药学实践与服务
Journal of Pharmaceutical Practice and Service
中国科技核心期刊
中国科技论文统计源期刊
中国知网、万方、维普数据库统计源期刊
CA, EBSCO, WPRIM, UPD, CMCC等收录

基于网络药理学和分子对接技术探讨化橘红止咳化痰的分子机制

陈方剑，张玉梅，吴文燕，周玉琴，张扬

Exploring the molecular mechanism of *Citri Grandis* Exocarpium in relieving cough and resolving phlegm based on network pharmacology and molecular docking

CHEN Fangjian, ZHANG Yumei, WU Wenyan, ZHOU Yuqin, ZHANG Yang

在线阅读 View online: http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202604056

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于网络药理学和分子对接技术探讨丹参酮ⅡA改善对乙酰氨基酚致肝损伤的作用机制

Mechanism of tanshinone ⅡA in ameliorating acetaminophen-induced liver injury based on network pharmacology and molecular docking techniques

药学实践与服务. 2026, 44(8): 417-425 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202412022

基于网络药理学及分子对接研究愈肠颗粒治疗溃疡性结肠炎的分子机制

Exploring the mechanism of Yuchang granule on ulcerative colitis based on network pharmacology and molecular docking

药学实践与服务. 2026, 44(4): 209-215 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202407027

基于网络药理学和分子对接技术研究路路通抗肿瘤的潜在机制

The antitumor mechanism of *Fructus liquidambaris* based on network pharmacology and molecular docking

药学实践与服务. 2026, 44(1): 32-38 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202404067

基于网络药理学、分子对接技术及体外实验验证探究健复饮治疗勃起功能障碍的作用机制

Mechanism of Jianfu mixture in the treatment of erectile dysfunction based on network pharmacology analysis, molecular docking and *in vitro* experimental validation

药学实践与服务. 2026, 44(6): 296-305 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202407013

基于网络药理学与分子对接探讨桑麻杏贝汤治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的机制研究

Study on the potential mechanism of SMXBT in the treatment of AECOPD by network pharmacology and molecular docking

药学实践与服务. 2026, 44(3): 144-151 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202311018

关注微信公众号，获得更多资讯信息

·论著·

基于网络药理学和分子对接技术探讨化橘红止咳化痰的分子机制

陈方剑[1], 张玉梅[2], 吴文燕[3], 周玉琴[3], 张　扬[1]（1. 上海市黄浦区老年护理医院, 上海 200010; 2. 海军军医大学第一附属医院药剂科, 上海 200433; 3. 上海市黄浦区豫园街道社区卫生服务中心, 上海 200010）

［摘要］ **目的**　基于网络药理学方法和分子对接技术分析化橘红止咳化痰的分子机制。**方法**　通过中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）检索化橘红的活性成分，通过 PubChem 数据库、SwissTargetPrediction 平台预测化橘红有效成分靶点，利用 GeneCards 数据库和 DisGeNET 数据库获取咳嗽、痰证相关靶点，作 Venn 图获取交集靶点；利用 String 12.0 数据库构建靶点蛋白质-蛋白质相互作用网络，筛选核心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）信号通路富集分析，使用 Cytoscape 3.10.4 构建“活性成分-核心靶点-通路”网络，利用 CB-DUCK2 在线平台进行分子对接验证。体外培养人支气管上皮 BEAS-2B 细胞，利用 CCK-8 法检测细胞存活率，qPCR 法检测 AKT1、BCL2、EGFR 基因表达。**结果**　共筛选得到化橘红 10 个活性成分，作用靶点 390 个，对咳嗽、痰证交集靶点 214 个，10 个核心靶点甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）、RACα-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶（AKT1），表皮生长因子受体（EGFR）、凋亡调节因子 Bcl2（BCL2）、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3（CASP3）、原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src（SRC）、雌激素受体 1（ESR1）、前列腺素 G/H 合成酶 2（PTGS2）、基质金属蛋白酶-9（MMP-9）、G1/S 特异性细胞周期蛋白 D1（CCND1），GO 富集分析显示靶点参与内在凋亡信号通路的负调控、对 UV-A 的反应、对外源刺激的反应等生物过程，分布在含蛋白质的复合物、核膜、胞质溶胶等细胞成分，参与酶结合、蛋白激酶活性、相同的蛋白质结合等分子功能。KEGG 富集结果显示，其主要干预雌激素、HIF-1、TNF 等信号通路。分子对接结果显示，化橘红活性成分与核心靶点 GAPDH、AKT1、EGFR 和 BCL2 均有较好的亲和力。细胞实验结果显示，化橘红提取物可以提高细胞存活率（P<0.05），降低 AKT1 水平、升高 BCL2 水平（P<0.05），降低 EGFR 水平。**结论**　化橘红可能通过多成分、多靶点、多通路发挥止咳化痰作用。

［关键词］ 化橘红；止咳化痰；网络药理学；分子对接；作用机制
［文章编号］ 2097-2024（2026）11-0001-09　　［DOI］ 10.12206/j.issn.2097-2024.202604056

Exploring the molecular mechanism of *Citri Grandis* Exocarpium in relieving cough and resolving phlegm based on network pharmacology and molecular docking

CHEN Fangjian[1], ZHANG Yumei[2], WU Wenyan[3], ZHOU Yuqin[3], ZHANG Yang[1]（1. Shanghai Huangpu District Geriatric Care Hospital, Shanghai 200010, China; 2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Shanghai Huangpu District Yuyuan Community Health Service Center, Shanghai 200010, China）

［**Abstract**］ **Objective**　To analyze the molecular mechanism of *Citri Grandis* Exocarpium（Huajuhong）in relieving cough and resolving phlegm based on network pharmacology and molecular docking technology. **Methods**　The active ingredients of *Citri Grandis* Exocarpium were retrieved from the TCMSP. The targets of these active ingredients were predicted via the PubChem database and SwissTargetPrediction platform. Targets associated with cough and phlegm syndrome were obtained from the GeneCards and DisGeNET databases, and the intersection targets were acquired using a Venn diagram. The PPI network of the targets was constructed with the STRING 12.0 database. Core targets were screened out for GO functional enrichment analysis and KEGG signaling pathway enrichment analysis. The "active ingredient-core target-pathway" network was established by Cytoscape 3.10.4, and molecular docking validation was performed on the CB-DUCK2 online platform. Human bronchial epithelial BEAS-2B cells were cultured *in vitro*. Cell viability was detected by the CCK-8 assay, and the mRNA expression levels of AKT1, BCL2 and EGFR were determined by qPCR. **Results**　10 active ingredients of *Citri Grandis* Exocarpium were screened, with 390 corresponding action targets and 214 intersection targets related to cough and phlegm syndrome. 10 core targets were identified, including GAPDH, AKT1, EGFR, BCL2, CASP3, SRC, ESR1, PTGS2, MMP-9 and CCND1. GO analysis and KEGG showed that

