

抗宫炎软胶囊的质量标志物分析[△]

袁敏艳^{1,2*}, 张 敏¹, 张 硕³, 曹思源^{1,2}, 季嘉城^{1,2}, 王鹏娇¹, 张荣平⁴, 高秀丽^{1,2#} (1. 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室/贵州医科大学药学院, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学微生物与生化药学工程中心, 贵阳 550025; 3. 贵州医科大学实验动物中心, 贵阳 550025; 4. 昆明医科大学药学院, 昆明 650500)

中图分类号 R917;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)17-2082-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.17.07



摘要 目的 分析抗宫炎软胶囊(KSC)的质量标志物(Q-marker)。方法 采用超高效液相色谱(UPLC)法,建立20批KSC的指纹图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行相似度评价,确定共有峰;采用同一UPLC法测定去甲异波定、盐酸益母草碱、连翘酯苷B、毛蕊花糖苷、金石蚕苷、异毛蕊花糖苷的含量;通过网络药理学、分子对接方法筛选和分析KSC治疗宫颈炎的相关靶点和通路,构建“成分-靶点-通路”网络,分析其潜在Q-marker。结果 20批KSC共有12个共有峰,相似度均大于0.99;共指认出去甲异波定、盐酸益母草碱、连翘酯苷B、毛蕊花糖苷、金石蚕苷、异毛蕊花糖苷6个共有峰。上述6个成分的含量分别为1.336~1.774、0.093~0.143、4.970~5.888、0.505~0.623、5.206~6.226、0.785~0.895 mg/g。网络药理学筛选得到6个成分的14个关键靶点和94条通路,其与核心靶点(蛋白激酶B1、肿瘤坏死因子)的结合能均小于-6.4 kJ/mol。结论 去甲异波定、盐酸益母草碱等6个成分可能是KSC的潜在Q-marker。

关键词 抗宫炎软胶囊;网络药理学;指纹图谱;含量测定;质量标志物;分子对接

Q-marker analysis of Kanggongyan soft capsule

YUAN Minyan^{1,2}, ZHANG Min¹, ZHANG Shuo³, CAO Siyuan^{1,2}, JI Jiacheng^{1,2}, WANG Pengjiao¹, ZHANG Rongping⁴, GAO Xiuli^{1,2} (1. State Key Laboratory of Function and Application of Medicinal Plants/School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. Center for Microbiology and Biochemical Pharmaceutical Engineering, Guiyang 550025, China; 3. Experimental Animal Center, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 4. School of Pharmacy, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To analyze quality maker (Q-marker) of Kanggongyan soft capsule (KSC). **METHODS** The fingerprints of 20 batches of KSC were established by ultra high performance liquid chromatography (UPLC) method. *Similarity Evaluation System of TCM Chromatographic Fingerprint* (2012 edition) were used to evaluate the similarity and confirm common peaks. The contents of norisoboldine, leonurine hydrochloride, forsythoside B, acteoside, poliumoside and isoacteoside were determined by the same UPLC method. Targets and pathways related to KSC in the treatment of cervicitis were screened and analyzed by network pharmacology and molecular docking method to construct a “component-target-pathway” network, and analyze its potential Q-marker. **RESULTS** Twelve common peaks were identified in the fingerprints of 20 batches of KSC, and the similarity was greater than 0.99. Six common peaks were identified, including norisoboldine, leonurine hydrochloride, forsythoside B, acteoside, poliumoside and isoacteoside. The contents of the above 6 components were 1.336-1.774, 0.093-0.143, 4.970-5.888, 0.505-0.623, 5.206-6.226 and 0.785-0.895 mg/g, respectively. By network pharmacology analysis, 14 key targets and 94 pathways were obtained, and their binding energies to the core targets (protein kinase B1, tumor necrosis factor) were all less than -6.4 kJ/cal. **CONCLUSIONS** Six components such as norisoboldine and leonurine hydrochloride are potential Q-marker of KSC.

