

基于网络药理学的羌活-独活药对抗炎作用机制研究[△]

段凯旋^{1*},李跃文¹,刘和波²,王博龙^{1#}(1.宜春学院化学与生物工程学院,江西宜春 336000;2.宜春学院医学院,江西宜春 336000)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)09-1241-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.09.18

摘要 目的:预测羌活-独活药对抗炎活性成分及其作用机制。方法:根据口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和类药性 ≥ 0.18 的原则分别筛选羌活、独活的活性成分,通过中药系统药理学分析平台(TCMSP)对羌活、独活的潜在作用靶点进行预测和筛选,然后以“Anti-inflammatory”为关键词在人类基因数据库 Genecards 中检索炎症相关靶基因,并与羌活、独活中活性成分靶基因映射筛选出共同靶点,再利用 Cytoscape 3.5.1 软件建立活性成分-靶点网络。将筛选得到的靶点在相互作用基因/蛋白质搜索工具平台 STRING V 10.5 构建其靶蛋白相互作用(PPI)网络,并进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路和基因本体(GO)富集分析,以研究其抗炎机制。结果:从羌活、独活药对中共筛选得到香豆素、 β -谷甾醇、欧前胡素、紫花前胡苷等 15 个活性成分,作用于转录因子 AP-1、磷脂酰肌醇激酶 3 α 亚基、雌激素受体等 49 个靶点,主要涉及乙型肝炎、细胞凋亡等 19 条信号通路,参与炎症反应调节、前列腺素类生物合成等 47 个生物过程。结论:预测了羌活-独活药对活性成分多靶点、多通路、多生物过程的抗炎机制,为其进一步的抗炎机制研究指明了方向。

关键词 羌活;独活;药对;抗炎机制;靶蛋白相互作用;信号通路

Study on Anti-inflammatory Mechanism of Couplet Medicine of *Notopterygium incisum*-*Angelica pubescens* Based on Network Pharmacology

DUAN Kaixuan¹, LI Yuewen¹, LIU Hebo², WANG Bolong¹ (1.School of Chemical and Biological Engineering, Yichun University, Jiangxi Yichun 336000, China; 2.School of Medicine, Yichun University, Jiangxi Yichun 336000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To predict the anti-inflammatory active components and mechanism of couplet medicine of *Notopterygium incisum*-*Angelica pubescens*. METHODS: According to the principle of oral bioavailability $\geq 30\%$ and drug-likeness ≥ 0.18 , active components of *N. incisum* and *A. pubescens* were screened; TCMSP was used to predict and screen the potential target of them. Using “Anti-inflammatory” as keyword, inflammatory related target genes were retrieved from human gene database Genecards. Common target was screened by mapping the target genes of active ingredients from couplet medicine of *N. incisum*-*A. pubescens*. The active ingredient-target network was established by using Cytoscape 3.5.1 software. The screened targets were used to construct the target protein interaction (PPI) network on the STRING V 10.5 platform. Its anti-inflammatory mechanism was studied by KEGG signaling pathway and GO biological enrichment analysis. RESULTS: Totally 15 active components such as coumarin, beta-sitosterol, ammidin, nodakenin were selected from couplet medicine of *N. incisum*-*A. pubescens*. Acting on 49 targets such as transcription factor AP-1, PI3-kinase subunit gamma, estrogen receptor, they mainly involved 19 signaling pathways such as hepatitis B and cell apoptosis, and were involved in 47 biological processes such as regulating inflammatory response and prostaglandin biosynthesis. CONCLUSIONS: The anti-inflammatory mechanism of active components of couplet medicine of *N. incisum*-*A. pubescens* on multi-target, multi-channel and multi-biological processes is predicted, and it points out the direction for further anti-inflammatory mechanism study.

KEYWORDS *Notopterygium incisum*; *Angelica pubescens*; Couplet medicine; Anti-inflammatory mechanism; Target protein interaction; Signaling pathway

羌活与独活配伍始于唐《外台秘要》之宣痹汤^[1],二药合用属于七情中的相须相助^[2],可散风除湿、通络止痛,用于治疗风寒湿痹。已故名老中医焦树德善用羌

活-独活药对治疗类风湿性关节炎,认为羌活散寒祛风、胜湿止痛行气分,主治上肢痹症;独活祛风除湿、解表止痛行血分,善攻下肢痹症。二药相须为用,气血双调,上下同治,相互为用,可增强治疗痹证之疗效^[3]。名医孙曼之用羌活、独活等治疗感受风邪所致咳嗽、鼻塞、流涕以及下肢水肿、腰背疼痛等证疗效显著^[4]。刘晨等^[5]研究发现,羌活-独活药对及其单味药对弗氏完全佐剂诱导的关节炎模型大鼠有一定的改善作用,且药对作用优于

