\kappa$ B 信号通路抑制肿瘤细胞<sup>[26]</sup>.异紫堇定碱发挥抗肿瘤作用与 STAT3,G2/M,ERK 信号通路有关<sup>[27-29]</sup>.蝙蝠葛碱和蝙蝠葛苏林碱为双苄基异喹啉类生物碱,有研究表明二者均可抑制 Ca<sup>2+</sup>-CaM 通路来发挥抗炎作用<sup>[30]</sup>,并通过 PI3K/Akt 信号通路发挥抗肿瘤作用<sup>[31-32]</sup>.

网络药理学研究发现北豆根配方颗粒与肿瘤、炎症的关系最密切的潜在靶点主要有 SRC,STAT3,HSP90AA1,MAPK,AKT1,EGFR,CDK2,ERBB2,JUN 等. SRC 是酪氨酸蛋白激酶家族中的一员,主要介导细胞的生长、分化和凋亡信号的转导,对细胞的正常发育与生长起着重要的调节作用, SRC 通过激活 STAT3 信号,可以加重炎症及相关癌的发生,抑制 SRC 被认为是治疗肿瘤的一种很有前景的方法<sup>[33-34]</sup>. EGFR 是表皮生长因子受体(HER/ERBB)家族成员之一,它在肿瘤无限制生长、抗凋亡、侵袭和转移中发挥重要作用<sup>[35]</sup>, EGFR 已被证明与肿瘤的发生、发展有直接联系<sup>[36]</sup>. HSP90AA1 是热休克蛋白(Heat Shock Protein, HSP)家族的重要成员,它是一种位于人类 14 号染色体上的癌组织基因,其编码的 HSP90 $\alpha$  蛋白与细胞的创伤修复和炎症密切相关,是近年来一直受到高度关注的肿瘤筛查指标<sup>[37-38]</sup>. CDK2 是细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)家族中重要成员之一,可以有序驱动真核生物的细胞周期,其含量或活性直接影响肿瘤细胞的分化、衰老和凋亡<sup>[39-40]</sup>. ERBB2 是受体 ERBB 家族中的一员,是一种跨膜受体酪氨酸激酶,通过下游信号网络,将胞外信号向胞内传导,从而实现了对细胞增殖、分化、迁移和凋亡的调控,目前, ERBB2 已成为肿瘤靶向药物开发的一个有效靶点<sup>[41-42]</sup>. 本试验研究结果均与上述报道一致,并选择了 7 个代表性化学成分进行了分子对接.结果表明,蝙蝠葛苏林碱等 7 个成分均可以较好地与靶点结合,其中蝙蝠葛苏林碱、千金藤定碱、木兰花碱的结合能均低于-7.0 kcal/mol,与核心靶点结合能力较强,潜在生物活性较高,验证了网络药理学的可靠性.

GO 功能富集分析结果表明,核心靶点主要涉及的生物学过程包括蛋白质磷酸化、丝裂原活化蛋白激酶级联的正向调节、炎症反应、蛋白质自磷酸化、肽基丝氨酸磷酸化、激酶活性的正向调节等,这些过程与北豆根配方颗粒所具有的抗炎、抗肿瘤作用相关,表明所鉴定的北豆根配方颗粒成分具有一定的代表性.

### 3.2 结论

本研究鉴定了北豆根配方颗粒化学成分,发现其发挥抗炎、抗肿瘤作用的主要物质基础可能为木兰花碱、异紫堇定碱、蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱、紫堇达明碱、千金藤定碱、杏黄罂粟碱,通过作用于 SRC,STAT3,HSP90AA1,MAPK,AKT1,EGFR,CDK2,ERBB2,JUN 等多个核心靶点发挥抗炎、抗肿瘤作用.以上研究为阐明后续北豆根配方颗粒物质基础、作用机制、临床应用研究提供了基础.

## 参考文献:

- [1] 任文静,马艳,蔡梅超,等.北豆根化学成分及其抗炎活性研究[J].广西植物,2023,43(6):1155-1162.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典—一部:2020年版[M].北京:中国医药科技出版社,2020.