［基金项目］ 上海市黄浦区卫生健康系统科研项目（HLQ202416, HLM202437）
［作者简介］ 陈方剑，硕士，副主任药师，研究方向：医院药学和网络药理学，Email:ngchenfangjian@126.com
［通信作者］ 张　扬，硕士，副主任医师，研究方向：中西医结合治疗肺系疾病，Email:yylhzy1201@126.com

these targets were involved in biological processes such as negativing regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway, responding to UV-A and exogenous stimuli; were localized in cellular components including protein-containing complexes, nuclear envelope and cytosol; and participated in molecular functions such as enzyme binding, protein kinase activity and identical protein binding. The targets mainly regulated signaling pathways including the Estrogen signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, and TNF signaling pathway. Molecular docking results indicated that the active ingredients of *Citri Grandis* Exocarpium had favorable binding affinity with the core targets GAPDH, AKT1, EGFR and BCL2. *In vitro* cell experimental results showed that *Citri Grandis* Exocarpium extract significantly increased cell viability (P<0.05), downregulated the expression level of AKT1, upregulated the expression level of BCL2 (P<0.05), and decreased the expression level of EGFR. **Conclusion**　*Citri Grandis* Exocarpium exerted cough-relieving and phlegm-resolving effects possibly through a multi-ingredient, multi-target and multi-pathway mode.

［**Key words**］ *Citri Grandis* Exocarpium; antitussive and expectorant effects; network pharmacology; molecular docking; molecular mechanism

咳嗽是对呼吸道刺激的基本生理过程，有助于清除呼吸道的刺激物和多余的黏液，但频繁的咳嗽严重影响患者日常生活，对患者健康造成危害[1]。目前临床常用的对症治疗药物主要有中枢镇咳药、外周镇咳药和祛痰药，虽然有较强镇咳作用，但具有成瘾性，只能起到短暂缓解症状的作用，大部分患者症状反复，严重影响生活质量，还可能进一步发展为慢性阻塞性肺疾病等[2]。因此，探索安全有效的药物对咳嗽患者的治疗具有重要意义。中医学认为肺失宣降，肺气上逆而作咳嗽，中医中药对咳嗽辨证论治，通过多环节、多靶点发挥效应治疗咳嗽，临床常以疏风、宣肺、降浊化痰为主进行治疗，同时标本兼治，对肝脾肾进行调治[2]。

化橘红（*Citri Grandis* Exocarpium）是芸香科植物化州柚的未成熟或近成熟的干燥外层果皮，为我国十大广药之一，化橘红味苦性温，归肺、脾经，具有理气宽中，燥湿化痰作用，常用于治疗气喘、咳嗽痰多、呕恶痞闷[3-4]。已有研究显示，化橘红含有类黄酮、挥发油、香豆素等多种具有抗炎、抗氧化等多重作用的化学成分，具有止咳、祛痰等多种药理作用[5-7]。然而化橘红止咳化痰具体分子机制尚未阐明。网络药理学通过构建“多成分-多靶点-多通路”网络，探索中药复方协同作用、完善中药单体多靶点协同机制，其整体性的分析特点与中药多成分、多靶点的作用机制相契合，是分析中药效果的重要方式[8]。为进一步研究化橘红止咳化痰分子机制，本研究利用网络药理学和分子对接技术，预测化橘红止咳化痰的活性成分及潜在作用机制，并进行了细胞实验验证，为其临床应用与开发提供理论依据。

1　材料

1.1　细胞

人支气管上皮 BEAS-2B 细胞（批号：26020C03），购自苏州海星生物科技有限公司。

1.2　药品与试剂

化橘红饮片（批号：251000201）、AMG9810（批号：F28IB208092）、亚硫酸氢钠（批号：K18WA7001）、无水亚硫酸钠（批号：L822BA10005）、RNA Easy Fast 动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒（批号：B0109A）、UniPeak U+ One Step RT-qPCR SYBR Green Kit（批号：7E0321D5）、CCK-8 试剂（批号：2894240801）。

1.3　仪器

CFX Opus 96 型 qPCR 仪（美国 BIO-RAD 公司）、5425R 型低温离心机（德国艾本德公司）、311 型培养箱（美国赛默飞世尔科技公司）。

2　方法

2.1　网络药理学分析

2.1.1　化橘红活性成分及靶点筛选

在中药系统药理学平台（TCMSP，https://tcmsp-e.com/index.php），以“化橘红”为关键词进行检索，以口服生物利用度（oral bioavailability，OB）≥30% 且类药性（drug-likeness，DL）≥0.18 为筛选标准，初步筛选出具有化橘红的活性成分和靶点。通过 PubChem 数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov）检索上述活性成分结构的 Canonical SMILES 序列及 2D 结构，并将 Canonical SMILES 序列输入 SwissTargetPrediction 平台（http://www.swisstargetprediction.ch），进行化橘红活性成分靶点预测，经合并冗余及去重处理后，得到化橘红的最终靶点蛋白集合。

2.1.2　疾病靶点预测

以“咳嗽”（cough）、“痰证”（phlegm）为检索词，分别从 GeneCards 数据库（https://www.genecards.org）及 DisGeNET 数据库（https://www.disgenet.org）中挖掘与疾病相关的靶点基因。获取的靶点蛋白中，Score 值越高则代表该靶点与疾病联系密切，设定

Score 值大于中位数的目标靶点为咳嗽、痰症相关的潜在靶点，对两数据库获取的靶点进行整合与去重后，得到咳嗽、痰症相关靶点。

2.1.3　化橘红与咳嗽、痰证交集靶点

为探究化橘红相关靶点与咳嗽、痰症靶点间的相互作用，利用微生信在线平台（https://www.bioinformatics.com.cn）韦恩图[9]可视化分析化橘红活性成分靶点与咳嗽、痰证相关靶点的重叠关系，二者的交集靶点即为化橘红干预疾病的潜在靶点，并绘制韦恩图。

2.1.4　交集靶点蛋白质-蛋白质相互作用网络构建及核心靶点筛选

将交集靶点导入 STRING 12.0 数据库（https://string-db.org/），设置物种为“Homo sapiens”并采用默认参数（中等置信度阈值 0.4），构建共有靶点蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络图，保存为“tsv”文件。随后将网络数据导入 Cytoscape 3.10.4 软件，利用其内置 CytoHubba 插件进行拓扑学分析，基于节点度值（Degree）筛选排名前 10 位的核心靶点基因。网络图中节点颜色深浅反映靶点重要性程度，颜色越深表明该靶点在网络中具有更高的连接丰富性。