[△] 基金项目:江西省科技计划项目(No.20123BBG70259)

* 硕士研究生。研究方向:临床药学。E-mail: 2463365047@qq.com

通信作者:副教授,主治医师,硕士生导师,博士。研究方向:药物临床前药理、临床有效性及安全性评价。E-mail: wblong77@126.com

单药。虽然临床上羌活-独活联用治疗类风湿性关节炎、风湿性关节炎等炎性疾病疗效明确,但是其具体作用机制尚不清楚。

网络药理学由英国邓迪(Dundee)大学的药理学家于2007年首次提出^[6],并阐述为“下一代药物研究范式”。近年来,随着系统生物学、多向药理学、生物信息学、计算机技术等学科的快速发展与融合,网络药理学作为药物研究的新模式已经从理论发展到了实践。其以“疾病-基因-靶点-药物”多层次、多角度的相互作用网络为理念,挖掘药理学数据库、生物学数据库、疾病数据库等多种数据库的海量信息,运用专业的可视化网络分析软件及算法进行大数据综合分析,从网络层面系统综合地观察药物如何干预和影响疾病网络,从而揭示复杂药物协同作用于人体的机制。其整体性、系统性的特点与中医药整体观、辨证论治、组方配伍的原则不谋而合,在中医药药效物质基础^[7]、作用机制^[8]、新药研发^[9]、新适应证^[10]、配伍规律^[11]等方面展现出了巨大潜力,解决了实验研究周期长、费用高、低通量、盲目性等诸多弊端,已成为中医药复杂体系研究的新机遇、新利器。故本研究拟借助网络药理学方法,全面、系统地分析羌活-独活药对的成分、靶点、通路之间的网络关系,旨在为阐明其抗炎的药效物质及作用机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 数据库与软件

中药系统药理学分析平台(TCMSP, <http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>);通用蛋白质数据库 UniProt (<http://www.uniprot.org/uploadlists/>);人类基因数据库 Genecards (<http://www.genecards.org/>);蛋白质互作平台 STRING V 10.5 (<https://string-db.org/>);生物学信息注释数据库 DAVID V 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>);网络拓扑属性分析软件 Cytoscape 3.5.1 (<http://cytoscape.org/>)。

1.2 活性成分的选择

利用 TCMSP 平台,根据口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18的原则收集羌活、独活两味中药的化学成分^[12],再结合文献报道最终确定其活性成分,统一保存为.mol2格式文件。

1.3 靶点筛选及活性成分-靶点网络构建

通过 TCMSP 平台收集羌活、独活的潜在作用靶点,利用蛋白质数据库 UniProt 转换成对应的基因名称,在人类基因数据库 Genecards 中以“Anti-inflammatory”为关键词,检索炎症相关靶基因,并与羌活、独活药对中活性成分靶基因映射筛选出共同靶点,确定为药对活性成分的抗炎靶点。最后采用 Cytoscape 3.5.1 软件建立活性成分-靶点网络(在该网络中,节点代表化合物、靶蛋白,边代表化合物-靶点的相互作用)。

1.4 靶点相互作用研究

为明确羌活-独活药对抗炎靶点之间的相互作用,

将筛选得到的靶点在 STRING 平台构建其靶蛋白相互作用(PPI)网络(图中节点代表蛋白,线代表互作关系)。设置蛋白种类为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值设为中等“Medium confidence”,其他参数保持默认设置。将 PPI 网络图导入 Cytoscape 3.5.1 软件进行拓扑属性分析。借助“Network analyzer”功能,计算参与互作靶蛋白的度值(Degree)和介数(Betweenness),选取 Degree 和 Betweenness 同时在平均数之上的靶标作为关键靶标,以明确药对作用的主要靶点(PPI 中度值反映了一个节点与其他节点的连接数目,介数是网络中所有最短路径中经过该节点的路径的数目占最短路径总数的比,度值和介数是量化一个节点在网络中重要性的主要拓扑参数)^[13]。

1.5 京都基因与基因组百科全书代谢通路富集分析

利用生物学信息注释数据库 DAVID V 6.8 进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路分析,物种与背景设置均为“Homo sapiens”(智人),以 $P < 0.05$ 为标准,研究靶点投射各通路中的个数及其在每个通路蛋白中的占比(百分率),明确其抗炎的主要信号通路。

