

基于指纹图谱和网络药理学的连翘质量标志物预测分析^Δ

景奉堂^{1*},冯 帅^{1,2},王 静³,吕绪桢¹,张天屹¹,张天锡¹,李 峰^{1,2#}(1.山东中医药大学药学院,济南 250355; 2.山东省高校中药质量控制与全产业链建设协同创新中心,济南 250355;3.东营市东营区市场监督管理局,山东东营 257000)

中图分类号 R284;R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)03-0293-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.03.07



摘要 目的 预测连翘的质量标志物(Q-Marker)。方法 采用高效液相色谱法建立10批连翘药材的指纹图谱,并进行共有峰指认,筛选连翘药材中的Q-Marker候选成分;采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对连翘挥发油成分进行分析,筛选挥发油中的Q-Marker候选成分;然后将筛选的Q-Marker候选成分进行网络药理学分析,构建“连翘Q-Marker候选成分-靶点-通路”网络,并预测连翘的Q-marker。结果与结论 10批连翘药材共得到21个共有峰,指认了连翘苷、连翘酯苷A、松脂素-β-D-葡萄糖苷、芦丁4个成分;经GC-MS分析后得到连翘挥发油中β-蒎烯、α-蒎烯、松油烯-4-醇、柠檬烯、γ-松油烯、α-水芹烯、β-月桂烯7个Q-Marker候选成分;进一步经网络药理学分析共得到16个关键靶点和17条通路,初步预测连翘苷、连翘酯苷A、松脂素-β-D-葡萄糖苷、芦丁、松油烯-4-醇、α-水芹烯、α-蒎烯、β-蒎烯为连翘的Q-marker。

关键词 连翘;质量标志物;指纹图谱;网络药理学

Predictive analysis of quality markers of *Forsythia suspensa* based on fingerprint and network pharmacology

JING Fengtang¹, FENG Shuai^{1,2}, WANG Jing³, LYU Xuzhen¹, ZHANG Tianyi¹, ZHANG Tianxi¹, LI Feng^{1,2}(1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Collaborative Innovation Center for Quality Control and Construction of Whole Industrial Chain for Traditional Chinese Medicine in Universities of Shandong Province, Jinan 250355, China; 3. Dongying District Market Supervision and Administration Bureau in Dongying City, Shandong Dongying 257000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To predict the quality marker (Q-Marker) of *Forsythia suspensa*. **METHODS** The fingerprints of 10 batches of *F. suspensa* were established by high performance liquid chromatography. The common peaks were confirmed. The candidate components of Q-Marker in *F. suspensa* were screened. The volatile oil of *F. suspensa* were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the candidate components of Q-Marker in volatile oil were screened. The network pharmacology analysis was performed for the candidate components of Q-Marker. The network diagram of the “candidate components of *F. suspensa* Q-Marker-target-pathway” was constructed to predict the Q-marker of *F. suspensa*. **RESULTS & CONCLUSIONS** Twenty-one common peaks were obtained for 10 batches of *F. suspensa*, and four components were identified as phillyrin, forsythoside A, pinoselin-4-O-β-D-glucoside and rutin. Seven candidate components were obtained by GC-MS analysis, such as β-pinene, α-pinene, terpinen-4-ol, limonene, γ-terpinene, α-phellandrene, β-myrcene. By network pharmacology analysis, 16 key targets and 17 pathways were obtained. It was preliminarily predicted that phillyrin, forsythoside A, pinoselin-4-O-β-D-glucoside, rutin, terpinen-4-ol, α-phellandrene, α-pinene and β-pinene were Q-marker of *F. suspensa*.

KEYWORDS *Forsythia suspensa*; quality marker; fingerprint; network pharmacology

连翘为木犀科植物连翘*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl的干燥果实。根据采收期的不同,初熟尚带绿色时

Δ 基金项目:国家科技重大专项“重大新药创制”项目(No.2017ZX09301058);山东省中医药科技项目(No.2021Q073);山东省高校中药质量控制与全产业链建设协同创新中心项目(No.CYLXTCX2020-09)

* 硕士研究生。研究方向:中药鉴定学、中药质量控制与中药资源。E-mail:jingfengtang@163.com

通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:中药鉴定学、中药质量控制与中药资源。E-mail:13969141796@163.com

采收、除去杂质、蒸熟、晒干者,习称“青翘”;果实熟透时采收、除去杂质、晒干者,习称“老翘”^[1]。连翘具有清热解毒、消肿散结、疏散风热之功效,常用于治疗风热感冒、温病初起、乳痈肿毒等^[1],其中青翘在发汗、抑菌解毒方面优于老翘,已成为市场主流品种^[2]。现代研究表明,连翘中主要含有木脂素类、苯乙醇苷类、挥发油类成分,具有抗炎、抑菌、抗肿瘤、抗氧化等药理作用^[3]。