2.1.5　核心靶点 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

将筛选得到的核心靶点上传至 DAVID 数据库（https:/http://david.ncifcrf.gov），并设定为“Homo sapines”属性，开展基因本体论（gene ontology，GO）功能富集分析和京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）信号通路富集分析（P<0.05），解析核心靶点涉及的生物功能及信号通路。

2.1.6　构建化橘红对咳嗽、痰证“活性成分-核心靶点-通路”网络

运用 Cytoscape 3.10.4 软件整合活性成分与 10 个核心靶点关联关系及核心靶点-信号通路映射关系，构建多层级互作网络模型，直观展示化橘红止咳化痰的物质基础与作用途径。

2.1.7　分子对接验证

从 RCSB 蛋白数据库（https://www.rcsb.org）获取核心靶点蛋白排序居前 4 位的 X 射线晶体结构。利用 Yang Cao Lab（http://cao.labshare.cn/clab/index.html）CB-Dock2 在线平台进行分子对接，按照平台的操作流程对活性成分与前 4 位的核心靶点蛋白进行分子对接模拟[10]。

2.2　细胞实验

2.2.1　化橘红提取物的制备

取适量化橘红中药饮片加水浸泡 1 h，然后使用文火煎煮 2 次，每次 1 h；合并两次的水煎液，用双层纱布过滤；浓缩滤液至终浓度为 1 g/ml。为保证药液无菌，将浓缩后的滤液密封后置于烧杯中，烧杯加水，置于微波炉中煮沸 15 min 灭菌。药液 4℃ 保存待用。

2.2.2　BEAS-2B 细胞模型的建立

BEAS-2B 细胞以每孔 3×10^4 个的密度接种于 96 孔板，每孔注入 100 μl 培养液，于 37℃、5 % 细胞培养箱孵育过夜。分别加入 100 μl 不同浓度（300、100、33.3、11.1、3.7、1.2、0.4、0.14 μmol/L）SO_2 衍生物。培养 24 h 后取出细胞培养板，每孔加入 10 μl 的 CCK-8 溶液，在细胞培养箱中放置 1 h，用酶标仪检测 450 nm 波长下吸光度（A）。

2.2.3　AMG9810、化橘红提取物干预浓度筛选

BEAS-2B 细胞以每孔 3×10^4 个的密度接种于 96 孔板，孵育过夜。分别加入不同浓度化橘红提取物（10、1 mg/ml 和 100、50、20、10、5、2.5、1、0.5 μg/ml）、AMG9810（100、80、60、40、20、15、10、7.5 μmol/L）。培养 24 h 后取出细胞培养板，用 CCK-8 法测定细胞存活率。

2.2.4　用 CCK-8 法检测 BEAS-2B 细胞存活率

BEAS-2B 细胞以每孔 1.5×10^4 个的密度接种于 96 孔板，每孔注入 100 μl 培养液，于 37℃、5 % 细胞培养箱孵育过夜。分别加入 4 μmol/L SO_2 衍生物、不同浓度化橘红提取物（10 mg/ml 和 100、1 μg/ml）、AMG9810（100、50、5 μmol/L），培养 24 h 后取出细胞培养板，用 CCK-8 法测定细胞存活率。

2.2.5　实验分组

BEAS-2B 细胞培养 24 h 后进行分组。实验分为：对照组、模型组（含 4 μmol/L SO_2 衍生物）、阳性组（AMG9810 100 μmol/L 和 4 μmol/L SO_2 衍生物）、化橘红提取物组（10 mg/ml 化橘红提取物和 4 μmol/L SO_2 衍生物）。

2.2.6　用 qPCR 法检测 BEAS-2B 细胞 BCL2、AKT1、EGFR 基因表达

BEAS-2B 细胞以每孔 1×10^6 个的密度接种于 6 孔板，按照“2.2.5”项下方法分组并给药，培养 24 h 后按照总 RNA 提取试剂说明书要求提取总 RNA，测定浓度，去除 DNA。对各样本进行 qPCR 扩增反应。扩增条件为：50℃，5 min，95℃ 30 s，95℃ 10 s，60℃ 30 s，共 40 个循环。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算各基因相对表达量。引物序列见表 1。

2.2.7　统计学分析

通过 Graphpad Prism 10.2.0 软件进行处理，数据以（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较采用单因素方差分析。

表 1　引物序列

基因名称	上游引物	下游引物
BCL2	TTTCGGTGACTTCCGCATCA	CGGTCTCCTAAAAGCAGGCA
AKT1	AGAGCAAACGGGGCCATC	CCAGGTCTTGATGTACTCCCC
EGFR	GCCCAGACCGGACGACAG	CCAACTGCGTGAGCTTGTTAC
β-actin	ACCTAACTTGCGCAGAAAACA	TTGTGAACTTTGGGGGATGCT

P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　化橘红活性成分筛选结果

在 TCMSP 数据库检索化橘红，得到化橘红化学成分 44 个。以 OB≥30% 和 DL≥0.18 为标准进行筛选，共获得 10 个活性成分，见表 2。

表 2　化橘红活性成分

序号	化合物编号	化合物名称	口服生物利用度	类药性	化学式
1	MOL013276	枸橘苷	36.55	0.74	$C_{28}H_{34}O_{14}$
2	MOL001798	新橙皮苷	71.17	0.27	$C_{16}H_{14}O_{6}$
3	MOL004328	柚皮素	59.29	0.21	$C_{15}H_{12}O_{5}$
4	MOL005849	新陈皮柑	38.55	0.24	$C_{16}H_{14}O_{5}$
5	MOL013279	5,7,4'-三甲氧基黄酮	39.83	0.3	$C_{18}H_{16}O_{5}$
6	MOL005828	川陈皮素	61.67	0.52	$C_{21}H_{22}O_{8}$
7	MOL001803	甜橙素	50.56	0.45	$C_{20}H_{20}O_{7}$
8	MOL013277	异甜橙素	51.15	0.44	$C_{20}H_{20}O_{7}$
9	MOL000358	β-谷甾醇	36.91	0.75	$C_{29}H_{50}O$
10	MOL010267	番茄红素	32.57	0.51	$C_{40}H_{56}$