1.6 基因本体生物过程富集分析

通过 Cytoscape 3.5.1 软件中的“BiNGO”插件对关键靶点进行基因本体(GO)生物过程富集分析(以 $P < 0.05$ 为标准判断相关),建立 GO 生物过程层级关系图,分析靶点在体内可能参与的生物过程,并用“MCODE”插件对不同的生物过程进行聚类分析(MCODE 是以节点赋权重、模块预测以及可选的后期处理为步骤的,基于密度的局部搜索聚类算法,可将不同类别 GO 生物过程分为不同的子簇,同一子簇下的 GO 生物过程具有相似的功能特性,用以探究各子簇代表的主要 GO 生物过程及其药理意义)。

2 结果

2.1 主要活性成分选取结果

根据 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的原则筛选药效成分,虽然部分成分(如结晶乙酸柏木酯、亚油酸甲酯等)未达标,但是这些成分在药材中含量较高,加上较多文献^[14-16]均报道其具有明显的药理作用,因此将这些成分也纳入到后续研究中,最终筛选出了 15 个化学成分。羌活、独活药材中活性成分及参数详见表 1。

2.2 靶点筛选及成分-靶点网络图构建结果

通过 TCMSP 平台共找得 170 个靶蛋白,将这些靶蛋白转化成对应的基因。将 170 个靶基因与 Genecards 数据库挖掘到的 8 561 个抗炎相关基因映射后,得到共同靶基因 49 个,即为羌活-独活药对抗炎作用靶点。运用 Cytoscape 3.5.1 软件以 15 个活性成分及 49 个靶基因建立的活性成分-靶点网络图中,共有 64 个节点、143 条边,充分体现了羌活-独活多成分、多靶点的作用机制。羌活-独活药对活性成分-作用靶点网络图见图 1。

表1 羌活、独活药材中活性成分及参数

Tab 1 Active components and its parameters of *N. incisum* and *A. pubescens*

药材	活性成分	英文名	TCMS编号	分子式	OB, %	DL
羌活	香豆素	coumarin, glycoside	MOL000431	C ₉ H ₈ O ₂	33.07	0.78
	羌活醇	notoptol	MOL011975	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	62.97	0.48
	佛手柑内酯	bergapten	MOL001951	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	41.73	0.42
	蛇床素	cnidilin	MOL001956	C ₁₇ H ₁₆ O ₃	32.69	0.28
	珊瑚菜素	phellopterin	MOL002644	C ₁₇ H ₁₆ O ₃	40.19	0.28
独活	香叶木素	diosmetin	MOL002881	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	31.14	0.27
	亚油酸甲酯	methyl Linoleate	MOL001641	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	41.93	0.17
	结晶乙酸木酯	cedryl acetate	MOL001575	C ₁₇ H ₂₄ O ₂	53.94	0.17
	二氢欧山芹醇酯	<i>O</i> -acetylcumbianetin	MOL003608	C ₁₈ H ₁₆ O ₃	60.04	0.26
	当归酮	angelicone	MOL004780	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	30.99	0.19
共有	异紫花前胡内酯	marmesine	MOL004793	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	84.77	0.18
	欧前胡素	ammidin	MOL001941	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	34.55	0.22
	β-谷甾醇	beta-sitosterol	MOL008583	C ₂₈ H ₄₈ O	36.91	0.75
	异欧前胡素	isomperatorin	MOL001942	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	45.46	0.23
	紫花前胡苷	nodakenin	MOL004792	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	57.12	0.69

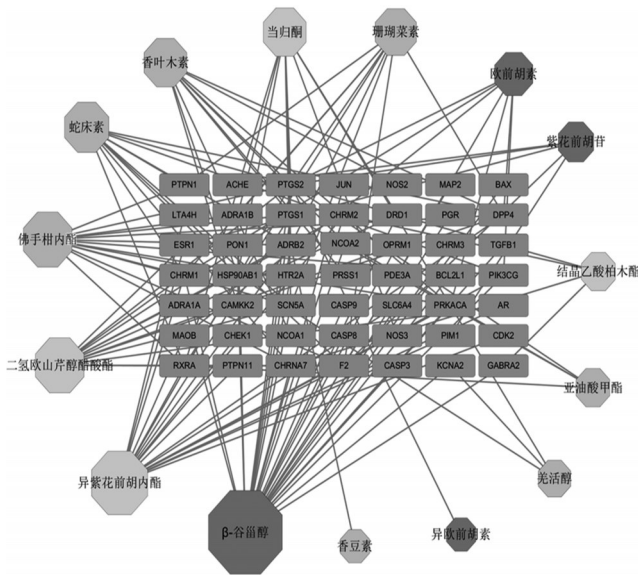


图1 羌活-独活药对活性成分-作用靶点网络
Fig 1 Active components-target network of couplet medicine of *N. incisum*-*A. pubescens*

