

• 疏风解毒专栏 •

疏风解毒胶囊药效物质基础及作用机制研究

张铁军¹, 朱月信², 刘岱琳³, 白 钢⁴, 许 浚¹, 韩彦琪¹, 刘素香¹

1. 天津药物研究院, 天津 300193

2. 安徽济人药业有限公司, 安徽 亳州 236800

3. 中国人民武装警察部队后勤学院, 天津 300309

4. 南开大学, 天津 300071

摘 要: 明确疏风解毒胶囊的药效物质基础, 初步阐释疏风解毒胶囊的作用机制。从疏风解毒胶囊中辨识指认 94 个化合物, 通过抗炎实验筛选, 确定了 10 个化合物为主要抗炎有效成分; 进一步通过整体动物、网络药理学及基因组学等方法, 揭示疏风解毒胶囊多成分、多靶点、多途径的作用机制。为疏风解毒胶囊质量控制标准的制定及临床应用提供理论和实验依据。

关键词: 疏风解毒胶囊; 化学物质组; 药效物质基础; 质量控制; 质量标准

中图分类号: R284; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)12-2019-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.12.001

Study on pharmacodynamic material basis and mechanism of Shufeng Jiedu Capsule

ZHANG Tie-jun¹, ZHU Yue-xin², LIU Dai-lin³, BAI Gang⁴, XU Jun¹, HAN Yan-qi¹, LIU Su-xiang¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

3. Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin 300309, China

4. Nankai University, Tianjin 300071, China

Abstract: The pharmacodynamic material basis of Shufeng Jiedu Capsule (SJC) was identified and the mechanism was explained. Ninety-four compounds were identified in SJC and 10 compounds were determined to be the anti-inflammatory ingredients by screening experiments. The mechanism of multi-component, multi-targets, and multi-pathways of SJC which provided a theoretical and experimental basis for the standards of quality control and the clinical application was elucidated by *in vivo* experiments, network pharmacology, and genomics.

Key words: Shufeng Jiedu Capsule; chemical components; pharmacodynamic material basis; quality control; quality standard

疏风解毒胶囊由虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草 8 味中药组成, 具有疏风清热、解毒利咽的功效, 用于急性上呼吸道感染属风热症, 症见发热、恶风、咽痛、头痛、鼻塞、流涕、咳嗽等症, 为卫生部《甲型 H1N1 流感诊疗方案》(2009 年第 2、3 版, 2010 年版)、《流行性感冒诊断与治疗指南》(2011 年版)、国家中医药管理局《外感发热(上呼吸道感染)诊疗方案》和《时行感冒(甲型 H1N1 流感)诊疗方案》《2012 年时行感冒(乙型流感)中医药防治方案》《人感染 H7N9 禽流感诊疗方案》(2013 年第 1、2 版, 2014 年版)、国家卫计委《中东呼吸综合征医院感染预防与控制

技术指南》(2015 年版)推荐用药。疏风解毒胶囊是治疗急性上呼吸道感染的中药大品种。

目前, 有关该制剂的化学成分研究报道多局限于单一药材的成分分析, 尚未见其全方的成分分析报道。已有文献报道, 疏风解毒胶囊对呼吸道合胞病毒(RSV)、柯萨奇病毒 B3 型(CVB3)和单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)具有抑制作用; 对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、志贺氏痢疾杆菌、肺炎链球菌、乙型链球菌都有一定的抑制作用^[1]; 在体内对 H1N1 流感病毒感染有防治作用^[2-3]; 在体外对人手足口病病毒 EV71 H 株、CoxB3 株、CoxB5 株均具有明显的抑制作用^[4]。

收稿日期: 2016-02-21

作者简介: 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: zhangtj@tjpir.com

虽然疏风解毒胶囊为治疗急性上呼吸道感染的重要中药品种,已有药效及临床研究证实其确有疗效,但迄今为止,其药效物质基础不清、作用机制尚不明确,因此,有必要对该药的药效物质基础进行系统的研究,并通过药效学相关研究和分析,阐释该药的药效物质基础和作用机制,为该药的临床应用和质量控制提供科学依据。