[△] 基金项目 国家自然科学基金资助项目(No.81160413);抗宫炎软胶囊技术合作开发项目(No.2020702)

* 第一作者 硕士。研究方向:中药药效物质基础及质量控制。
E-mail:1161048531@qq.com

通信作者 教授,博士生导师,硕士。研究方向:中药药效物质基础及质量控制。电话:0851-88416167。E-mail:gaoxl@gmc.edu.cn

KEYWORDS Kanggongyan soft capsule; network pharmacology; fingerprints; content determination; quality marker; molecular docking

抗宫炎软胶囊(Kanggongyan soft capsule, KSC)是由抗宫炎片更改剂型而来的中药第九类新药,包含广东紫珠、乌药、益母草3味中药^[1]。其中,广东紫珠具有抗炎、止血、抗结核和抗血小板聚集的作用^[2];乌药具有促进循环、止痛和散寒的作用^[3];益母草可用于治疗痛经经闭、恶露不尽、月经不调等妇科疾病^[4]。KSC在临床主要用于治疗慢性宫颈炎、慢性盆腔炎、宫颈柱状上皮异位等妇科疾病。

对于KSC的质量控制研究,目前多集中于对其中单一成分的含量测定^[5-6]。中药成分种类多、作用靶点多,以任何单一成分作为指标都不能全面反映中药的整体质量^[7]。为确保中药及中药制剂发挥稳定的治疗效果,需要对其进行合理的质量控制。中药指纹图谱是一种能够全面反映中药或中药制剂整体化学特征的质量分析方法^[8],被广泛应用于中药及中药制剂的质量控制。近年来,超高效液相色谱(UPLC)法因其灵敏度高、操作方便等优点被广泛用于中药及中药制剂的质量控制^[9]。网络药理学可整合大量信息,通过计算并结合相关实验,揭示“药物-基因-靶点-疾病”相互作用的网络关系^[10]。分子对接技术可以模拟药物活性成分治疗疾病的过程,具有快速、准确等优点,有助于缩短药物开发周期^[11]。网络药理学与分子对接的结合已成为中药研究的常用方法^[12]。因此,本研究将指纹图谱、含量测定、网络药理学及分子对接技术相结合,分析KSC的潜在质量标志物(quality marker, Q-marker),以期为KSC的质量控制及后续研究提供科学参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Agilent 1290型UPLC仪(美国Agilent公司)、TB-215型电子天平(美国Denver Instrument公司)、KQ-300DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、WP-UP-YJ-20型纯水仪(四川沃特尔水处理设备有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

广东紫珠干浸膏(批号200601)、益母草干浸膏(批号200601)、乌药干浸膏(批号200501)均由贵州汇正制药有限公司提供;去甲异波尔多对照品(批号P10M9L61140)、盐酸益母草碱对照品(批号R04N8F-47273)、连翘酯苷B对照品(批号R14N9F74963)、金石蚕苷对照品(批号H29M3X1)、毛蕊花糖苷对照品(批号W14O10C100217)、异毛蕊花糖苷对照品(批号W17J10C90785)均购自上海源叶生物科技有限公司,纯度均不低于98%。KSC(批号分别为200101、200102、200303、200501、200502、200503、200504、200602、200603、200701、200702、200704、200705、200801、200805、200806、200902、200903、201001、201002,规格每粒装0.65 g,编号依次为S1~S20)均由贵州汇正制药有限公司提供。乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分

析纯,水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 UPLC指纹图谱分析

2.1.1 混合对照品溶液的制备 精密称取去甲异波尔多、盐酸益母草碱、连翘酯苷B、毛蕊花糖苷、金石蚕苷、异毛蕊花糖苷对照品各适量,置于同一10 mL量瓶中,加50%甲醇使溶解,稀释至刻度,摇匀,制成上述对照品质量浓度分别为0.052、0.175、0.150、0.146、0.168、0.175 mg/mL的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取KSC内容物约1.0 g,精密称定,置于圆底烧瓶中,精密加入50%甲醇50 mL,称定质量,回流1 h,放冷,再次称定质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,即得。

2.1.3 色谱条件 色谱柱为CAPCELL PAK C₁₈ IF2(100 mm×2.1 mm, 2 μm);以乙腈(A)-0.5%磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~20 min, 88% B→83% B; 20~35 min, 83% B→65% B; 35~37 min, 65% B→10% B; 37~40 min, 10% B→88% B);流速为0.2 mL/min;柱温为35 ℃;进样量为2 μL;检测波长在0~10 min时为280 nm, 10~40 min时为332 nm。