2.3 靶点PPI网络分析结果

PPI网络中实际包含47个节点(2个靶点未参与PPI网络构建)和189条相互作用连线。PPI网络平均Degree为8.04,平均Betweenness为 3.1×10^{-2} , Degree、Betweenness均超过平均值的靶点共有11个,即这11个靶点为羌活-独活药对发挥抗炎药效作用的关键靶点。羌活-独活药对靶点PPI网络图见图2,关键靶点的拓扑参数见表2。

2.4 KEGG代谢通路分析结果

符合 $P < 0.05$ 且与炎症密切相关的信号通路包括乙型肝炎(Hepatitis B)、细胞凋亡(Apoptosis)等19条。其中乙型肝炎信号通路与炎症的发生密切相关(P 值最小),故以其为例观察药对活性成分作用靶点在该通路

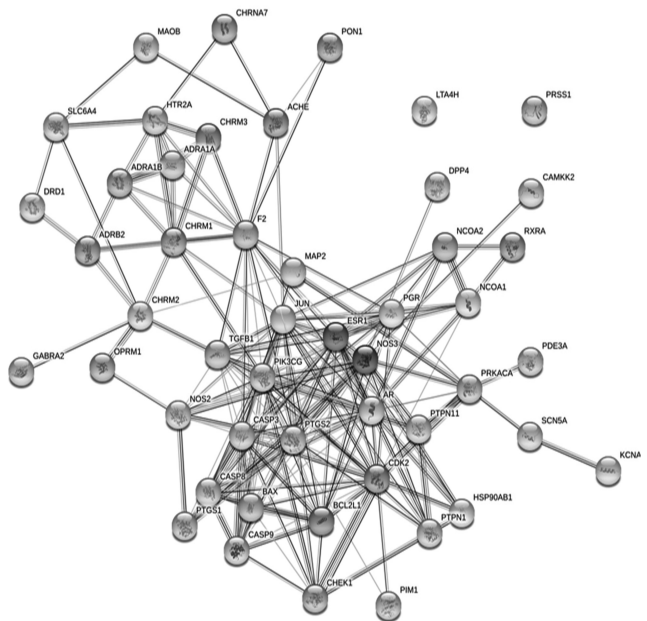


图2 羌活-独活药对靶点PPI网络图
Fig 2 PPI network diagram of the target of couplet medicine of *N. incisum*-*A. pubescens*

表2 关键靶点的拓扑参数

Fig 2 Topological parameters of key targets

靶点全称	中文名	靶点简称	Degree	Betweenness
Transcription factor AP-1	转录因子AP-1	JUN	23	1.5×10^{-1}
PI3-kinase subunit gamma	磷脂酰肌醇激酶3γ亚基	PIK3CG	20	1.0×10^{-1}
Estrogen receptor	雌激素受体	ESR1	19	4.0×10^{-2}
Nitric oxide synthase	一氧化氮合酶	NOS	19	1.5×10^{-1}
Prostaglandin G/H synthase 2	前列腺素G/H合成酶2	PTGS2	18	3.7×10^{-2}
Caspase-3	胱天蛋白酶3	CASP3	18	3.8×10^{-2}
Prothrombin	凝血酶原	F2	18	2.3×10^{-1}
Androgen receptor	雄性激素受体	AR	16	7.0×10^{-2}
Progesterone receptor	孕激素受体	PGR	12	3.6×10^{-2}
Muscarinic acetylcholine receptor M1	乙酰胆碱受体M1	CHRM1	9	4.0×10^{-2}
cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha	cAMP依赖蛋白激酶催化亚基α	PRKACA	8	1.3×10^{-1}

中的富集情况。结果发现,羌活-独活药对活性成分可作用于该通路中的JUN、CAPS3、CAPS8、CAPS9、PIK3CG、BAX、CDK2、TGFB1等靶点,发挥抗炎作用。抗炎作用靶点KEGG代谢通路统计结果见表3,乙型肝炎信号通路图见图3。