1 化学物质组的辨识和表征

目前,疏风解毒胶囊未见化学成分研究报道,本课题组对疏风解毒胶囊的化学物质基础进行了研究,通过 HPLC-Q-TOF-MS/MS 法共识别了 96 个离

子流色谱峰,分析确定了其中 94 个化合物,其中氨基酸 7 个、糖类 1 个、环烯醚萜类化合物 7 个、苯乙醇苷类化合物 11 个、二苯乙烯类化合物 2 个、黄酮类化合物 25 个、木脂素类化合物 5 个、蒽醌类化合物 6 个、三萜类化合物 18 个、香豆素类化合物 1 个、酚酸类化合物 4 个、生物碱类化合物 5 个、其他小分子化合物 2 个。对所有化合物分别进行了药材来源归属,结果分别来源于处方中的虎杖(12 个)、连翘(18 个)、板蓝根(14 个)、柴胡(8 个)、败酱草(14 个)、马鞭草(11 个)、芦根(5 个)、甘草(21 个),见表 1。

表 1 疏风解毒胶囊中化学成分辨识结果

Table 1 Identification of chemical components in extracts from SJC

序号	t_R/min	MS/MS (m/z)	$[M-H]^-$ (m/z)	相对分子 质量	化合物	来源
1	2.2	175 $[M+H]^+$	173	174	arginine	板蓝根
2	2.6	244 $[M+H]^+$, 487 $[2M+H]^+$, 112 $[M+H-Rib]^+$	242	243	cytidine	板蓝根
3	3.0	365 $[M+Na]^+$, 203 $[M+Na-glucose]^+$	341	342	sucrose and its isomer	板蓝根
4	3.2	203 $[M+Na]^+$	179	180	cafferic acid	芦根
5	5.2	130 $[M+H]^+$, 152 $[M+Na]^+$	128	129	epigoitrin/goitrin	板蓝根、连翘
6	5.4	268 $[M+H]^+$, 136 $[M+H-Rib]^+$	266	267	adenosine	板蓝根
7	5.5	—	243	244	uridine	板蓝根
8	6.9	284 $[M+H]^+$, 152 $[M+H-Rib]^+$	282	283	guanosine	板蓝根
9	8.2	166 $[M+H]^+$, 120 $[M+H-HCOOH]^+$	164	165	phenylalanine	板蓝根
10	11.4	399 $[M+Na]^+$, 215 $[M+H-glucose]^+$, 197 $[M+H-glucose-H_2O]^+$, 179 $[M+H-glucose-H_2O \times 2]^+$	375	376	2-methoxy-3,4,5-trihydroxyphenyl- ethanoid glycoside	连翘
11	12.0	—	325	326	—	虎杖
12	12.0	485 $[M+Na]^+$, 317 $[M+H-rhamnose]^+$, 155 $[M+H-rhamnose-glucose]^+$	461	462	forsythoside E and its isomer	连翘
13	12.7	485 $[M+Na]^+$, 317 $[M+H-rhamnose]^+$, 155 $[M+H-rhamnose-glucose]^+$	461	462	forsythoside E and its isomer	连翘
14	13.1	747 $[2M+Na]^+$, 385 $[M+Na]^+$, 223 $[M+Na-glucose]^+$	361	362	dehydroxy patrinoside	败酱草
15	13.7	489 $[M+H]^+$, 325 $[M+H-164]^+$, 163 $[M+H-164-glucose]^+$	487	488	<i>p</i> -coumaroyl-(6- <i>O</i> -caffeoyl)- glucoside	连翘
16	16.2	427 $[M+Na]^+$, 405 $[M+H]^+$, 243 $[M+H-glucose]^+$, 225 $[M+H-glucose-H_2O]^+$, 207 $[M+H-glucose-2H_2O]^+$, 193 $[M+H-glucose-2H_2O-14]^+$	403	404	hastatoside	马鞭草
17	17.4	377 $[M+Na]^+$, 163 $[M+H-quinine acyl]^+$	353	354	chlorogenic acid	柴胡
18	17.4	413 $[M+Na]^+$, 391 $[M+H]^+$, 211 $[M+H-glucose-H_2O]^+$, 179 $[M+H-glucose-2H_2O-14]^+$	389	390	3,4-dihydroverbenalin	马鞭草