- [3] WEI J X, FANG L L, LIANG X L, et al. A Sensitive and Selective UPLC - MS/MS Method for Simultaneous Determination of 10 Alkaloids from Rhizoma Menispermii in Rat Plasma and Its Application to a Pharmacokinetic Study [J]. *Talanta*, 2015, 144: 662-670.
- [4] 张科, 宋崑, 李波, 等. 基于网络药理学的北豆根治疗溃疡性结肠炎的作用机制 [J]. *安徽医药*, 2022, 26(8): 1672-1675.
- [5] 付佳, 贾倩倩, 韩省力, 等. 基于 SNAP-tag-EGFR 细胞膜色谱的北豆根中潜在抗肿瘤活性组分筛选及验证 [J]. *西北药学杂志*, 2023, 38(1): 1-6.
- [6] WEI J X, YU Y Y, ZHANG Y, et al. Integrated Serum Pharmacochimistry and Network Pharmacology Approach to Explore the Effective Components and Potential Mechanisms of Menispermii Rhizoma Against Myocardial Ischemia [J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 869972.
- [7] 邵佳, 师超峰, 魏金霞, 等. 北豆根中化学成分及其抗缺氧活性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(4): 723-729.
- [8] 孟雪莲, 刘松瑶, 薛京苏. 基于网络药理学分析北豆根抗阿尔茨海默病的作用机制 [J]. *辽宁大学学报(自然科学版)*, 2022, 49(4): 343-354.
- [9] 徐静华, 于庆海. 北豆根总碱对氢化可的松模型小鼠的免疫调节作用 [J]. *中药药理与临床*, 1998, 14(1): 24-25.
- [10] 胡辉, 刘源才, 龚华梦. 北豆根配方颗粒质量标准的研究 [J]. *中成药*, 2019, 41(1): 38-43.
- [11] SCHMIDT J, BOETTCHER C, KUHN T C, et al. Poppy Alkaloid Profiling by Electrospray Tandem Mass Spectrometry and Electrospray FT-ICR Mass Spectrometry after [Ring-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>]-Tyramine Feeding [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(2): 189-202.
- [12] 单锋, 袁媛, 康利平, 等. 基于 UPLC-ESI/Q-TOF-MS/MS 技术分析荷梗中的化学成分 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(16): 3233-3238.
- [13] 张艳, 彭玉勃, 陈效忠, 等. 北豆根根茎中双苄基异喹啉类生物碱成分研究 [J]. *中国现代中药*, 2016, 18(8): 951-955.
- [14] 莫柳英, 张帆, 郝二伟, 等. 基于化学成分、药理作用及网络药理学的防己质量标志物(Q-Marker)预测分析 [J]. *中草药*, 2022, 53(19): 6283-6295.
- [15] 谷元, 司端运. 粉防己碱在大鼠体内的代谢途径研究 [J]. *济宁医学院学报*, 2012, 35(5): 306-311.
- [16] 辛爰一, 柳军玺, 邸多隆. 阿朴菲类生物碱研究进展 [J]. *中草药*, 2018, 49(3): 712-724.
- [17] 唐煌, 钟书明, 赵丽珍, 等. 氧化异阿朴菲-褪黑素杂合体的合成、抗β淀粉样蛋白聚集及抗氧化活性 [J]. *应用化学*, 2012, 29(5): 510-514.
- [18] TIAN X T, ZHANG Y C, LI Z X, et al. Systematic and Comprehensive Strategy for Metabolite Profiling in Bioanalysis Using Software-Assisted HPLC-Q-TOF: Magnoflorine as an Example [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2016, 408(9): 2239-2254.
- [19] 李晓庄, 赵慧玲, 黄文平, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 快速鉴别北豆根中的生物碱类成分 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(15): 97-102.
- [20] 郭鹏, 岳云, 高颖, 等. 苄基异喹啉类主要生物碱的药理活性和代谢研究进展 [J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2019, 28(12): 70-76.
- [21] 林芝, 胡致伟, 瞿旭东, 等. 苄基异喹啉类生物碱的微生物合成研究进展及挑战 [J]. *合成生物学*, 2021, 2(5): 716-733.
- [22] 赵雪妍. 防己科植物黄藤与金果榄、青风藤与防己中生物碱类成分轮廓谱的建立及其差异性研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [23] 彭懿, 左姿, 卿志星, 等. 基于 HPLC-Q-TOF/MS 技术鉴定博落回叶中化学成分 [J]. *中南药学*, 2016, 14(5): 465-470.
- [24] LONG S D, JI S S, XUE P, et al. Network Pharmacology and Molecular Docking Analysis Reveal Insights into the Molecular Mechanism of Shiliao Decoction in the Treatment of Cancer-Associated Malnutrition [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 985991.