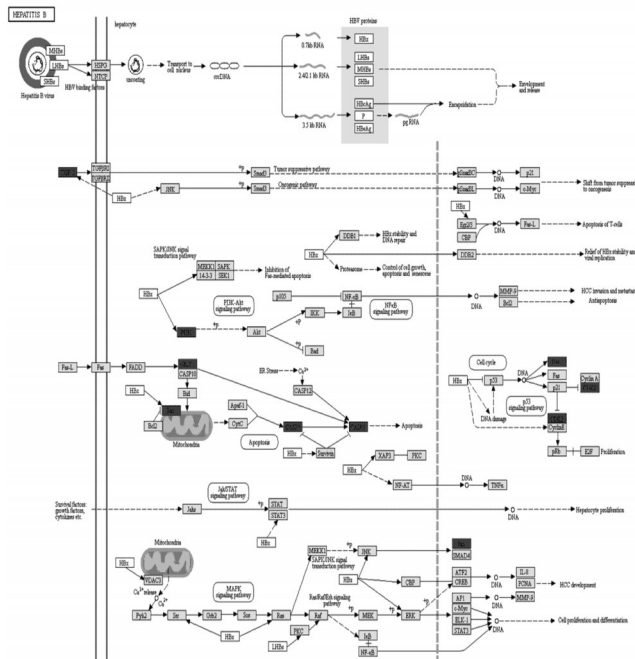
2.5 GO生物富集过程分析结果

羌活-独活药对靶点GO生物过程富集得到293个生物过程。按照MCODE聚类分析算法得到47个子簇,其中与抗炎密切相关的子簇包括细胞凋亡、细胞迁移与新生血管生成、炎症反应、T细胞反应、白细胞反应、病毒调控、皮质类固醇刺激的反应、5-羟色胺分泌的负调节、前列腺素类生物合成、淋巴调控等10个子簇。GO生物过程层级关系见图4,子簇注释及中心GO生物富集过程见表4。

表3 抗炎作用靶点 KEGG 代谢通路统计结果

Tab 3 KEGG metabolism pathway of anti-inflammatory targets

KEGG 代谢通路	靶点数	百分率, %	P
Hepatitis B	8	16.3	4.2×10^{-5}
Estrogen signaling pathway	7	14.3	4.4×10^{-5}
Apoptosis	6	12.2	5.1×10^{-5}
p53 signaling pathway	6	12.2	7.4×10^{-5}
Cholinergic synapse	7	14.3	8.3×10^{-5}
cAMP signaling pathway	8	16.3	3.0×10^{-4}
PI3K-Akt signaling pathway	9	18.4	1.8×10^{-3}
Adrenergic signaling in cardiomyocytes	6	12.2	2.7×10^{-3}
Morphine addiction	5	10.2	3.0×10^{-3}
Cocaine addiction	4	8.2	4.1×10^{-3}
Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	4	8.2	4.3×10^{-3}
TNF signaling pathway	5	10.2	5.2×10^{-3}
Tuberculosis	6	12.2	6.0×10^{-3}
HTLV-1 infection	7	14.3	6.6×10^{-3}
VEGF signaling pathway	4	8.2	7.6×10^{-3}
Amphetamine addiction	4	8.2	9.4×10^{-3}
Chronic myeloid leukemia	4	8.2	1.2×10^{-2}
Herpes simplex infection	5	10.2	3.3×10^{-2}
Insulin resistance	4	8.2	3.5×10^{-2}



注:着色重者为羌活-独活药对靶点

Note: heavily colored part is the target of couplet medicine of *N. incisum-A. pubescens*

图3 乙型肝炎信号通路图

Fig 3 Hepatitis B signaling pathway

3 讨论

羌活-独活是治疗类风湿性和风湿性关节炎的主要药对,但其具体药效成分并不清楚。本研究根据 OB、DL 以及文献挖掘纳入了 15 种成分,其中实验研究已明确证实的抗炎成分有香豆素、β-谷甾醇、欧前胡素和紫花前胡苷。如独活香豆素有可能通过降低大鼠血清白细胞介素 1α (IL-1α)、IL-1β、IL-6、肿瘤坏死因子α