续表 1

序号	t_R/min	MS/MS (m/z)	$[M-H]^-$ (m/z)	相对分子 质量	化合物	来源
19	18.2	389 $[M+H]^+$, 227 $[M+H-\text{glucose}]^+$, 195 $[M+H-\text{glucose}-2H_2O-14]^+$	387	388	verbenalin	马鞭草
20	18.3	457 $[M+Na]^+$, 273 $[M+H-\text{glucose}]^+$	433	434	9-methyl-10-hydrohastatoside	马鞭草
21	19.0	449 $[M+Na]^+$, 427 $[M+H]^+$	425	426	patridoid II	败酱草
22	19.6	381 $[M+H]^+$, 219 $[M+H-\text{Glc}]^+$	379	380	dihydro patrinose	败酱草
23	20.3	679 $[M+Na]^+$, 477 $[M+H-H_2O-\text{rhamnose}]^+$, 325 $[477-152]^+$, 163 $[325-\text{glucose}]^+$	639	640	β -hydroxyforsythoside A	连翘
24	22.3	639 $[M+H]^+$, 463 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$, 287 $[M+H-\text{glucuronide acid}\times 2]^+$	637	638	luteolin 7- <i>O</i> -diglucuronide	马鞭草
25	22.4	391 $[M+H]^+$, 229 $[M+H-\text{glucose}]^+$	389	390	piceid	虎杖
26	23.8	633 $[M+Na]^+$, 479 $[M+H-\text{xylose}]^+$, 325 $[479-154]^+$, 163 $[325-\text{glucose}]^+$	609	610	forsythoside J	连翘
27	24.5	647 $[M+Na]^+$, 479 $[M+H-\text{xylose}]^+$, 325 $[479-154]^+$, 163 $[325-\text{glucose}]^+$	623	624	forsythoside A	连翘
28	25.2	647 $[M+Na]^+$, 479 $[M+H-\text{xylose}]^+$, 325 $[479-154]^+$, 163 $[325-\text{glucose}]^+$	623	624	forsythoside I	连翘
29	25.8	611 $[M+H]^+$, 465 $[M+H-\text{rhamnose}]^+$, 303 $[M+H-\text{rhamnose}-\text{glucose}]^+$	609	610	lutin	连翘、虎杖、 柴胡
30	25.8	551 $[M+H]^+$, 419 $[M+H-\text{apiose}]^+$, 257 $[M+H-\text{apiose}-\text{glucose}]^+$	549	550	apiosyl-isoliquiritin	甘草
31	26.7	625 $[M+H]^+$, 477 $[M+H-\text{rhamnose}]^+$, 325 $[M+H-\text{rhamnose}-152]^+$	623	624	verbascoside	马鞭草
32	27.0	419 $[M+H]^+$, 257 $[M+H-\text{glucose}]^+$	417	418	liquiritin	甘草
33	27.0	781 $[M+H]^+$, 391 $[M+H-390]^+$, 229 $[M+H-390-\text{glucose}]^+$	779	780	dimer piceid	虎杖
34	27.9	479 $[M+H]^+$, 325 $[479-154]^+$, 163 $[325-\text{glucose}]^+$	477	478	calceolarioside A	连翘
35	28.4	443 $[M+H]^+$, 273 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$	441	442	naringenin 7- <i>O</i> -glucuronide	虎杖
36	28.9	647 $[M+Na]^+$, 625 $[M+H]^+$, 477 $[M+H-\text{rhamnose}]^+$, 325 $[M+H-\text{rhamnose}-152]^+$	623	624	isoverbascoside	马鞭草
37	30.2	567 $[M+H]^+$, 405 $[M+H-\text{glucose}]^+$, 387 $[M+H-\text{glucose}-H_2O]^+$	565	566	dihydroxyphillyrin	连翘
38	31.0	903 $[M+H]^+$, 757 $[M+H-\text{rhamnose}]^+$, 595 $[M+H-\text{rhamnose}\times 2]^+$, 449 $[M+H-\text{rham}\times 2-\text{glucose}]^+$, 303 $[M+H-\text{rhamnose}\times 2-\text{glucose}-\text{rhamnose}]^+$	901	902	quercetin 7- <i>O</i> -rhamnosyl-3- <i>O</i> -glucosyl-1-6-rhamninosyl-1-3-rhamnoside	败酱草
39	33.5	539 $[M+H]^+$, 499 $[M+H-CH_2O]^+$, 337 $[M+H-\text{glucose}]^+$, 319 $[337-H_2O]^+$, 163 $[327-156]^+$	537	538	hydroxydihydromatairesinoside	败酱草
40	33.8	447 $[M+H]^+$, 271 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$	445	446	apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide	马鞭草
41	33.8	539 $[M+Na]^+$, 517 $[M+H]^+$, 499 $[M+H-H_2O]^+$, 355 $[M+H-\text{caffeic acyl}]^+$	515	516	isochlorogenic acid B and its isomer	柴胡