目前,市售连翘药材质量参差不齐,存在采收抢“青”、市场等级规格划分不清的情况。2020年版《中国

药典》连翘含量测定项下仅对连翘苷、连翘酯苷A、总挥发油进行控制^[1],而连翘中含有的化学成分复杂,挥发性成分缺乏细致研究,其主要活性成分及作用靶点尚不明确,无法反映中药多成分、多靶点、整体性的特点。因此,如何制定合理的连翘质量标准、保障连翘药材质量,是亟待解决的问题。

中药指纹图谱可以对化学成分进行较全面控制^[4-5],而网络药理学基于数据库,以“网络靶标”为核心,可对中药成分、靶点、通路进行梳理分析^[6],因此两者相结合既可以从整体上控制药材质量,也可以揭示中药发挥其功效的物质基础及途径。基于此,本研究采用高效液相色谱(HPLC)法建立连翘药材的指纹图谱,采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对连翘挥发油成分进行分析,再利用网络药理学方法对连翘成分、靶点、通路进行整理分析,并预测其潜在的质量标志物(quality marker, Q-marker),旨在为连翘质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有:1260 Infinity II型HPLC仪、7890B/7000D型GC-MS仪(美国Agilent公司),FW-80型高速万能粉碎机、DZTW型电子调温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司),FA2004B型万分之一电子天平(上海天美天平仪器有限公司),KQ-500DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),TDL-5-A型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 主要药品与试剂

连翘苷(批号Z27A9X59731)、连翘酯苷A(批号Z10N9L71605)、松脂素- β -D-葡萄糖苷(批号M25GB-142883)、芦丁(批号Y24F11Y17051)的对照品(纯度均大于98%)购自上海源叶生物科技有限公司;无水硫酸钠(分析纯,批号F20110307)购自国药集团化学试剂有限公司;乙酸乙酯(分析纯,批号20170816)购自天津市富宇精细化工有限公司;甲醇、甲酸均为色谱纯;水为娃哈哈饮用纯净水。

本研究所用10批连翘药材(均为青翘,编号S1~S10)购自不同产地(S1、S4样品购自山西,S2样品购自河北,S3样品购自江西,S5样品购自陕西商洛,S6~S8样品购自安徽亳州,S9样品购自四川,S10样品购自山东泰安),经山东中医药大学药学院李峰教授鉴定,符合2020年版《中国药典》规定,均为木犀科植物连翘*F. suspensa* (Thunb.) Vahl的干燥果实。

2 方法与结果

2.1 连翘HPLC指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为ZORBAX SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相为0.2%甲酸溶液(A)-甲醇(B)(梯度洗脱:0~15 min, 10% B→20% B; 15~30 min, 20% B→26.5% B; 30~31 min, 26.5% B→29.2% B; 31~

50 min, 29.2% B→35% B; 50~63 min, 35% B→40% B; 63~69 min, 40% B→48% B; 69~75 min, 48% B→53% B; 75~80 min, 53% B→60% B);检测波长为242 nm;流速为1 mL/min;柱温为30 $^{\circ}$ C;进样量为5 μ L。

2.1.2 供试品溶液的制备 取10批连翘药材,粉碎过四号筛,精密称定1.5 g粉末,置于具塞锥形瓶中,加入70%甲醇20 mL,密塞,称定,超声提取(频率40 kHz,功率300 W)30 min;放冷,称定,用70%甲醇补足减失质量,摇匀,以5 000 r/min离心5 min;取上清液,过0.22 μ m微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.1.3 混合对照品溶液的制备 取连翘苷、连翘酯苷A、松脂素- β -D-葡萄糖苷、芦丁对照品,精密称定,加甲醇振摇、溶解制成含连翘苷84 μ g/mL、连翘酯苷A 174 μ g/mL、松脂素- β -D-葡萄糖苷128 μ g/mL、芦丁92 μ g/mL的混合对照品溶液。

2.1.4 精密度试验 取连翘供试品溶液(编号S10),按“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次,记录色谱图。以15号峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间RSD均小于0.23%,相对峰面积RSD均小于3.86%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取连翘药材S10样品平行制备6份供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。以15号峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间RSD均小于1.03%,相对峰面积RSD均小于3.14%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取连翘供试品溶液(编号S10),于室温放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。以15号峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间RSD均小于0.22%,相对峰面积RSD均小于3.41%,表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.1.7 指纹图谱建立 取10批连翘药材,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版)》,以S1样品的色谱图作为参照图谱,运用中位数法,将时间窗宽度设置为0.1 min,然后生成10批连翘药材的叠加HPLC指纹图谱(图1)和连翘药材的对照指纹图谱R(图2);并进行相似度评价,得到10批连翘药材指纹图谱的相似度在0.902~0.997范围内(表1)。