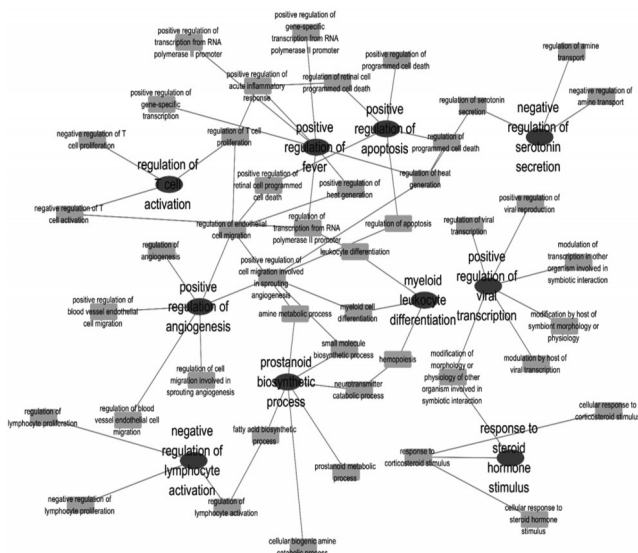


图4 GO 生物过程层级关系

Fig 4 Hierarchy of GO biological processes

表4 子簇注释及中心 GO 生物富集过程

Tab 4 Subcluster annotation and central GO biological enrichment process

序号	子簇图	子簇主要功能注释	子簇中心 GO 生物富集过程	P
1		细胞凋亡	positive regulation of apoptosis	1.40×10^{-5}
2		细胞迁移与新生血管生成	regulation of angiogenesis	9.54×10^{-3}
3		炎症反应	positive regulation of fever	4.84×10^{-2}
4		T 细胞反应	regulation of T cell activation	1.81×10^{-2}
5		白细胞反应	myeloid leukocyte differentiation	1.75×10^{-3}
6		淋巴调控	regulation of lymphocyte activation	2.93×10^{-2}
7		病毒调控	regulation of viral transcription	4.04×10^{-2}
8		皮质类固醇刺激的反应	response to corticosteroid stimulus	1.28×10^{-5}
9		5-羟色胺分泌的负调节	negative regulation of serotonin secretion	1.70×10^{-2}
10		前列腺素类生物合成	prostanoid biosynthetic process	3.40×10^{-3}

(TNF-α) 等炎症因子的表达,对帕金森病起到保护作用^[16];β-谷甾醇与阿司匹林联合使用比单独使用阿司匹林的抗炎效果更强^[17]。胡荣等^[18]通过耳肿胀法、足肿胀法、腹腔毛细血管法证实了欧前胡素通过降低前列腺素 E₂ (PEG₂)、IL-1 以及 TNF-α 浓度发挥抗炎作用;熊友谊等^[19]发现,紫花前胡苷能显著下调哮喘模型小鼠 IL-4、IL-5、IL-13 等炎症因子水平,抑制气道炎症反应,其余活性成分的抗炎作用还有待于实验进一步确认。

PPI 分析结果显示, JUN、PIK3CG、ESR1、NOS、PTGS2 等是羌活-独活抗炎的关键靶点,而研究证实上述靶点与炎症的发生发展密切相关。如 JUN 是哺乳动

物细胞内 AP-1 亚单位之一;而 AP-1 是位于 JNK 下游的关键信号蛋白分子, JNK 受刺激后, 可激活 JUN, 使其磷酸化, 从而使炎症转录启动并增强, 导致炎症持续和发展^[20]。PIK3CG 编码蛋白属于磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 的一个亚型, 主要表达在白细胞和心血管系统, 在炎症过程中扮演着重要作用^[21]。研究发现^[22], 人内皮细胞上 ESR1 激活后能减少炎症介质 TNF- α 介导的促炎症细胞黏附分子产生, 从而抑制炎症反应。NOS3 又称 eNOS, 是内皮型一氧化氮合酶, 能够催化血管内皮细胞合成一氧化氮 (NO), 而 NO 在免疫反应及炎症反应中发挥重要作用, 如 NO 可通过调节炎症信号和调节树突状细胞的生命周期而表现出抗炎作用^[23]。PTGS2 是前列腺素合成过程中的关键酶, 而前列腺素是一种重要的炎症介质, 参与机体炎症反应。Ban HS 等^[24]发现, 欧前胡素能够抑制大鼠腹膜巨噬细胞中前列腺素的产生, 同时还能抑制环氧酶 2 和前列腺素 E 合成酶产生, 从而发挥抗炎作用。