2.1.4 精密度试验 精密称取KSC内容物(编号S4),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.3”项下色谱条件连续进样6次,记录色谱图。以5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的RSD均小于1.00%($n=6$),相对峰面积的RSD均小于5.00%($n=6$),表明方法精密度良好。

2.1.5 重复性试验 精密称取KSC内容物(编号S4),按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液,共6份,再按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以5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的RSD均小于1.00%($n=6$),相对峰面积的RSD均小于5.00%($n=6$),表明方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 精密称取KSC内容物(编号S4),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。以5号峰为参照峰,计算各共有峰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的RSD均小于1.00%($n=6$),相对峰面积的RSD均小于5.00%($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.1.7 指纹图谱建立、相似度评价及共有峰指认 取20批KSC内容物,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。将各样品色谱图以“AIA”格式文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》进行分析。以S1为参照图谱,

设置时间窗宽度为0.1 min,对色谱峰进行多点校正,随后进行Mark峰匹配,生成20批KSC的叠加指纹图谱,并采用中位数法生成对照指纹图谱(R),见图1。20批KSC样品图谱与对照指纹图谱(R)的相似度分别为1.000、0.997、0.999、0.999、0.999、1.000、0.999、1.000、0.999、0.999、0.999、0.999、0.999、1.000、0.998、0.999、0.999、0.999、0.999、1.000,均大于0.99,说明各批次样品的质量较稳定、一致。共标记了12个共有峰;通过对比KSC供试品溶液(编号S4)和混合对照品溶液的色谱图,共指认出6个色谱峰,分别为去甲异波尔定(1号峰)、盐酸益母草碱(3号峰)、连翘酯苷B(5号峰)、毛蕊花糖苷(6号峰)、金石蚕苷(7号峰)、异毛蕊花糖苷(9号峰),结果见图2。

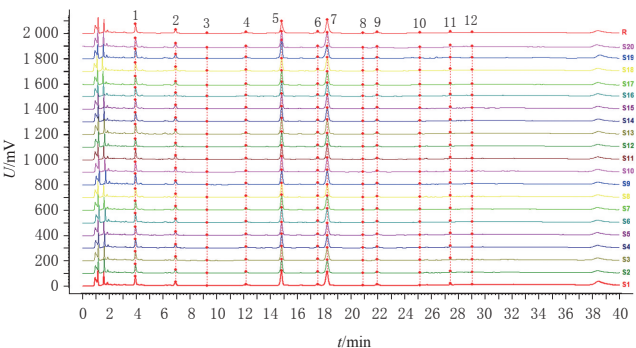
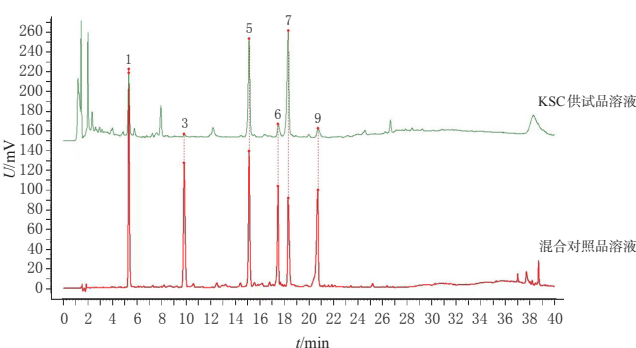


图1 20批KSC样品的UPLC叠加指纹图谱及对照指纹图谱(R)



1:去甲异波尔定;3:盐酸益母草碱;5:连翘酯苷B;6:毛蕊花糖苷;7:金石蚕苷;9:异毛蕊花糖苷

图2 KSC供试品溶液和混合对照品溶液的UPLC叠加图

2.2 含量测定

2.2.1 专属性试验 取“2.1.1”项下混合对照品溶液、“2.1.2”项下供试品溶液和空白对照溶液(50%甲醇),按“2.1.3”项下色谱条件下进样测定,记录色谱图(图略)。结果显示,空白对照溶液对6种成分的检测无干扰,提示方法专属性良好。

2.2.2 线性关系考察 按“2.1.1”项下方法制备混合对照品溶液,用50%甲醇作溶剂,配制系列浓度梯度的对照品混合溶液:去甲异波尔定质量浓度分别为1.625、3.250、6.500、13.000、26.000、52.000 μg/mL,盐酸益母草