2.1.8 共有峰指认 取“2.1.3”项下混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,得到混合对照品溶液色谱图(图3)。

由图1可知,10批连翘药材有21个共有峰,通过与图3进行比对,指认出13号峰为芦丁(rutin)、15号峰为

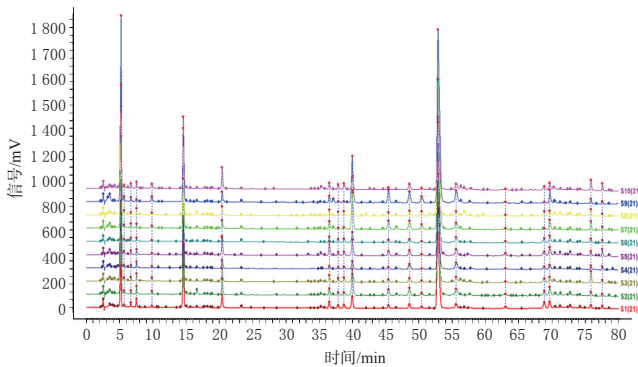


图1 10批连翘药材的叠加HPLC指纹图谱

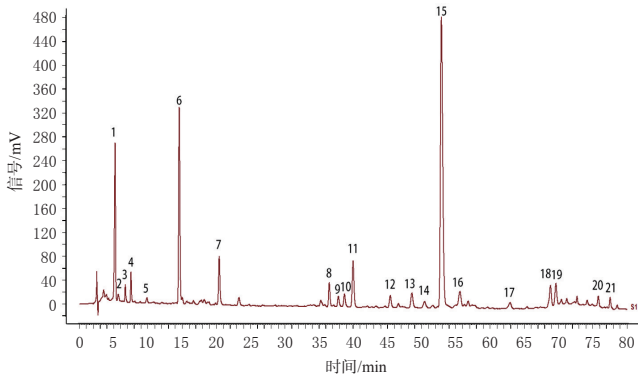
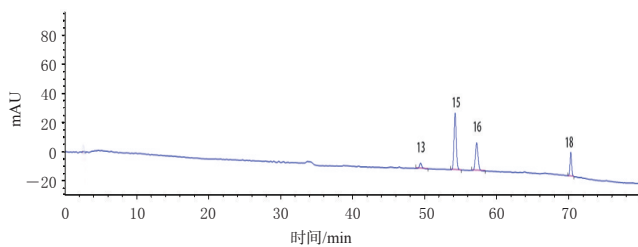


图2 连翘药材的对照指纹图谱R

表1 10批连翘药材指纹图谱的相似度评价结果

编号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	对照指纹图谱R
S1	1.000	0.992	0.973	0.962	0.984	0.988	0.979	0.957	0.969	0.940	0.986
S2	0.992	1.000	0.972	0.963	0.997	0.997	0.996	0.974	0.986	0.928	0.995
S3	0.973	0.972	1.000	0.995	0.968	0.962	0.956	0.987	0.982	0.987	0.989
S4	0.962	0.963	0.995	1.000	0.959	0.953	0.946	0.984	0.980	0.987	0.983
S5	0.984	0.997	0.968	0.959	1.000	0.995	0.993	0.974	0.985	0.922	0.992
S6	0.988	0.997	0.962	0.953	0.995	1.000	0.994	0.965	0.979	0.913	0.989
S7	0.979	0.996	0.956	0.946	0.993	0.994	1.000	0.969	0.985	0.902	0.988
S8	0.957	0.974	0.987	0.984	0.974	0.965	0.969	1.000	0.995	0.962	0.990
S9	0.969	0.986	0.982	0.980	0.985	0.979	0.985	0.995	1.000	0.948	0.996
S10	0.940	0.928	0.987	0.987	0.922	0.913	0.902	0.962	0.948	1.000	0.956
对照指纹图谱R	0.986	0.995	0.989	0.983	0.992	0.989	0.988	0.990	0.996	0.956	1.000



13: 芦丁; 15: 连翘酯苷 A; 16: 松脂素-β-D-葡萄糖苷; 18: 连翘苷

图3 混合对照品溶液的HPLC图谱

连翘酯苷 A (forsythoside A)、16号峰为松脂素-β-D-葡萄糖苷 (pinoresinol-4-O-β-D-glucoside)、18号峰为连翘苷 (phillyrin)。经笔者查询发现,2020年版《中国药典》连翘含量测定项下规定了连翘苷、连翘酯苷 A 的含量^[1],由此可认为这两者是连翘质量的指标性成分。相关研究发现,芦丁、松脂素-β-D-葡萄糖苷具有显著的抗炎、抗