续表 1

序号	t_R/min	MS/MS (m/z)	$[M-H]^-$ (m/z)	相对分子 质量	化合物	来源
42	34.7	455 $[M+Na]^+$, 271 $[M+H-\text{glucose}]^+$	431	432	emodin-8- <i>O</i> -glucoside	虎杖
43	34.7	551 $[M+H]^+$, 419 $[M+H-\text{apiose}]^+$, 257 $[M+H-\text{apiose}-\text{glucose}]^+$	549	550	apiosylliguiritin	甘草
44	35.9	—	541	542	—	虎杖
45	35.9	431 $[M+H]^+$, 269 $[M+H-\text{glucose}]^+$	475 $[M+HCOO]^-$	430	7-methoxyflavone-4'-glucoside	甘草
46	36.4	675 $[M+Na]^+$, 653 $[M+H]^+$, 485 $[M+H-168]^+$, 339 $[M+H-168-\text{rhamnose}]^+$, 177 $[M+H-168-\text{rhamnose}-\text{glucose}]^+$	651	652	epimeridinoside A	马鞭草
47	36.4	523 $[M+H]^+$, 343 $[M+H-\text{glucose}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 219 $[M+H-\text{glucose}-\text{H}_2\text{O}-124]^+$	521	522	isolariciresinol-6- <i>O</i> - β -glucoside	连翘、败酱草
48	36.8	147 $[M+Na]^+$	123	124	5-hydroxymethylfurfural	芦根
49	37.8	239 $[M+H]^+$, 146 $[M+H-C_6H_5OH]^+$	237	238	3-(2'-hydroxyphenyl)-4(3 <i>H</i>)- quinazolinone	板蓝根
50	38.2	177 $[M+Na]^+$, 145 $[M+Na-2H_2O]^+$	153	154	trihydroxybenzaldehyde	芦根
51	40.2	469 $[M+Na]^+$, 301 $[M+H-\text{rhamnose}]^+$	445	446	kaempferide-3- <i>O</i> -rhamnoside	败酱草
52	40.9	409 $[M+H]^+$, 247 $[M+H-\text{glucose}]^+$	407	408	2-methoxy-6-acetyljuglone- glucoside	虎杖
53	41.7	433 $[M+H]^+$, 271 $[M+H-\text{glucose}]^+$	431	432	emodin-1- <i>O</i> -glucoside	虎杖
54	42.4	257 $[M+H]^+$, 137 $[M+H-120]^+$	511 $[2M-H]^-$	256	isoliquiritigenin	甘草
55	44.4	839 $[M+H]^+$, 663 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$, 487 $[M+H-\text{glucuronide acid}\times 2]^+$, 469 $[487-H_2O]^+$	837	838	hydroxy glycyrrhizic acid and its isomer	甘草
56	44.4	285 $[M+H]^+$	283	284	rhein	虎杖
57	45.8	839 $[M+H]^+$, 663 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$, 487 $[M+H-\text{glucuronide acid}\times 2]^+$, 469 $[487-H_2O]^+$	837	838	hydroxy glycyrrhizic acid and its isomer	甘草
58	45.8	353 $[M+Na]^+$, 295 $[M+H-H_2O\times 2]^+$, 231 $[M+H-H_2O\times 2-64]^+$	329	330	7-methoxyisohamnetin	柴胡
59	45.8	271 $[M+H]^+$	269	270	emodin	虎杖
60	45.8	271 $[M+H]^+$	269	270	apigenin	马鞭草
61	46.3	353 $[M+Na]^+$	329	330	demethoxy-indigoticalignane A	板蓝根、芦根
62	46.7	301 $[M+H]^+$	299	300	4'-hydroxywogonin	马鞭草
63	46.9	839 $[M+H]^+$, 663 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$, 487 $[M+H-\text{glucuronide acid}\times 2]^+$, 469 $[487-H_2O]^+$	837	838	hydroxy glycyrrhizic acid and its isomer	甘草
64	47.0	781 $[M+H]^+$, 763 $[M+H-H_2O]^+$, 745 $[M+H-H_2O\times 2]^+$, 619 $[M+H-\text{glucose}]^+$, 473 $[M+H-\text{glucose}-\text{fucose}]^+$	779	780	saikosaponin A	柴胡
65	47.5	823 $[M+H]^+$, 647 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$, 471 $[M+H-\text{glucuronide acid}\times 2]^+$	821	822	glycyrrhizic acid and its isomer	甘草
66	47.9	823 $[M+H]^+$, 647 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$, 471 $[M+H-\text{glucuronide acid}\times 2]^+$	821	822	glycyrrhizic acid and its isomer	甘草
67	48.1	304 $[M+H]^+$	302	303	2-[(2'-hydroxy-2',3'-dihydro- 3'-indole) cyanomethylene]-3- indolinone	板蓝根、芦根