3.2　化橘红活性成分靶点获取结果

利用 SwissTargetPrediction 数据库收集化橘红活性成分作用靶点，并删除重复靶点，通过 Uniprot 数据库与获取的靶点基因匹配后，获得化橘红活性成分靶点 390 个。

3.3　化橘红对咳嗽、痰证交集靶点获取结果

以“cough”、“phlegm”为关键词，分别检索 GeneCards 数据库、DisGeNET 数据库，在合并、删除重复靶点后，共获取疾病相关基因 2 716 个。与化橘红活性成分靶点作韦恩图进行交集分析，初步收集化橘红止咳化痰潜在作用靶点 214 个，见图 1。

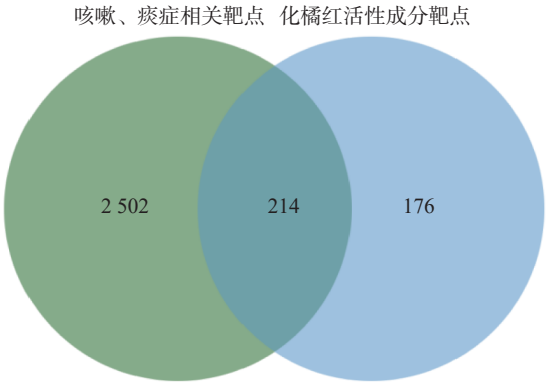

图 1　化橘红对咳嗽、痰证交集靶点韦恩图

3.4　化橘红与咳嗽、痰证交集靶点 PPI 网络

将 214 个交集靶点上传至 STRING 12.0 数据库，构建 PPI 网络模型，该网络共有 214 个节点和 3 451 条边，平均节点度值为 32.3，见图 2。

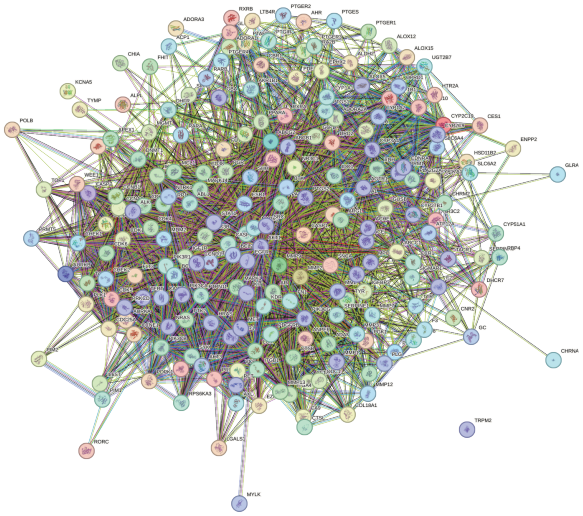

图 2　化橘红与咳嗽、痰证交集靶点 PPI 网络图

3.5　化橘红与咳嗽、痰证核心靶点获取结果

利用 Cytoscape 3.10.4 内置插件 CytoHubba，筛选出 PPI 网络度值前 10 位的核心靶点，见表 3，核心靶点网络图见图 3。

3.6　GO 功能富集分析

本文利用 DAVID 数据库对 10 个核心靶点进行了基因注释分析，以 P<0.05 为标准，结果显示交集靶点参与内在凋亡信号通路的负调控 、对 UV-A 的反应、对外源刺激的反应等 79 个生物过程，分布在含蛋白质的复合物、核膜、胞质溶胶等 10 个细胞成分，参与酶结合、蛋白激酶活性、相同的蛋白质结合等 13 个分子功能，见图 4。

表 3　核心靶点信息

序号	基因名称	靶点蛋白质名称	度值	介数中心性
1	*GAPDH*	甘油醛-3-磷酸脱氢酶	146.0	4 497.1
2	*AKT1*	RACα-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	137.0	3 157.3
3	*EGFR*	表皮生长因子受体	123.0	2 327.8
4	*BCL2*	凋亡调节因子BCL2	116.0	1 354.7
5	*CASP3*	半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3	110.0	951.0
6	*SRC*	原癌基因酪氨酸蛋白激酶Src	109.0	3 486.2
7	*ESR1*	雌激素受体1	104.0	1 469.5
8	*PTGS2*	前列腺素G/H合成酶2	98.0	2 226.2
9	*MMP9*	基质金属蛋白酶-9	94.0	860.8
10	*CCND1*	G1/S特异性细胞周期蛋白D1	94.0	883.5

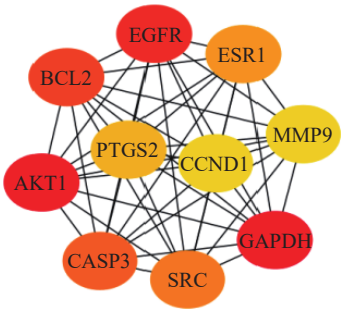

图 3　靶点网络图

3.7　KEGG 信号通路富集分析

利用 DAVID 数据库对 10 个核心靶点进行 KEGG 信号通路分析，以 $P<0.05$ 为标准，共参与 63 条信号通路，筛选前 20 位信号通路，结果显示干预过程主要涉及雌激素信号通路、HIF-1 信号通路、TNF 信号通路等，见图 5。

3.8　化橘红对咳嗽、痰证活性成分-核心靶点-通路网络构建

利用 Cytoscape 3.10.4 构建活性成分-核心靶点-通路网络，更直观反映活性成分与核心靶点及通路间关系，该网络包含 40 个节点和 144 条边，可见化橘红活通过多靶点、多途径、多通路相互协调，共同发挥止咳化痰作用，初步阐释了化橘红止咳化痰的主要药效物质基础和作用机制，见图 6。

3.9　分子对接

将核心靶点排序居前 4 位的基因（*GAPDH*、*AKT1*、*EGFR* 和 *BCL2*）分别与化橘红活性成分进行分子对接，配体和受体结合能越低，结合越稳定。分子对接结果显示核心靶点 GAPDH、AKT1、EGFR 和 BCL2 与化橘红活性成分结合性较好，其中 *GADPH* 与化橘红活性成分枸橘苷结合能力最强，