碱质量浓度分别为2.734、5.469、10.938、21.875、43.750、87.500 μg/mL,连翘酯苷B质量浓度分别为4.688、9.375、18.750、37.500、75.000、150.000 μg/mL,毛蕊花糖苷质量浓度分别为4.563、9.125、18.250、36.500、73.000、146.000 μg/mL,金石蚕苷质量浓度分别为5.250、10.500、21.000、42.000、84.000、168.000 μg/mL,异毛蕊花糖苷质量浓度分别为5.469、10.938、21.875、43.750、87.500、175.000 μg/mL。取上述系列对照品混合溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各成分的质量浓度为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,结果见表1。结果表明,6种成分在其相应质量浓度范围内与峰面积的线性关系良好。

表1 KSC中6种成分的回归方程与线性范围

成分	回归方程	R ²	线性范围/(μg/mL)
去甲异波尔定	Y=17.055X+4.501 4	0.999 9	1.625~52.000
盐酸益母草碱	Y=12.943X+0.583 6	0.999 9	2.734~87.500
连翘酯苷B	Y=10.507X+1.243 0	0.999 9	4.688~150.000
毛蕊花糖苷	Y=16.360X-2.576 1	0.999 8	4.563~146.000
金石蚕苷	Y=12.265X+13.759 0	0.999 9	5.250~168.000
异毛蕊花糖苷	Y=3.402 1X+4.792 5	0.999 8	5.469~175.000

2.2.3 精密度试验 精密称取KSC内容物(编号S1),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.3”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,6种成分峰面积的RSD均小于3.00%(n=6),表明方法精密度良好。

2.2.4 重复性试验 精密称取KSC内容物(编号S1),共6份,按“2.1.2”项下方法平行制备供试品溶液,再按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并用外标法计算6种成分的含量。结果显示,6种成分含量的RSD均小于3.00%(n=6),表明方法重复性良好。

2.2.5 稳定性试验 精密称取KSC内容物(编号S1),按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置0、2、4、6、12、24 h时按“2.1.3”项下色谱条件测定,记录峰面积。结果显示,6种成分峰面积的RSD均小于3.00%(n=6),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.2.6 加样回收率试验 精密称取已知含量的KSC内容物(编号S1)6份,每份约0.5 g,分别按与已知成分含量1:1的比例加入混合对照品溶液,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果显示,去甲异波尔定、盐酸益母草碱、连翘酯苷B、毛蕊花糖苷、金石蚕苷、异毛蕊花糖苷的平均加样回收率分别为94.53%、100.55%、99.92%、102.98%、97.85%、101.16%,RSD均小于3.00%(n=6),表明方法准确度良好。

2.2.7 样品测定 取20批KSC内容物,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。每批样品平行测定3次,根据外标法计算样品中各成分的含量,取平均值。结果见表2。

表2 20批KSC样品中6个成分的含量(n=3,mg/g)

样品	去甲异波尔多定	盐酸益母草碱	连翘酯苷B	毛蕊花糖苷	金石蚕苷	异毛蕊花糖苷
S1	1.483	0.143	5.676	0.604	6.226	0.869
S2	1.455	0.093	5.637	0.551	5.927	0.785
S3	1.452	0.111	5.247	0.565	5.629	0.796
S4	1.496	0.097	5.298	0.525	5.606	0.822
S5	1.548	0.133	5.407	0.525	5.544	0.821
S6	1.613	0.110	5.570	0.582	5.779	0.847
S7	1.599	0.102	5.524	0.569	5.708	0.839
S8	1.718	0.110	5.888	0.610	6.158	0.895
S9	1.387	0.103	5.135	0.537	5.327	0.787
S10	1.440	0.111	5.340	0.566	5.577	0.866
S11	1.548	0.141	5.697	0.623	6.114	0.886
S12	1.578	0.111	5.545	0.588	5.907	0.884
S13	1.498	0.133	5.203	0.581	5.578	0.801
S14	1.547	0.108	5.245	0.554	5.476	0.795
S15	1.336	0.106	5.233	0.551	5.447	0.791
S16	1.493	0.143	5.170	0.554	5.413	0.791
S17	1.406	0.136	4.970	0.505	5.206	0.788
S18	1.507	0.141	5.329	0.539	5.581	0.808
S19	1.485	0.136	5.156	0.557	5.524	0.812
S20	1.774	0.141	5.359	0.584	5.785	0.840