菌、抗病毒作用,也可认为是连翘发挥功效的主要有效成分^[7-10]。基于此,笔者将这4种成分作为连翘Q-marker的候选成分。

2.2 连翘挥发油的GC-MS图谱建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为HP-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);进样温度为200℃;载气为氮气;分流比为20:1;流速为1 mL/min;进样量为1 μL;采用程序升温方式(50℃保持5 min;以0.75℃/min升至65℃,保持5 min;以5℃/min升至105℃,保持2 min;以20℃/min升至225℃,保持4 min)。

2.2.2 质谱条件 离子源为电轰击离子源;电子能量为70 eV;接口温度为250℃;离子源温度为200℃;四极杆温度为150℃;电子倍增电压为1 906 V;质量扫描范围为50~550 amu。

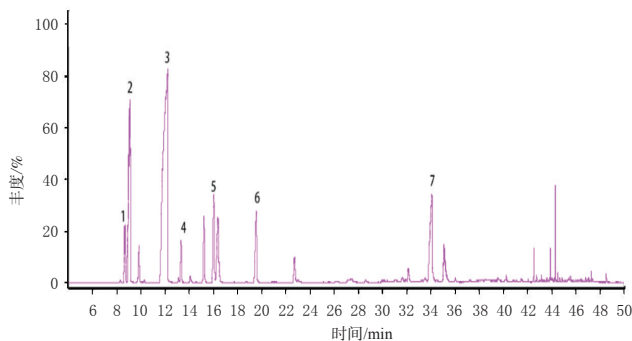
2.2.3 挥发油供试品溶液制备 取连翘粉末50 g,精密称定,置于1 L圆底烧瓶中,加水500 mL浸泡0.5 h,然后采用水蒸气蒸馏法连续回流6 h^[11];收集挥发油,加适量无水硫酸钠粉末干燥,除去固体不溶物,即得连翘挥发油(得率为0.94%~1.62%)。移取连翘挥发油0.4 mL,置于10 mL量瓶中,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,即得挥发油供试品溶液。

2.2.4 精密度试验 取连翘挥发油供试品溶液(编号S10),按“2.2.1”与“2.2.2”项下条件连续进样6次,记录色谱图。以3号峰为参照峰,计算各峰峰面积。结果显示,各峰峰面积RSD均小于0.2%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 取连翘药材S10样品平行制备6份挥发油供试品溶液,按“2.2.1”与“2.2.2”项下条件进样分析,记录色谱图。以3号峰为参照峰,计算各峰峰面积。结果显示,各峰峰面积RSD均小于0.1%,表明该方法重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 取连翘挥发油供试品溶液(编号S10),于室温放置0、2、4、8、12、24 h后,按“2.2.1”与“2.2.2”项下条件进样分析,记录色谱图。以3号峰为参照峰,计算各峰峰面积。结果显示,各峰峰面积RSD均小于0.2%,表明供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.2.7 GC-MS图谱分析 取“2.2.3”项下连翘挥发油供试品溶液,按“2.2.1”与“2.2.2”项下条件进样分析,得到连翘挥发油成分的GC-MS总离子流图(图4)。然后将所得质谱数据通过质谱工作站标准数据库检索、匹配后,确定各成分的化学结构,通过与各样品图谱对比,得到连翘挥发油7个成分,分别为β-蒎烯(β-pinene)、α-蒎烯(α-pinene)、松油烯-4-醇(terpinen-4-ol)、柠檬烯(limonene)、γ-松油烯(γ-terpinene)、α-水芹烯(α-phellandrene)、β-月桂烯(β-myrcene)。采用峰面积归一化法进行定量分析,得出上述7个连翘挥发油成分的相对百分含量总和约80%(表2),表明这7个成分在连翘挥发油中的代表性较强,可作为连翘挥发油Q-marker的候选成分。



1: α -水芹烯; 2: α -蒎烯; 3: β -蒎烯; 4: β -月桂烯; 5: 柠檬烯; 6: γ -松油烯; 7: 松油烯-4-醇

图4 连翘挥发油成分的GC/MS总离子流图

表2 连翘挥发油中7个成分的相对百分含量(%)