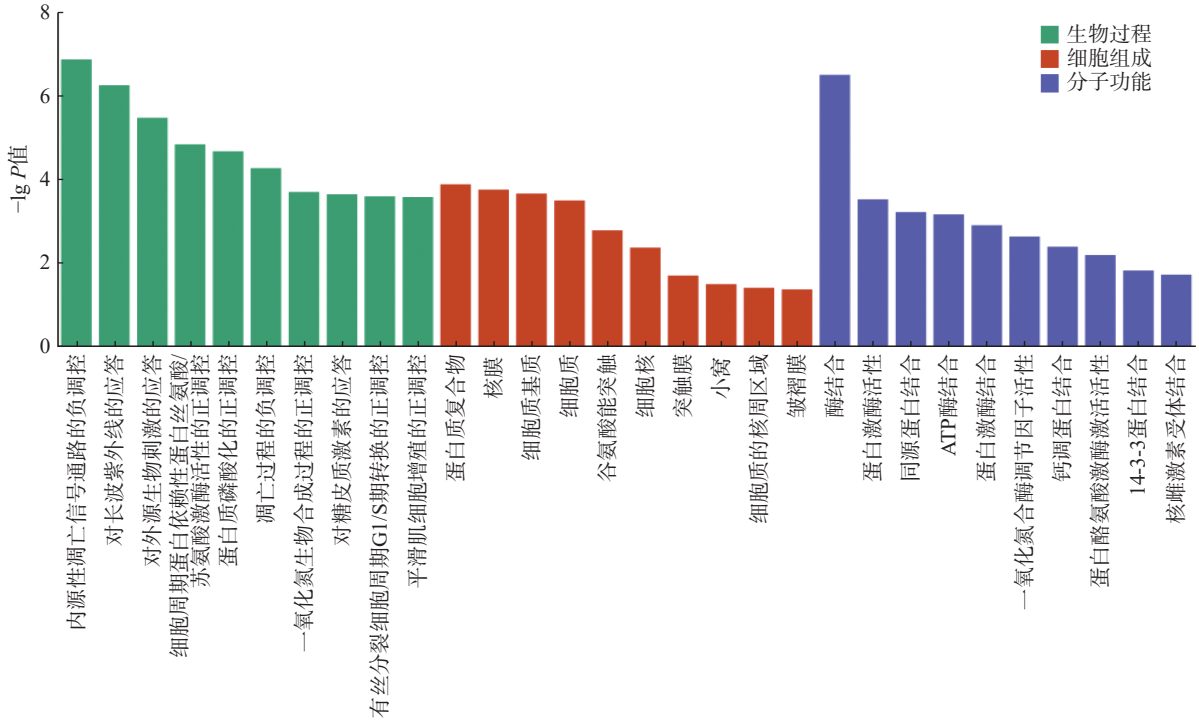

图 4　基因本体论功能富集分析

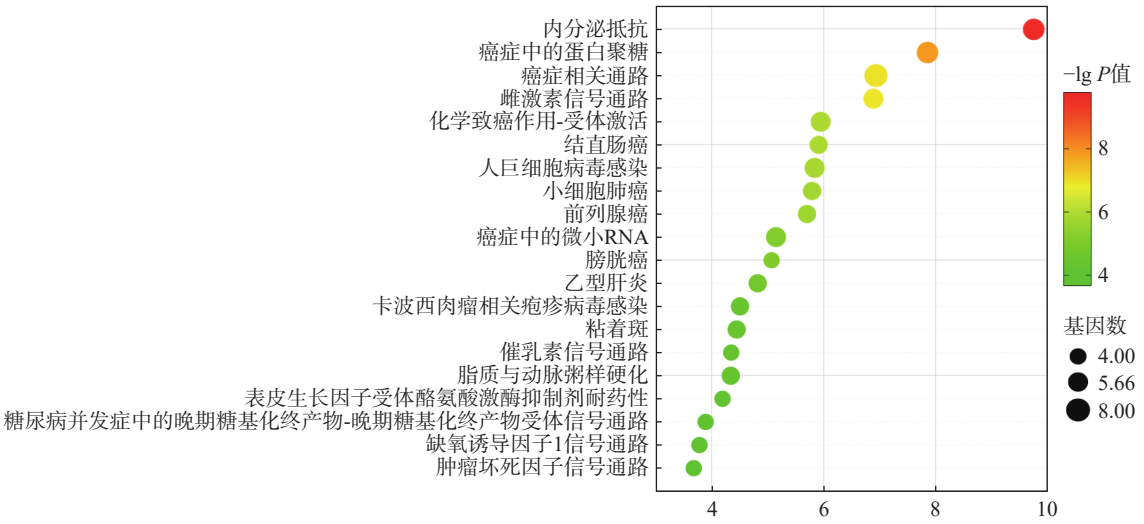

图 5　信号通路富集分析

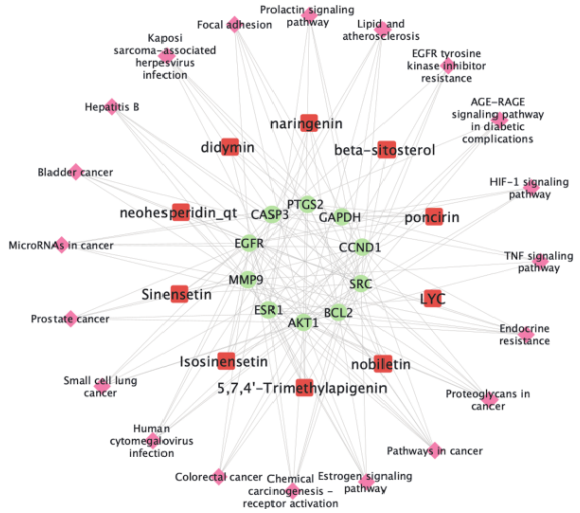

图 6　活性成分-核心靶点-通路网络图

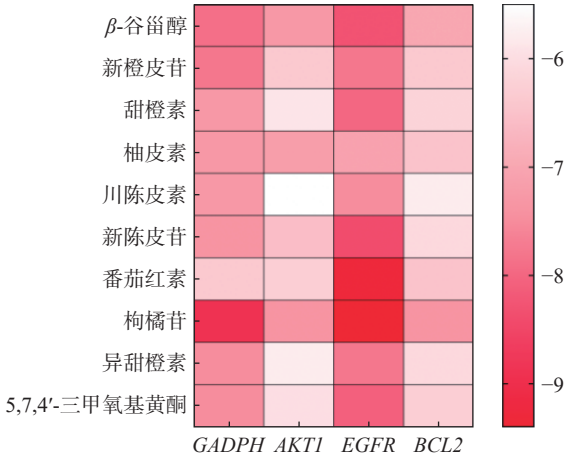

图 7　分子对接结合能的热图分析

为−8.9 kJ/mol, AKT1 与化橘红活性成分枸橘苷结合能力最强, 为−7.4 kJ/mol, EGFR 与化橘红活性成分枸橘苷结合能力最强, 为−9.4 kJ/mol, BCL2 与化橘红活性成分枸橘苷结合能力最强, 为−7.4 kJ/mol, 见图 7。这表明化橘红活性成分能与核心靶点有效结合, 通过调节靶点活性, 进而调节相关信号通路, 发挥止咳化痰作用。部分活性成分与核心靶点分子对接, 见图 8。