续表 1

序号	t_R/min	MS/MS (m/z)	$[M-H]^-$ (m/z)	相对分子 质量	化合物	来源
68	48.4	823 $[M+H]^+$, 619 $[M+H-\text{glucose}-\text{acetyl}]^+$, 473 $[M+H-\text{glucose}-\text{fucose}]^+$	821	822	3''-acetylsaikosaponin A and its isomer	柴胡
69	48.7	845 $[M+Na]^+$, 647 $[M+H-\text{glucuronide acid}]^+$, 471 $[647-\text{glucuronide acid}]^+$, 453 $[471-H_2O]^+$	821	822	glycyrrhizic acid and its isomer	甘草、败酱草
70	49.3	823 $[M+H]^+$, 619 $[M+H-\text{glucose}-\text{acetyl}]^+$, 473 $[M+H-\text{glucose}-\text{fucose}]^+$	821	822	3''-acetyl-saikosaponin A and its isomer	柴胡
71	49.3	373 $[M+H]^+$, 355 $[M+H-H_2O]^+$, 337 $[M+H-H_2O \times 2]^+$, 137 $[3-\text{hydroxy}-4-\text{methoxy benzyl}]^+$	371	372	phillygenin	连翘
72	50.3	867 $[M+H]^+$, 705 $[M+H-\text{glucose}]^+$, 473 $[M+H-\text{glucose}-\text{fucose}-\text{malonyl}]^+$	865	866	malonylsaikosaponin D and its isomer	柴胡
73	53.0	369 $[M+H]^+$	367	368	hydroxy gancaonin M and its isomer	甘草
74	53.7	357 $[M+H]^+$	355	356	uralenin	甘草
75	54.6	353 $[M+H]^+$	351	352	gancaonin M and its isomer	甘草
76	54.8	327 $[M+H]^+$, 223 $[M+Na-126]$, 201 $[M+H-126]^+$	325	326	isaindigodione	板蓝根
77	55.6	819 $[M+Na]^+$, 797 $[M+H]^+$, 635 $[797-\text{glucose}]^+$, 473 $[635-2\text{glucose}]^+$, 455 $[aglycone-H_2O]^+$	795	796	28- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β - <i>D</i> -glucopyranosyl hederagin ester	败酱草
78	57.2	735 $[M+Na]^+$, 735 $[889-\text{arab}]^+$, 586 $[735-\text{rhamnose}]^+$, 457 $[586-\text{xylose}]^+$, 439 $[M+H-\text{rhamnose}-\text{xylose}-H_2O]^+$	733	734	3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -rhamnosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-arabinosyl- oleanicaside	败酱草