编号	α -蒎烯	β -蒎烯	柠檬烯	松油烯-4-醇	α -水芹烯	β -月桂烯	γ -松油烯
S1	13.61	43.13	4.30	8.64	3.02	1.75	4.68
S2	15.20	50.53	4.57	6.02	3.65	2.43	3.94
S3	13.80	51.46	5.65	6.32	3.29	3.01	3.57
S4	15.44	53.13	4.82	5.18	3.45	2.79	3.54
S5	12.84	50.47	5.18	6.59	3.23	2.55	4.07
S6	13.17	42.83	4.96	9.79	2.81	1.8	5.14
S7	15.36	49.96	4.02	6.47	2.79	1.69	3.25
S8	15.35	47.26	4.53	7.89	3.09	1.81	3.71
S9	16.12	48.80	4.16	7.09	3.59	1.94	3.81
S10	19.06	55.97	4.41	2.99	3.46	2.41	2.39

3 基于网络药理学预测连翘Q-Marker

通过上述对10批连翘药材的研究,笔者推测出芦丁、连翘酯苷A、松脂素- β -D-葡萄糖苷、连翘苷、 β -蒎烯、 α -蒎烯、松油烯-4-醇、柠檬烯、 γ -松油烯、 α -水芹烯、 β -月桂烯11个成分可能是连翘Q-Marker的候选成分。基于此,笔者采用网络药理学方法进一步预测连翘的Q-Marker。

3.1 连翘Q-Marker 候选成分的靶点预测

采用TCMSP、SwissTargetPrediction、PubChem Compound等数据库检索连翘11个Q-Marker候选成分的靶点信息,除去重复信息后,最终得到相关靶点共97个。将这11个成分和97个相关靶点导入Cytoscape 3.7.2软件中,构建“连翘Q-Marker 候选成分-靶点”网络,结果见图5(图中三角形节点代表连翘Q-Marker 候选成分;圆形节点代表靶点;节点大小代表度值大小,度值越大,说明靶点间相互作用关系越密切^[12-13])。

3.2 蛋白互作网络构建及关键靶点筛选

将“3.1”项下所得的97个相关靶点导入STRING 11.0数据库中,选择物种为“Homo sapiens”,去掉单一节点,结果保存成.tsv格式,将建立的蛋白相互作用关系导入Cytoscape 3.7.2软件中进行可视化分析^[14],得到蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络,结果见图6(图中节点大小、颜色深浅均代表度值大小);选取网络中度值大于9的靶点作为关键靶点^[15],结果共获得16个关键靶点(表3)。