3.10　细胞实验结果

3.10.1　BEAS-2B 细胞模型的建立

实验结果表明, 加入 4.026 μmol/L 的 SO_2 衍生物时, 细胞存活率为 50%。确定建立 BEAS-2B 细胞模型条件为 4 μmol/L SO_2 衍生物培养 24 h, 见图 9。

3.10.2　AMG9810 和化橘红提取物干预浓度的确定

与对照组相比, AMG9810 在 7.5 ~ 100 μmol/L、

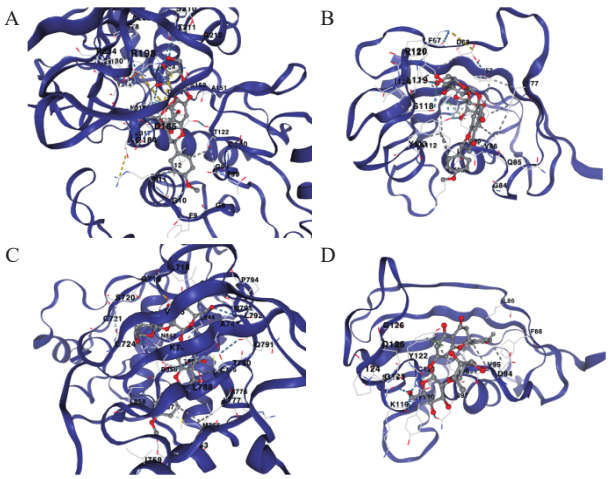

图 8　分子对接图

A. GADPH-枸橘苷; B. AKT1-枸橘苷; C. EGFR-枸橘苷; D. BCL2-枸橘苷

化橘红提取物(extract of *Citri Grandis Exocarpium*, ECG)在 0.5 μg/ml ~ 10 mg/ml 浓度范围内对 BEAS-2B 细胞存活率无显著影响。AMG9810分别选择 5、

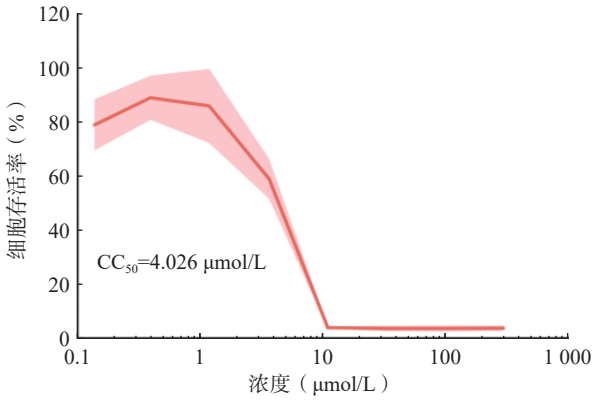

图 9　不同浓度 SO_2 衍生物对细胞存活率的影响

50、100 μmol/L，以及化橘红提取物 1、100 μg/ml、10 mg/ml，作用 24 h，进行后续实验。

3.10.3　化橘红提取物对 BEAS-2B 细胞存活率的影响

与对照组相比，模型组细胞存活率显著降低（P<0.01），表明成功建立 BEAS-2B 细胞模型。与模型组相比，AMG9810 各剂量组细胞存活率不同程度升高，其中，AMG9810 10 μmol/L 和 100 μmol/L 组的细胞存活率显著提高（P<0.05），化橘红提取物各剂量组细胞存活率不同程度升高，其中，10 mg/ml 化橘红提取物组细胞存活率显著升高（P<0.05），见图 10。

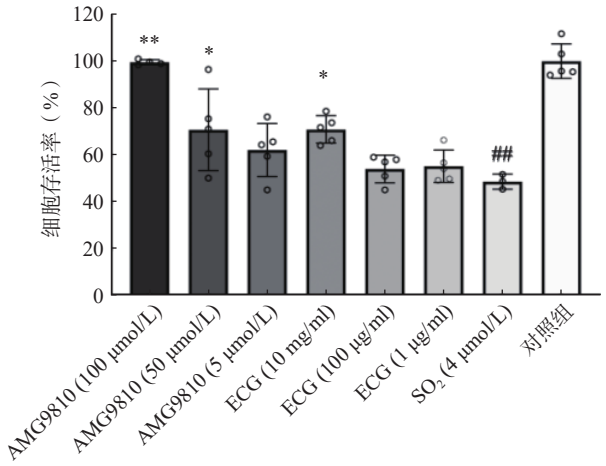

图 10　药物对细胞存活率的影响

*P<0.05，**P<0.01，与模型组比较；##P<0.01，与对照组比较。

3.10.4　化橘红提取物对 BEAS-2B 细胞 BCL2、AKT1、EGFR 表达的影响

与对照组相比，模型组细胞 AKT1 水平显著提高（P<0.05）、BCL2 水平显著下降（P<0.01）、EGFR 水平升高，但无明显变化。与模型组相比，阳性药组 AKT1 水平显著降低（P<0.05）、BCL2 水平显著上升（P<0.05）、EGFR 水平降低，但无明显变化；化橘红提取物组 AKT1 水平显著下降（P<0.05）、BCL2 水平显著上升（P<0.05）、EGFR 水平降低，但无明显变化。详见图 11。