2.3 网络药理学研究

通过分析20批KSC的指纹图谱及含量测定结果,推测金石蚕苷、连翘酯苷B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、去甲异波尔多定、盐酸益母草碱可能为KSC的Q-marker,遂采用网络药理学方法进行进一步的分析。

2.3.1 活性成分靶点及宫颈炎相关靶点筛选 将金石蚕苷(poliumoside)、连翘酯苷B(forsythoside B)、毛蕊花糖苷(acteoside)、异毛蕊花糖苷(isoacteoside)、去甲异波尔多定(norisoboldine)、盐酸益母草碱(leonurine hydrochloride)作为关键词输入TCMSP数据库与分析平台(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>),共获取到这6个成分的126个靶点,通过UniProt数据库(<http://www.uniprot.org/>)将靶点名转换为对应的基因名。通过PubChem数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)进行检索,将所得成分分子结构文件导入SwissTargetPrediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)进行靶点预测。检索GeneCards(<http://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://omim.org/>)数据库获取与宫颈炎相关的靶点。将GeneCard、OMIM数据库检索到的宫颈炎的靶点结果合并,去除重复数据,获得宫颈炎相关疾病靶点1 447个。对药物靶点与疾病靶点取交集,得到KSC治疗宫颈炎的作用靶点52个,将结果导入Cytoscape 3.7.2软件,获得“药物-成分-靶点”网络(图3)。

2.3.2 蛋白-蛋白互作网络 将KSC治疗宫颈炎的52个潜在靶点导入STRING在线数据库(<https://string-db.org/>),限定物种为“Homo sapiens”,设置最低置信度为0.9,同时隐藏游离的靶点,将所得靶点的相互作用信息导入Cytoscape 3.7.2软件进行可视化分析,构建蛋白-蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络。利用“Analyze Network”功能对PPI网络进行拓扑学分析,计算各

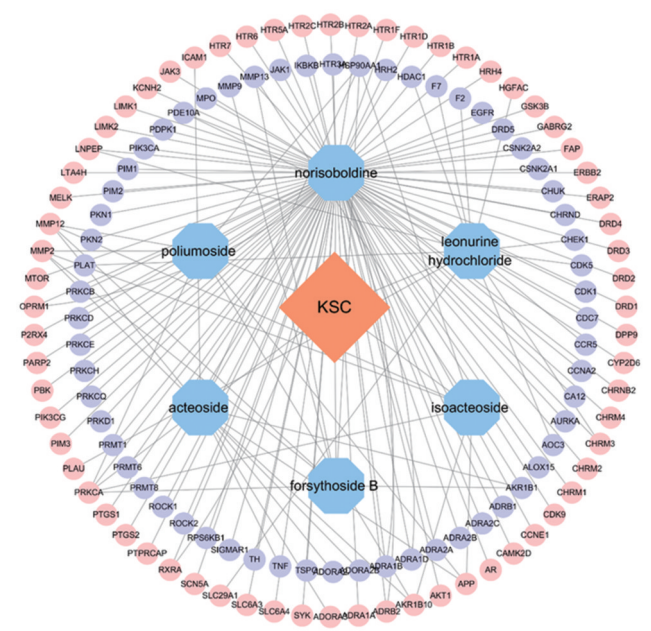


图3 KSC治疗宫颈炎的“药物-成分-靶点”网络

节点的度值(degree)、介数中心性(betweenness centrality, BC)和接近中心性(closeness centrality, CC),以degree、BC、CC的中位数为阈值筛选得到14个核心靶点(图4),即为KSC治疗宫颈炎的关键靶点。按照degree对关键靶点进行排序,将排名前2位的靶点即蛋白激酶B1(protein kinase B1, AKT1)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)作为核心靶点进行分析。

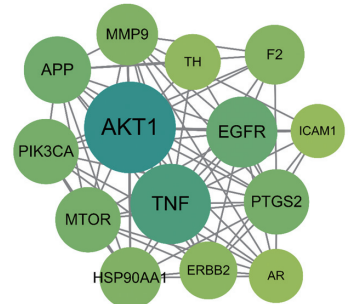


图4 KSC治疗宫颈炎关键靶点的PPI网络图

2.3.3 基因本体和KEGG通路富集分析 将潜在核心靶点导入DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>)进行基因本体(gene ontology, GO)功能富集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。KEGG通路富集分析显示,潜在靶点参与了94条通路,主要包括炎症反应、免疫调节、激素调节、氧化应激、癌症通路及细胞生长、增殖、凋亡等,其中磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3 kinase, PI3K)-AKT通路是最重要的一条通路。GO富集分析共涉及230条信息,其中生物学过程184条,主要涉及炎症反应、信号转导、药物反应;细胞组分25条,主要与胞液、细胞核等有关;分子功能21条,主要包括调控蛋白激酶、PI3K活性等。