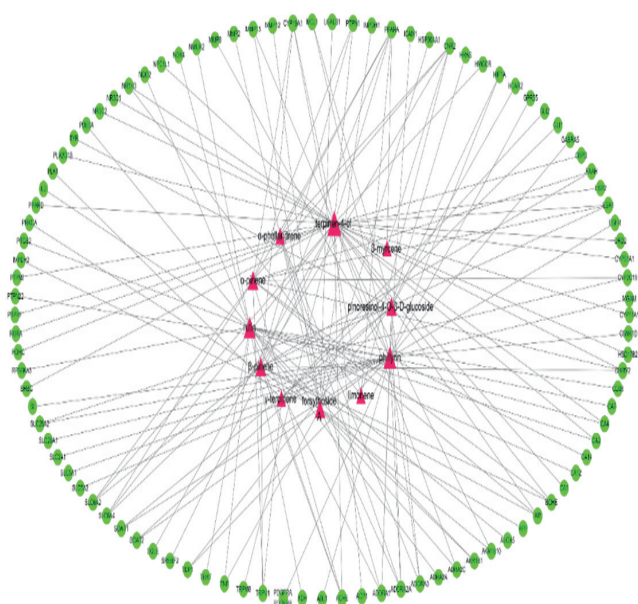


图5 “连翘Q-Marker 候选成分-靶点”网络图

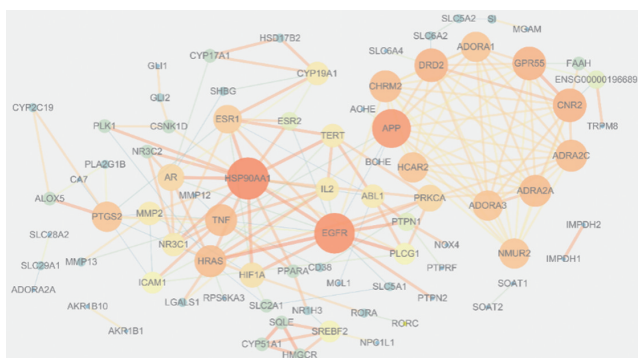


图6 PPI网络图

表3 关键靶点筛选结果

靶点简称	靶点英文(中文)全称	度值
HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha(热休克蛋白90 α)	17
EGFR	epidermal growth factor receptor(表皮生长因子受体)	16
APP	amyloid-beta A ₁ protein(β -A ₁ 淀粉样蛋白)	15
DRD2	D(2) dopamine receptor(多巴胺受体D2)	12
CNR2	cannabinoid receptor 2(大麻素受体2)	12
GPR55	G-protein coupled receptor 55(G-蛋白偶联受体55)	12
ADRA2A	alpha-2A adrenergic receptor(α -2A肾上腺素能受体)	11
CHRM2	muscarinic acetylcholine receptor M2(毒蕈碱乙酰胆碱受体M2)	11
ADRA2C	alpha-2C adrenergic receptor(α -2C肾上腺素能受体)	11
TNF	tumor necrosis factor(肿瘤坏死因子)	11
HRAS	GTPase HRas(重组人GTPase HRAS蛋白)	11
ADORA1	adenosine receptor A1(腺苷受体A1)	10
NMUR2	neuromedin-U receptor 2(神经介素-U受体2)	10
HCAR2	hydroxycarboxylic acid receptor 2(羧基酸受体2)	10
ADORA3	adenosine receptor A3(腺苷受体A3)	10
PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2(前列腺素G/H合酶2)	10

3.3 基因本体功能富集分析

利用DAVID 6.8数据库对“3.2”项下获得的16个关键靶点进行基因本体(gene ontology, GO)富集分析,以 $P < 0.05$ 进行筛选,并根据 P 值从小到大排序,得到66个生物过程(biological process, BP)条目、17个细胞组成(cellular component, CC)条目和11个分子功能(molecu-

lar function, MF) 条目。笔者选取各条目的前 10 条进行分析, 结果发现, 16 个关键靶点的 BP 主要参与脂质分解代谢过程的负调控 (negative regulation of lipid catabolic process)、平滑肌收缩的调节 (regulation of smooth muscle contraction)、一氧化氮生物合成过程的正调控 (positive regulation of nitric oxide biosynthetic process) 等; CC 主要与质膜 (plasma membrane)、神经元 (neuron) 等有关; MF 主要参与调控 G 蛋白偶联腺苷受体活性 (G-protein coupled adenosine receptor activity)、 α_2 肾上腺素能受体活性 (alpha2-adrenergic receptor activity)、大麻素受体活性 (cannabinoid receptor activity) 等, 详见图 7。

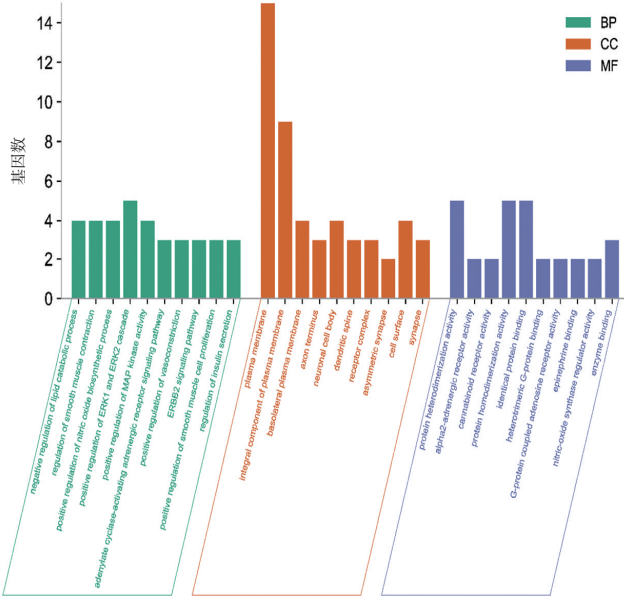


图7 GO功能富集分析结果

3.4 京都基因与基因组百科全书富集分析

采用 David 6.8 数据库对 16 个核心靶点进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析, 限定物种为“人类 (Homo sapiens)”, P 值越小, 显著性越强。将 P 值由小到大排序, 共得到 17 条信号通路, 主要包括神经活性配体-受体相互作用通路 (neuroactive ligand-receptor interaction)、鞘脂信号通路 (sphingolipid signaling pathway)、环磷酸鸟苷-蛋白激酶 G 信号通路 (cGMP-PKG signaling pathway)、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路 (PI3K/Akt signaling pathway)、丝裂原活化蛋白激酶信号通路 (MAPK signaling pathway) 等, 详见图 8。

3.5 “连翘 Q-Marker 候选成分-靶点-通路”网络构建与 Q-Marker 预测分析

将 11 个连翘 Q-Marker 候选成分、16 个关键靶点、17 条通路, 在 Cytoscape 3.7.2 软件中构建“连翘 Q-Marker 候选成分-靶点-通路”网络, 详见图 9 (图中红色三角形节点代表活性成分, 绿色圆形节点代表关键靶点, 紫色正