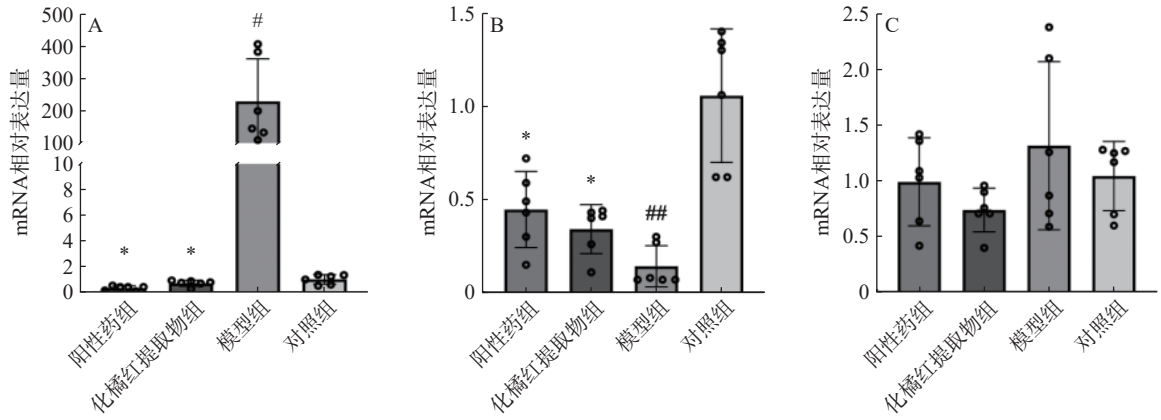

图 11　药物对 BCL2、AKT1、EGFR 水平的影响

A. AKT1; B. BCL2; C. EGFR

*P<0.05，与模型组比较；#P<0.05，##P<0.01，与对照组比较。

4　讨论

咳嗽作为机体重要的防御反射，其发生机制复杂且涉及多系统协同作用。中医理论认为，咳嗽的病因源于外邪侵袭肺系，导致肺气宣降失常，进而引发肺气上逆；虽病位主要责之于肺，但其病理过程亦与肝、脾、肾等脏腑功能失调密切相关[11]。化橘红作为我国四大南药之一，兼具抗炎、抗氧化及抑制细胞凋亡等多重药理活性，在肺病领域展现出显著疗效。临床实践证实，以化橘红为核心成分的橘红痰咳液对轻、中、重度咳嗽伴咯痰证状均具有良好治疗效果，且安全性良好，未见明显不良反应报道[12]。

本研究采用网络药理学方法系统解析化橘红止咳化痰的作用机制。通过构建“活性成分-靶点-通路”网络模型，共筛选出 10 种具有潜在药效的活

性成分。具体而言，柚皮素（naringenin）可通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/磷酸酶与张力蛋白同源物（phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/phosphatase and tensin homolog, PI3K/Akt/PTEN）信号通路及核因子 κB（nuclear factor kappa-B, NF-κB）介导的炎症反应，发挥抗炎与抗氧化双重作用[13-14]。枸橘苷通过调节 Th17/Treg细胞平衡，抑制 NF-κB 通路激活，有效减轻小鼠结肠炎症反应[15]。异橙黄酮（isosinensetin）与 5,7,4'-三甲氧基黄酮（5,7,4'-Trimethylapigenin）同属黄酮类化合物，二者均可通过激活抗氧化酶系、抑制促炎细胞因子释放，展现抗菌、抗病毒及气道保护作用[16]。川陈皮素具有抗炎、抗氧化作用，可以通过抑制 NF-κB 信号通路发挥抗炎活性，其抗氧化活性可抑制氧化应激反应，对氟尿嘧啶诱导的肺损伤具有保护作用[17]。β-谷甾醇通过激活肝 X 受体/ATP 结合盒转运蛋白 A1通路发挥抗炎效果，缓解 LPS 诱导的急性肺损伤[18]。Kan 等研究显示，β-谷甾醇通过抑制 FGFR1 和 EGFR 表达，下调磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白/分化簇 1 (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mechanistic target of rapamycin/cluster of differentiation 1, PI3K/AKT/mTOR/CD1) 信号通路，从而抑制肿瘤细胞增殖、诱导凋亡和减少迁移，表现出抗癌潜力[19]。此外，化橘红活性成分柚皮素、β-谷甾醇可以通过激活糖皮质激素受体，进一步发挥抗炎作用[20-21]。

基于 Cytoscape 软件的拓扑学分析进一步揭示，GAPDH、AKT1、EGFR 和 BCL2 为化橘红止咳化痰的核心作用靶点。其中，GADPH 是糖酵解的关键酶，在细胞中参与氧化应激等多种作用，最新研究显示，GADPH 过表达促进肿瘤细胞生长和转移[22]。AKT1 广泛分布于肺组织，参与代谢、转录及翻译等关键细胞功能，并在炎症性疾病中发挥重要调控作用。研究显示，抑制 AKT1 表达可显著减少博来霉素诱导的小鼠肺泡巨噬细胞促炎细胞因子生成，进而阻断纤连蛋白沉积，对延缓肺纤维化进程具有积极意义[23]。EGFR 属于酪氨酸激酶受体家族成员，可以调节细胞增殖等功能，参与丝裂原活化蛋白激酶/ 细胞外信号调节激酶 (mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase, MAPK/ERK)、PI3K/AKT 等信号通路，其异常高表达与特发性肺纤维化关系密切[24]。BCL2 蛋白家族是调节线粒体凋亡途径的关键蛋白，可促进细胞存活，在间质性肺病炎症、凋亡和纤维化的发病机制中起着关键作用，BCL2 在不同细胞类型中表达不同，在成纤维细胞中表达上升，抑制其表达有助于改善肺纤维化[25]。经 LPS 诱导后，在小鼠单核巨噬细胞炎症中观察到 BCL2 表达水平降低[26]。分子对接结果显示，化橘红活性成分与 GAPDH、AKT1、EGFR 和 BCL2 结合活性较佳，表示化橘红活性成分与核心蛋白结合较稳定，可以发挥止咳化痰作用。细胞实验表明，化橘红提取物可提高 BEAS-2B 细胞存活率，降低 AKT1 表达、升高 BCL2 表达，表明化橘红可以缓解细胞炎症反应，促进细胞存活，对改善炎症反应有一定作用。

GO 功能富集与 KEGG 通路分析表明，化橘红通过调控雌激素信号通路、HIF-1 信号通路和 TNF 信号通路等多条信号通路发挥止咳化痰作用。雌激素信号通路参与调节肺部发育和功能，雌激素与其相应受体结合，通过雌激素受体 β/硫氧还蛋白相关跨膜蛋白 4/微小 RNA-622/趋化因子受体 4 信号促进非小细胞肺癌细胞入侵[27]，此外，研究显示雌激素还参与调节支气管平滑肌，雌激素受体高表达导致支气管收缩性增加，加重呼吸道疾病[28]。HIF 信号通路是细胞对缺氧反应的重要调节通路，McClendon 等发现 HIF-1α 在急性肺损伤后肺泡上皮细胞中被激活，并促进其增殖和扩散，加快肺修复[29]。TNF 信号通路是细胞信号传导的关键途径之一，Lu 等发现 TNF-α 在 LPS 诱导的急性肺损伤中高表达[30]。结果显示，化橘红可能通过干预 TNF 信号通路减轻炎症反应，通过 HIF 信号通路改善缺氧环境，通过雌激素信号通路调节支气管平滑肌扩张等多靶点、多通路的协同作用，实现对咳嗽病理过程的综合干预。