2.4 分子对接

从“成分-核心靶点”网络中将基因靶点以 degree 值的高低进行排序,选取前 2 个关键靶点(AKT1、TNF)分别与 6 个成分进行分子对接。从 RCSB 蛋白数据库(<https://rcsb.org/>)中获得靶点(TNF、AKT1)的三维结构文件,通过 AutoDockTools 软件对蛋白晶体结构进行初始化处理,并转换为对接所需“pdbqt”格式文件。通过 Chem3D Pro 14.0 软件对化学成分的三维结构进行 MM2 力场优化,并通过 AutoDockTools 软件设置可旋转键数并转换为对接所需“pdbqt”格式文件。采用 AutoDock Vina 分子对接软件进行分子对接打分。较低的自由结合能更有利于受体和配体之间的结合^[13]。6 个成分与靶点的最低结合能均小于 0,其中 6 个成分与 AKT1 的结合能均小于 -6.6 kJ/mol,与 TNF 的结合能均小于 -6.4 kJ/mol,提示分子间具有很好的结合亲和力。KSC 的主要活性成分和核心靶点的高结合能力表明 KSC 可能是通过调节以上靶点发挥治疗作用的。

3 讨论

中药质量控制是保证中药临床用药安全和有效的重要措施^[14]。目前,仅见廖春玲^[15]对抗宫炎制剂(片剂、颗粒剂、胶囊)展开过 HPLC 指纹图谱研究。本研究建立了 KSC 的 UPLC 指纹图谱,同时对其中的 6 个成分进行了含量测定,并通过网络药理学和分子对接研究分析出去甲异波尔多定、盐酸益母草碱、连翘酯苷 B、金石蚕苷、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷可作为 KSC 的 Q-marker。

KSC 清湿热、止带下的功效与其主要活性成分的抗菌、抗炎等作用密切相关。据文献报道,广东紫珠为 KSC 方中君药,主要活性成分为苯乙醇苷类,包括金石蚕苷、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷;益母草的主要活性成分为益母草碱;乌药的活性成分为去甲异波尔多定。从 KEGG 通路富集结果来看,PI3K-AKT 通路是最重要的一条通路,该通路已被证明是免疫反应调节的关键通路^[16]。PI3K-AKT 通路可通过激活 AKT 下游的核转录因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)、雷帕霉素靶蛋白、缺氧诱导因子 1 来促进促炎细胞因子的产生,从而诱发炎症反应^[17]。盐酸益母草碱可通过 NF- κ B 信号通路抑制炎症反应并改善骨关节炎大鼠的软骨退化,同时对酒精性肝损伤也有保护作用^[18];连翘酯苷 B 可通过抑制 NF- κ B 信号通路减轻阿尔茨海默病的神经炎症^[19];毛蕊花糖苷具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗病原微生物、保护神经等多种药理作用^[20],其作用机制可能与抑制 NF- κ B 信号通路从而抑制 TNF- α 、IL-6 的释放有关^[21];金石蚕苷具有抗炎、抗氧化、保护神经等作用,可通过抑制 NF- κ B 信号通路减轻 TNF- α 诱导的细胞损伤^[22];去甲异波尔多定具有抗炎、调节脂代谢、治疗急性肺损伤等作用,可通过下调丝裂原激活蛋白激酶来抑制脂多糖刺激的 RAW264.7 细胞中促炎细胞因子的产生^[23]。由此可见, KSC 可能通过相关靶点调节 PI3K-AKT 通路及其下游靶点通路来抑制炎症因子的释放,从而起到抗炎作用。