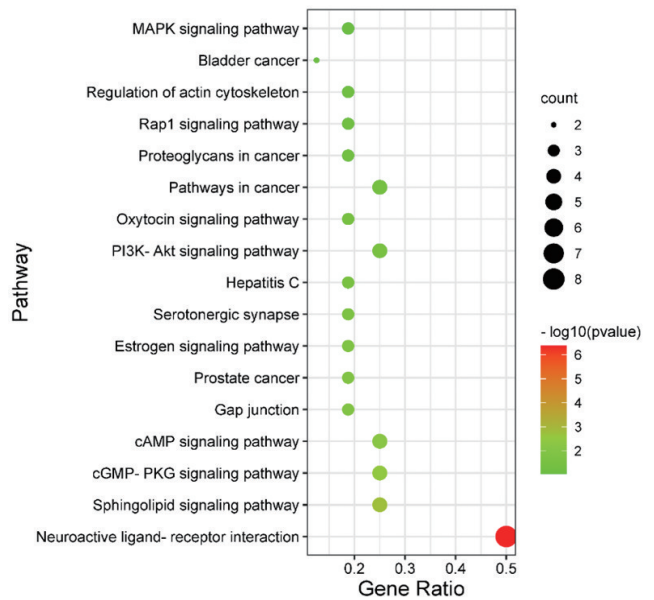


图8 KEGG富集分析结果

方形节点代表通路, 节点大小代表度值大小)。度值可以衡量活性成分与疾病靶点通路的相关度, 因此笔者以连翘 Q-Marker 候选成分的度值为指标, 经计算后发现, 柠檬烯、 γ -松油烯、 β -月桂烯的度值均低于连翘 11 个 Q-Marker 候选成分度值的平均值^[15-16]; 且经笔者查询 SwissADME 数据库 (<http://www.swissadme.ch/>) 发现, 前面 3 个成分的胃肠吸收较低^[17-19], 故不作为连翘的 Q-marker。而其余 8 个成分芦丁、连翘苷、松脂素- β -D-葡萄糖苷、连翘酯苷 A、松油烯-4-醇、 α -水芹烯、 β -蒎烯、 α -蒎烯的度值均大于平均值, 且已有相关文献报道这几个成分是连翘发挥防治疾病作用的主要成分^[7-10, 20-21]。基于此, 可初步认为芦丁、连翘苷、松脂素- β -D-葡萄糖苷、连翘酯苷 A、松油烯-4-醇、 α -水芹烯、 β -蒎烯、 α -蒎烯是连翘的 Q-marker。

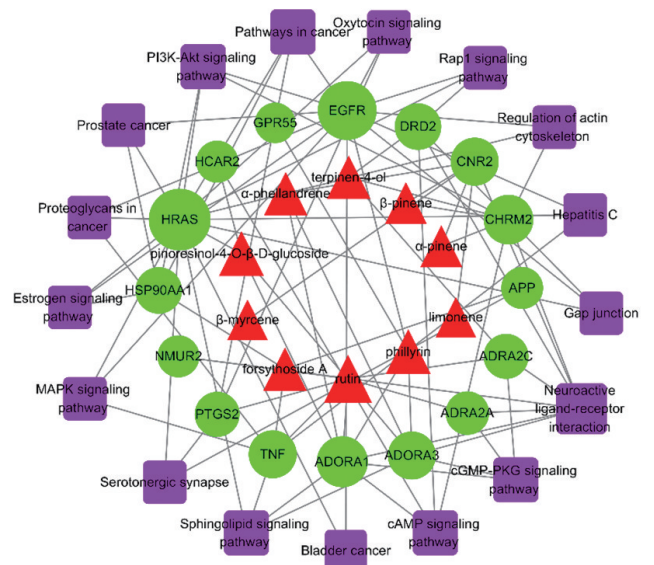


图9 “连翘 Q-Marker 候选成分-靶点-通路”网络图

4 讨论

中药的质量是保证其临床疗效的关键。中药具有多成分、多靶点、整体性的特点,刘昌孝院士提出的“Q-marker”概念^[22],有利于阐明中药有效物质基础,且对控制中药总体质量具有重要作用。

目前,连翘药材质量高低不等,且其中挥发油成分也缺少质量控制标准。基于此,本文以Q-marker理论为指导,结合指纹图谱和网络药理学,预测连翘的Q-marker。结果显示,连翘苷、连翘酯苷A、松脂素- β -D-葡萄糖苷、芦丁、松油烯-4-醇、 α -水芹烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯8个成分可作为连翘的Q-marker。