综上，本研究表明化橘红可能通过靶向 GAPDH、AKT1、EGFR 和 BCL2 等关键节点，调控雌激素信号通路、HIF-1 信号通路和 TNF 信号通路等信号通路，发挥止咳化痰作用。细胞实验结果表明，化橘红提取物通过下调 AKT1 表达，上调 BCL2 表达，发挥抗炎、提升细胞存活率作用。

【参考文献】

[1] NAQVI K F, MAZZONE S B, SHILOH M U. Infectious and inflammatory pathways to cough[J]. Annu Rev Physiol, 2023, 85: 71-91.
[2] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南（2021）[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2022, 45（1）: 13-46.
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 125.
[4] WU G Y, WEI X Q, LI D M, et al. Selection and evaluation of quality markers for the regulation of PXR-CYP3A4/FXR-LXRα

by Exocarpium Citri Grandis for the treatment of hyperlipidaemia with dispelling blood stasis and removing phlegm[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 170: 116089.
[5] CHEN T T, WU X Q, WANG D N, et al. Exocarpium citri grandis ameliorates metabolic disorders by inhibiting inflammatory responses and NLRP3 inflammasome activation[J]. Food Sci Nutr, 2025, 13(11): e71074.
[6] ZHU X T, LI J, XIAO G S, et al. Key metabolic pathways of the aging process of Citri Grandis Exocarpium and its identified potential metabolites associated with antioxidant activity[J]. npj Sci Food, 2025, 9: 57.
[7] CHEN J, QIN X, CHEN M Y, et al. Biological activities, Molecular mechanisms, and Clinical application of Naringin in Metabolic syndrome[J]. Pharmacol Res, 2024, 202: 107124.
[8] ZHAO X Y, XIU J, YANG H Z, et al. Network pharmacology and bioinformatics study of six medicinal food homologous plants against colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(3): 930.
[9] TANG D D, CHEN M J, HUANG X H, et al. SRplot: a free online platform for data visualization and graphing[J]. PLoS One, 2023, 18(11): e0294236.
[10] LIU Y, YANG X C, GAN J H, et al. CB-Dock2: improved protein–ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting[J]. Nucleic Acids Res, 2022, 50(W1): W159-W164.
[11] 孙增涛, 师艺航, 李小娟. 咳嗽中医诊疗专家共识意见(2021)[J]. 中医杂志, 2021, 62(16): 1465-1472.
[12] 张瑜, 吴国珍. 橘红痰咳液治疗外感风寒(或夹湿)型咳嗽疗效观察 [J]. 世界科学技术, 2017, 19(6): 1026-1030.
[13] HUA F Z, YING J, ZHANG J, et al. Naringenin pre-treatment inhibits neuroapoptosis and ameliorates cognitive impairment in rats exposed to isoflurane anesthesia by regulating the PI_3/Akt/PTEN signalling pathway and suppressing NF-κB-mediated inflammation[J]. Int J Mol Med, 2016, 38(4): 1271-1280.
[14] WANG Q Y, OU Y J, HU G M, et al. Naringenin attenuates non-alcoholic fatty liver disease by down-regulating the NLRP3/NF-κB pathway in mice[J]. Br J Pharmacol, 2020, 177(8): 1806-1821.
[15] KANG G D, KIM D H. Poncirin and its metabolite ponciretin attenuate colitis in mice by inhibiting LPS binding on TLR4 of macrophages and correcting Th17/Treg imbalance[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 189: 175-185.
[16] CHEN S, WANG X J, CHENG Y, et al. A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids[J]. Molecules, 2023, 28(13): 4982.
[17] ATILA USLU G, USLU H, ÇOBAN T A, et al. Nobiletin reduces 5-FU-induced lung injury with antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic activities[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2025, 398(7): 8543-8554.
[18] HE D X, WANG S Q, FANG G F, et al. LXRs/ABCA1 activation contribute to the anti-inflammatory role of phytosterols on LPS-induced acute lung injury[J]. J Funct Foods, 2022, 89: 104966.
[19] KAN S A. β-sitosterol suppresses fibroblast growth factor and epidermal growth factor receptors to induce apoptosis and inhibit migration in lung cancer: an *in vitro* study[J]. Am J Cancer Res, 2025, 15(3): 1109-1121.
[20] LIU J H, YAO J D, ZHANG J. Naringenin attenuates inflammation in chronic obstructive pulmonary disease in cigarette smoke induced mouse model and involves suppression of NF-κB[J]. J Microbiol Biotechnol, 2018. DOI:10.4014/jmb.1810.10061.
[21] XU J F, YANG L, LIN T T. β-sitosterol targets glucocorticoid receptor to reduce airway inflammation and remodeling in allergic asthma[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2023, 78: 102183.
[22] WANG K, LI J Z, ZHANG H, et al. Tobacco smoking rewires cell metabolism by inducing GAPDH succinylation to promote lung cancer progression[J]. Cancer Res, 2025, 85(15): 2838-2857.
[23] NIE Y J, HU Y D, YU K K, et al. Akt1 regulates pulmonary fibrosis *via* modulating IL-13 expression in macrophages[J]. Innate Immun, 2019, 25(7): 451-461.
[24] SCHRAMM F, SCHAEFER L, WYGRECKA M. EGFR signaling in lung fibrosis[J]. Cells, 2022, 11(6): 986.
[25] HE Y C, LI F, ZHANG C, et al. Therapeutic effects of the bcl-2 inhibitor on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 645846.
[26] YANG Z, KAO X Y, ZHANG L, et al. Exploring the anti-PANoptosis mechanism of dachaihu decoction against sepsis-induced acute lung injury: network pharmacology, bioinformatics, and experimental validation[J]. Drug Des Dev Ther, 2025, 19: 349-368.
[27] LIU S Q, HU C P, LI M, et al. Estrogen receptor beta promotes lung cancer invasion *via* increasing CXCR4 expression[J]. Cell Death Dis, 2022, 13: 70.
[28] SATHISH V, FREEMAN M R, LONG E, et al. Cigarette smoke and estrogen signaling in human airway smooth muscle[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(3): 1101-1115.
[29] MCCLENDON J, JANSING N L, REDENTE E F, et al. Hypoxia-inducible factor 1α signaling promotes repair of the alveolar epithelium after acute lung injury[J]. Am J Pathol, 2017, 187(8): 1772-1786.
[30] LU Y, WU Y, HUANG M F, et al. Fuzhengjiedu formula exerts protective effect against LPS-induced acute lung injury *via* gut-lung axis[J]. Phytomedicine, 2024, 123: 155190.

［收稿日期］ 2026-04-22　［修回日期］ 2026-05-19
［本文编辑］ 李睿旻