综上,去甲异波尔多定、盐酸益母草碱、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、金石蚕苷、异毛蕊花糖苷可作为 KSC 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,2020:1022-1024.
- [2] 袁欢.广东紫珠化学成分及抗炎分子作用机制研究[D]. 广州:广州中医药大学,2019.
- [3] 邢梦雨,田崇梅,夏道宗.乌药化学成分及药理作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2017,29(12):2147-2151.
- [4] 朱子聪,边雨,高陆,等.益母草颗粒 HPLC 指纹图谱及 4 个指标成分含量研究[J].中国药房,2022,33(5):586-591.
- [5] 吴燕红,许妍,付辉政,等. HPLC 法同时测定两种抗宫炎软胶囊中连翘酯苷 B 和金石蚕苷的含量[J].江西中医药大学学报,2018,30(3):60-63.
- [6] 郝巨祥,鞠延玲,刘海洋,等. HPLC 测定抗宫炎软胶囊中益母草碱的色谱条件的研究[J].中医药学报,2011,39(5):73-75.
- [7] 曹雨晴,楚尧娟,刘克锋,等.我国中药指纹图谱研究的可视化分析[J].世界科学技术·中医药现代化,2020,22(9):3073-3081.
- [8] 刘东方,赵丽娜,李银峰,等.中药指纹图谱技术的研究进展及应用[J].中草药,2016,47(22):4085-4094.
- [9] LUO J Y, CHEN G S, LIU D H, et al. Study on the material basis of Houpo Wenzhong Decoction by HPLC fingerprint, UHPLC-ESI-LTQ-orbitrap-MS, and network pharmacology[J]. Molecules, 2019, 24(14):2561.
- [10] LIU C X, LIU R, FAN H R, et al. Network pharmacology bridges traditional application and modern development of traditional Chinese medicine[J]. Chin Herb Med, 2015, 7(1):3-17.
- [11] CHEN K, LI T H, CAO T C. Tribe-PSO: a novel global optimization algorithm and its application in molecular docking[J]. Chemom Intell Lab Syst, 2006, 82(1/2):248-259.
- [12] 张雨恬,伍振峰,黄艺,等.基于网络药理学与分子对接技术的鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”机制及其质量标志物预测分析[J].中草药,2021,52(24):7538-7549.
- [13] JACOB R B, ANDERSEN T, MCDUGAL O M. Accessible high-throughput virtual screening molecular docking software for students and educators[J]. PLoS Comput Biol, 2012, 8(5):e1002499.
- [14] 阳长明,杨平,刘乐环,等.中药质量标志物(Q-Marker)研究进展及对中药质量研究的思考[J].中草药,2021,52(9):2519-2526.
- [15] 廖春玲.抗宫炎系列质量标准研究[D].南昌:南昌大学,2015.
- [16] 宋凤媛,阚默,董坤园,等.治糜康栓对宫颈炎模型大鼠 IL-1 β 、EGFR 及 TNF- α 表达的影响[J].时珍国医国药,2019,30(10):2373-2376.
- [17] STARK A K, SRISKANTHARAJAH S, HESSEL E M, et al. PI3K inhibitors in inflammation, autoimmunity and cancer[J]. Curr Opin Pharmacol, 2015, 23:82-91.

(下转第 2092 页)

3 讨论

3.1 检测条件的选择

在建立 GC 方法时,本课题组考察了不同分流比(10:1、20:1、40:1)、不同初始温度(40、60、80℃)对色谱图的影响。结果发现,当分流比为40:1时,各色谱峰的峰形较好,而且初始温度对色谱图的影响较小。考虑运行时间的长短,故本研究最终选择80℃为初始温度。

3.2 草果的质量评价

熵权 TOPSIS 法结果显示,11 项指标的熵权系数(即权重)分别为 0.150 7、0.086 9、0.074 1、0.121 6、0.088 8、0.084 9、0.093 1、0.057 8、0.079 1、0.108 9、0.054 1。其中,挥发油类成分所占权重均相对较高,故将挥发油类成分作为草果药材质量评价的主要指标具有重要意义。进一步根据相对贴度排序结果可知,草果质量排名前3位的分别是云南保山7月、云南红河10月、云南文山9月产草果,由此推测,这几个产地的草果质量较优;而质量排名后3位的分别是云南德宏9月、云南德宏11月、云南德宏12月产草果,表明云南德宏的草果质量相对较差。