KEGG 代谢通路及 GO 生物过程富集结果显示, 羌活-独活药对靶点参与多条抗炎镇痛通路, 如乙型肝炎、细胞凋亡等, 涉及病毒调控、白细胞反应、淋巴调控等炎症生物过程。有研究也发现, 欧前胡素能够调控水泡性口腔炎病毒假型或糖蛋白 gp160 包膜的人类免疫缺陷病毒 I 型对 T 细胞和 HeLa 细胞的感染^[25]。另有研究表明^[26], 羌活能显著抑制弗氏完全佐剂所致的大鼠足肿胀, 这与其调控大鼠全血白细胞吞噬功能以及淋巴细胞转化有关。

综上所述, 本研究应用网络药理学方法, 对羌活-独活药对的活性成分、靶点以及通路间的复杂关系进行了分析, 初步揭示了其通过影响细胞迁移与凋亡、调节免疫反应, 抑制炎症因子产生, 从而发挥抗炎效应, 这为其做进一步的抗炎机制实验研究指明了方向。

参考文献

[1] 梁晨, 周桂芳. 中药配伍应用[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2005: 13.

[2] 刘庆林. 羌活药对的临床应用探微[J]. 湖南中医杂志, 2016, 32(6): 151-152.

[3] 盛好, 何春辉, 安莉萍. 试析焦氏“治痹汤”的临床运用[J]. 吉林中医药, 2012, 32(5): 455-457.

[4] 王东军, 李娜, 孙曼之, 等. 渭南名医孙曼之运用风药经验举隅[J]. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(1): 36-37.

[5] 刘晨, 王英豪, 陈智煌, 等. 药对羌活与独活及其单味药治疗佐剂关节炎初步研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(12): 20-22.

[6] HOPKINS AL. Network pharmacology[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10): 1110-1111.

[7] QI Q, LI R, LI HY, et al. Identification of the anti-tumor

activity and mechanisms of nuciferine through a network pharmacology approach[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(7): 963-972.

[8] ZENG LT, YANG KL. Exploring the pharmacological mechanism of yanghe decoction on HER2-positive breast cancer by a network pharmacology approach[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 199(1): 68-85.

[9] TANG F, TANG QF, TIAN YX, et al. Network pharmacology based prediction of the active ingredients and potential targets of mahuang fuzi xixin decoction for application to allergic rhinitis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 176(3): 402-412.

[10] ZENG LT, YANG KL, LIU HP, et al. A network pharmacology approach to investigate the pharmacological effects of guizhi fuling wan on uterine fibroids[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(5): 4697-4710.

[11] SHENG SJ, WANG JX, WANG LR, et al. Network pharmacology analyses of the antithrombotic pharmacological mechanism of fufang xueshuantong capsule with experimental support using disseminated intravascular coagulation rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 154(3): 735-744.

[12] 杨释岑, 刘志强, 刘和波, 等. 利用网络药理学方法研究交泰丸治疗糖尿病的作用机制[J]. 中国药房, 2018, 29(19): 2656-2661.

[13] 张亚军, 谢放. 羌活化学成分的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2017(4): 124-126.

[14] 杨小花, 胡晓. 欧前胡素与异欧前胡素的药理学研究进展[J]. 南昌大学学报, 2012, 52(3): 95-97.

[15] 陈宇. 羌活化学成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(5): 255-256.

[16] 肖潇雨, 裴媛. 羌活香豆素对乳胞素诱导的帕金森病模型大鼠血清炎症因子的影响[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11): 2690-2693.

[17] 肖志彬, 刘小雷, 成日青, 等. β -谷甾醇对阿司匹林副作用抵抗及抗炎作用影响的实验研究[J]. 内蒙古医科大学学报, 2015, 37(4): 350-354.

[18] 胡荣. 白芷中欧前胡素提取分离及主要药效学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2010.

[19] 熊友谊, 时维静, 俞浩, 等. 紫花前胡苷抑制哮喘小鼠气道炎症反应和 NF- κ B 信号传导通路[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(3): 690-693.

[20] 杨海华, 龙丰, 李圣青, 等. 1, 25-(OH) $_2$ D $_3$ 对激素抵抗型哮喘患者 T 淋巴细胞 JNK/AP-1 和糖皮质激素受体的影响[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2017, 16(2): 155-159.

[21] KÄCHELE M, HENNIGE AM, MACHANN J, et al. Variation in the phosphoinositide 3-kinase gamma gene affects plasma HDL-cholesterol without modification of metabolic or inflammatory markers[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144494.