连翘发挥清热解毒、疏散风热等传统功效与其抗炎、抗菌、抗病毒等作用密切相关。经笔者查询文献发现,连翘苷可抑制促炎因子的产生和MAPK通路的激活来预防急性肺损伤^[23];可逆转 β -淀粉样蛋白片段25-35损伤导致的2-花生四烯酸甘油酯水平下降,从而改善阿尔兹海默病的症状^[24]。连翘酯苷A可调节MAPK、PI3K/Akt信号通路来抑制炎症反应^[25-27]。松脂素- β -D-葡萄糖苷可通过胃肠代谢后发挥抗炎、抗真菌活性^[28]。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)是炎症反应中一类重要的细胞因子,通常与其他细胞因子共同参与抑制细胞炎症、阻止细胞凋亡反应^[29]。相关研究发现,芦丁可通过降低TNF- α 、TNF受体相关因子6水平,抑制核因子 κ B的磷酸化来发挥抗炎作用^[30-31]。连翘挥发油具有明显的止痛和抗病毒作用,也可通过抑制炎症因子表达^[32]、下调代谢物鞘氨醇的水平来发挥抗炎作用^[33],还可通过下调下丘脑环磷酸腺苷含量来发挥解热作用^[34]。本研究筛选的松油烯-4-醇、 α -水芹烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯在连翘挥发油中含量较高,可能是连翘挥发油发挥药效的主要成分。

综上所述,连翘苷、连翘酯苷A、松脂素- β -D-葡萄糖苷、芦丁、松油烯-4-醇、 α -水芹烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯8个成分可作为连翘的Q-marker。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社:2020:183.
- [2] 李石飞,张立伟,詹志来.经典名方中连翘的本草考证[J/OL].中国实验方剂学杂志,2021[2021-12-09].<https://kns.cnki.net/kns8/defaultresult/index>. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20211949.
- [3] WANG Z Y, XIA Q, LIU X, et al. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review[J]. J Ethnopharmacol, 2018, 210:318-339.
- [4] 赵娟,谢世静,赵兴华,等.中药指纹图谱质控方法研究进展[J].云南中医中药杂志,2020,41(1):82-86.
- [5] 刘文,蒋世云.中药指纹图谱研究与应用进展[J].中国药

房,2011,22(19):1819-1822.

- [6] 牛明,张斯琴,张博,等.《网络药理学评价方法指南》解读[J].中草药,2021,52(14):4119-4129.
- [7] 翁家俊,谢奕霖,张轩硕,等.基于数据挖掘和网络药理学技术的《中医方剂大辞典》含连翘组方规律及其抗炎机制分析[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(22):181-193.
- [8] 王琼琚,谢伟容,邵艳妮,等.基于Q-Marker成分定性与定量的双黄连制剂质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(18):36-46.
- [9] 魏丽芳.连翘药材的品质评价研究[D].南京:南京中医药大学,2021.
- [10] 马丽莎.青翘清热解毒活性组分及活性成分研究[D].太原:山西大学,2018.
- [11] 冯帅.基于化学-生物指纹图谱技术的连翘药材质量评价与品质相关研究[D].济南:山东中医药大学,2014.
- [12] 郝民琦,王佳慧,李晓玲,等.基于网络药理学与分子对接探讨黄芪治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J].中国药房,2021,32(10):1215-1223.
- [13] 周文霞,王同兴,程肖蕊,等.网络药理学研究中的网络分析技术[J].国际药学研究杂志,2016,43(3):399-409.
- [14] VON MERING C, HUYNEN M, JAEGGI D, et al. STRING: a database of predicted functional associations between proteins[J]. Nucleic Acids Res, 2003, 31(1): 258-261.
- [15] 柳小莉,黄小英,张小飞,等.基于GC-MS成分分析结合网络药理学预测当归挥发油质量标志物(Q-Marker)[J].中草药,2021,52(9):2696-2706.
- [16] 袁梦,孙国东,刘华石,等.基于血清药物化学及网络药理学探究大青龙汤药效物质基础[J/OL].中国中药杂志,2021[2021-12-05]. <https://kns.cnki.net/kns8/defaultresult/index>. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20211949.
- [17] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules[J]. Sci Rep, 2017, 7:42717.
- [18] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. iLOGP: a simple, robust, and efficient description of n-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach[J]. J Chem Inf Model, 2014, 54(12):3284-3301.
- [19] DAINA A, ZOETE V. A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules[J]. Chem Med Chem, 2016, 11(11):1117-1121.
- [20] 罗林.连翘提取物与连翘挥发油协同解热作用机制研究[D].成都:成都中医药大学,2018.
- [21] 郑立,汤韵秋,余琳媛,等.连翘挥发油自微乳的制备及解热作用[J].中华中医药学刊,2020,38(3):149-153.
- [22] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等.中药质量标志物(Q-Marker):中药产品质量控制的新概念[J].中草药,2016,47(9):1443-1457.

(下转第307页)