综上所述,在本研究所有样品中,云南保山(7月)、红河(10月)、文山(9月)产草果的质量相对较优。

参考文献

- [1] 许倬卉,杨绍兵,杨天梅,等.草果地理分布特征及表型变异分析[J].植物遗传资源学报,2021,22(4):1009-1020.
- [2] 雷智冬,黄锁义.草果提取方法、生物活性与临床应用研究新进展[J].中华中医药学刊,2021,39(1):245-249.
- [3] 谢子锐,于月兰,蒲忠慧,等.草果化学成分的研究进展[J].成都中医药大学学报,2020,43(2):75-80.
- [4] 师聪,宫号,李茹,等.草果不同极性萃取物总黄酮、总多酚含量与其抗氧化活性的相关性[J].化学试剂,2022,44(1):84-89.
- [5] YANG Y, YANG Y, YAN R W, et al. Cytotoxic, apoptotic

and antioxidant activity of the essential oil of *Amomum tsao-ko*[J]. Bioresour Technol, 2010, 101(11):4205-4211.

- [6] 冯军,柴玲,陈明生,等.指纹图谱结合一测多评法评价拟草果质量的研究[J].中草药,2021,52(3):852-856.
- [7] 任洪涛,谭年文,周恒苍,等.高效液相色谱法测定草果中4种酚酸含量[J].食品安全质量检测学报,2021,12(9):3694-3699.
- [8] 沈勇,吴静,熊娇,等. GC 法测定草果挥发油中 α -蒎烯、桉油精和香叶醇的含量[J].中国药师,2014,17(8):1426-1428.
- [9] 冯敬骞,李姜言,宋剑锋,等.不同产地衢枳壳药材质量的熵权 TOPSIS 法综合评价[J].中国药房,2021,32(11):1312-1318.
- [10] 严玉晶,崔婷,丁青,等.熵权 TOPSIS 法结合多指标成分综合评价金钱草药材的质量[J].中国药房,2020,31(23):2870-2876.
- [11] 郝佳旭,程炳铎,查丽春,等.草果挥发油 GC-MS 指纹图谱的建立及化学识别模式研究[J/OL].中国医院药学杂志,2022[2022-07-15]. https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=ZGYZ20220711001&uniplatform=NZKPT&v=aqwn6ep-1JuIXqxIpcI627DbnZYGtKvVH-v-068zMeNMURxGx-YU8OarAziHNRlg_W.
- [12] 尚明越,王嘉乐,代国娜,等.草果化学成分、药理作用、临床应用研究进展及质量标志物预测分析[J].中草药,2022,53(10):3251-3268.
- [13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:233.
- [14] 单恬恬,代钰,徐筱莹,等.14种香辛料提取物的多酚、黄酮含量及抗氧化活性比较研究[J].中国调味品,2019,44(4):80-83,88.

(收稿日期:2022-02-28 修回日期:2022-07-15)

(编辑:唐晓莲)

(上接第2086页)

- [18] CHEN C, ZHU Z L, HU N, et al. Leonurine hydrochloride suppresses inflammatory responses and ameliorates cartilage degradation in osteoarthritis via NF- κ B signaling pathway[J]. Inflammation, 2020, 43(1):146-154.
- [19] KONG F G, JIANG X, WANG R C, et al. Forsythoside B attenuates memory impairment and neuroinflammation via inhibition on NF- κ B signaling in Alzheimer's disease[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1):305.
- [20] 郭梦环,甘露,司婧,等.毛蕊花糖苷的药理作用及作用机制研究进展[J].中成药,2020,42(8):2119-2125.
- [21] 宋小敏,廖理曦,董馨,等.毛蕊花糖苷抑制脂多糖诱导的 BV-2 小胶质细胞炎症反应及机制研究[J].中国中药杂志,2016,41(13):2506-2510.

- [22] ZHENG J N, ZHUO J Y, NIE J, et al. Phenylethanoid glycosides from *Callicarpa kwangtungensis* Chun attenuate TNF- α -induced cell damage by inhibiting NF- κ B pathway and enhancing Nrf2 pathway in A549 cells[J]. Front Pharmacol, 2021, 12:693983.
- [23] LUO Y B, LIU M, DAI Y, et al. Norisoboldine inhibits the production of pro-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells by down-regulating the activation of MAPKs but not NF- κ B[J]. Inflammation, 2010, 33(6):389-397.

(收稿日期:2022-02-23 修回日期:2022-06-02)

(编辑:曾海蓉)