- [25] 罗艳群, 沈小兰, 蔡三金, 等. 青风藤化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 898-911.
- [26] WANG Y M, SHANG G N, WANG W, et al. Magnoflorine Inhibits the Malignant Phenotypes and Increases Cisplatin Sensitivity of Osteosarcoma Cells via Regulating miR-410-3p/HMGB1/NF- $\kappa$ B Pathway [J]. Life Sciences, 2020, 256: 117967.
- [27] ZHANG Q B, YE R F, YE L Y, et al. Isocorydine Decrease Gemcitabine-resistance by Inhibiting Epithelial-mesenchymal Transition via STAT3 in Pancreatic Cancer Cells [J]. American Journal of Translational Research, 2020, 12(7): 3702-3714.
- [28] CHEN L J, TIAN H, LI M, et al. Derivate Isocorydine Inhibits Cell Proliferation in Hepatocellular Carcinoma Cell Lines by Inducing G2/M Cell Cycle Arrest and Apoptosis [J]. Tumor Biology, 2016, 37(5): 5951-5961.
- [29] PAN J X, CHEN G, LI J J, et al. Isocorydine Suppresses Doxorubicin-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition via Inhibition of ERK Signaling Pathways in Hepatocellular Carcinoma [J]. American Journal of Cancer Research, 2018, 8(1): 154-164.
- [30] 刘松瑶. 蝙蝠葛碱和蝙蝠葛苏林碱抗神经炎症及神经保护作用研究 [D]. 沈阳: 辽宁大学, 2022.
- [31] ZHANG S W, REN Y, QIU J X. Dauricine Inhibits Viability and Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis via Inhibiting the PI3K/Akt Signaling Pathway in Renal Cell Carcinoma Cells [J]. Molecular Medicine Reports, 2018, 17(5): 7403-7408.
- [32] MANOGARAN P, BEERAKA N M, PAULRAJ R S, et al. Impediment of Cancer by Dietary Plant-Derived Alkaloids through Oxidative Stress: Implications of PI3K/AKT Pathway in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2023, 23(10): 860-877.
- [33] 曾琴, 聂敏海. Src 激酶在肿瘤侵袭和转移中的作用研究进展 [J]. 新乡医学院学报, 2021, 38(3): 293-295, 300.
- [34] ZHANG S L, YANG Z W, BAO W L, et al. SNX10 (Sorting Nexin 10) Inhibits Colorectal Cancer Initiation and Progression by Controlling Autophagic Degradation of SRC [J]. Autophagy, 2020, 16(4): 735-749.
- [35] 关静, 朱美灵, 夏德斌. EGFR 酪氨酸激酶及其抑制剂的研究进展 [J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2023, 40(3): 291-299.
- [36] SAADEH F S, MAHFOUZ R, ASSI H I. EGFR as a Clinical Marker in Glioblastomas and Other Gliomas [J]. The International Journal of Biological Markers, 2018, 33(1): 22-32.
- [37] 肖鑫. HSP90AA1 对骨肉瘤耐药的作用及机制研究 [D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018.
- [38] 董晓玉, 钟涛, 叶元滋, 等. 血清 HSP90 $\alpha$  和癌组织基因 HSP90AA1 在肺癌中的高表达及预后价值 [J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(7): 1034-1040.
- [39] YIN X F, YU J, ZHOU Y, et al. Identification of CDK2 as a Novel Target in Treatment of Prostate Cancer [J]. Future Oncology, 2018, 14(8): 709-718.
- [40] 凌能, 刘妍, 叶茂. CDK2 在肿瘤中的非细胞周期功能 [J]. 中国细胞生物学报, 2021, 43(1): 201-207.
- [41] KHO D H, NANGIA-MAKKER P, BALAN V, et al. Autocrine Motility Factor Promotes HER2 Cleavage and Signaling in Breast Cancer Cells [J]. Cancer Research, 2013, 73(4): 1411-1419.
- [42] 冯飞灵. 靶向 ErbB2 及下游信号通路对恶性胆道肿瘤增殖抑制作用及机制研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2018.