牡丹花粉口含片的质量标准研究[△]

李志^{1*}, 李琳¹, 石晓峰^{1,2#}, 范彬²(1.甘肃中医药大学药学院, 兰州 730030; 2.甘肃省医学科学研究院, 兰州 730050)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)09-1246-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.09.19

摘要 目的:建立牡丹花粉口含片的质量控制方法,为其质量标准的拟定提供参考。方法:按2015年版《中国药典》(四部)薄层色谱(TLC)法对牡丹花粉口含片中的芍药苷、山柰酚、木犀草素进行定性鉴别;采用双波长-高效液相色谱(HPLC)法对牡丹花粉口含片中的芍药苷和氧化芍药苷进行定量分析[色谱柱为Agilent TC-C₁₈;流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱;流速为1.0 mL/min;检测波长芍药苷为230 nm、氧化芍药苷为258 nm;进样量为20 μL]。结果:芍药苷、山柰酚、木犀草素的TLC鉴别结果显示,在样品图谱中,与对照品图谱相应位置上均显相同颜色的特征斑点,且阴性对照无干扰。芍药苷和氧化芍药苷的检测质量浓度分别在7.2~86.4、2.72~32.64 μg/mL范围内与各自峰面积呈良好的线性关系($r \geq 0.9997$);平均加样回收率分别为99.12%、98.65%,RSD分别为1.54%、2.53%($n=6$);精密度($n=6$)、稳定性($n=8$)、重复性($n=6$)试验的RSD均小于3.0%。结论:该方法操作简便、重复性好,可用于牡丹花粉口含片的质量控制。

关键词 牡丹花粉口含片;薄层色谱;含量测定;双波长-高效液相色谱法;质量标准

Study on Quality Standard for Peony Pollen Buccal Tablets

LI Zhi¹, LI Lin¹, SHI Xiaofeng^{1,2}, FAN Bin² (1.College of Pharmacy, Gansu University of TCM, Lanzhou 730030, China; 2.Gansu Academy of Medical Science, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for quality control of Peony pollen buccal tablets, and to provide reference for the formulation of quality standard. METHODS: TLC method was used for qualitative identification of paeoniflorin, kaempferol and luteolin in Peony pollen buccal tablets according to 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia* (part IV). The contents of paeoniflorin and oxypaeoniflorin in Peony pollen buccal tablets were determined by dual-wavelength HPLC method [The determination was performed on Agilent TC-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile (A) -0.1% phosphoric acid solution (B) with gradient elution at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 230 nm for paeoniflorin and 258 nm for oxypaeoniflorin. Sample size was 20 μL]. RESULTS: TLC identification of paeoniflorin, kaempferol and luteolin showed that the same color characteristic spots of control chromatogram appeared in the corresponding positions of sample chromatogram without interference from negative samples. The linear range of paeoniflorin and oxypaeoniflorin were 7.2-86.4 μg/mL and 2.72-32.64 μg/mL ($r \geq 0.9997$), respectively. The average recoveries were 99.12% and 98.65%, and RSD were 1.54%

[22] 王健,徐杰,安雪青,等.雌激素活化GPER介导的IL-6/STAT3通路促进乳腺癌细胞SKBR-3增殖作用[J].第三军医大学学报,2014,36(4):340-345.

[23] 郑春松,严培晶,付长龙,等.从化合物-靶点作用网络的角度证实羌活抗炎镇痛的作用[J].风湿病与关节炎,2017,6(8):10-14.

[24] RIPAMONTI C, PAPAGNA A, STORINI C, et al. NO donors exhibit anti-inflammatory properties by modulating inflammatory signatures and by regulating the life cycle

of dendritic cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(6): 1421-1430.

[25] BAN HS, LIM SS, Suzukik, et al. Inhibitory effects of furanocoumarins isolated from the roots of *icaonpros-taglandin* E2 production[J]. *Planta Med*, 2003, 69(5): 408-412.

[26] SANCHO R, MARQUEZ N, GOME-GONZALO M, et al. Imperatorin inhibits HIV-1 replication through an Spl-dependent pathway[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(36): 37349-37359.

[27] 王昊,杨凤琴,潘梅,等.10种中药对致病性浅部真菌的抑菌实验研究[J].中医学杂志,1997,38(7):431-432.

(收稿日期:2018-12-31 修回日期:2019-03-27)

(编辑:林静)

[△] 基金项目:甘肃省重点研发计划项目(No. 18YF1FA041)

* 硕士研究生。研究方向:中药化学与中药质量标准。电话:0931-2302684。E-mail:1034192033@qq.com

通信作者:教授,主任药师。研究方向:天然药物化学与中药质量标准。电话:0931-2302664。E-mail:shixiaofeng2005@sina.com