79	57.7	735 $[M+Na]^+$, 735 $[889-\text{arab}]^+$, 586 $[735-\text{rhamnose}]^+$, 457 $[586-\text{xylose}]^+$, 439 $[M+H-\text{rhamnose}-\text{xylose}-H_2O]^+$	733	734	3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -rhamnosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- arabinosyl-ursolicaside	败酱草
80	57.8	355 $[M+H]^+$	353	354	licoflavonol	甘草
81	57.8	355 $[M+H]^+$	353	354	isolicoflavonol	甘草
82	57.8	357 $[M+Na]^+$, 335 $[M+H]^+$, 303 $[M+H-32]^+$	333	334	4',6-dihydroxyquercetin	连翘
83	58.2	303 $[M+H]^+$	301	302	quercetin	连翘
84	59.2	285 $[M+H]^+$	283	284	rhein and its isomer	虎杖
85	59.6	353 $[M+H]^+$	351	352	gancaonin N and its isomer	甘草
86	60.6	371 $[M+H]^+$	369	370	uralenol	甘草
87	60.8	341 $[M+Na]^+$, 319 $[M+H]^+$, 301 $[M+H-H_2O]^+$	317	318	6-hydroxyquercetin	连翘
88	62.2	319 $[M+Na]^+$, 297 $[M+H]^+$	295	296	5-hydroxy-7-acetoxyflavone	连翘、甘草
89	65.7	301 $[M+Na]^+$		278	hydroxyindirubin	板蓝根
90	65.8	149 $[M]^+$		149	2,5-dihydroxy-indole	板蓝根
91	66.5	493 $[M+Na]^+$, 471 $[M+H]^+$, 453 $[M+H-H_2O]^+$, 427 $[471-44]^+$	469	470	glycyrrhetic acid and its isomer	甘草
92	67.4	493 $[M+Na]^+$, 471 $[M+H]^+$, 453 $[M+H-H_2O]^+$, 427 $[471-44]^+$	469	470	glycyrrhetic acid and its isomer	甘草
93	67.6	473 $[M+H]^+$	471	472	hederagenin	败酱草
94	68.2	457 $[M+H]^+$	455	456	ursolic acid/oleanic acid	败酱草
95	70.1	455 $[M+H]^+$, 439 $[M-CH_3]^+$	453	454	oleanonic acid	败酱草
96	74.5	381 $[M+H]^+$	379	380	5- <i>O</i> -methyl-glycyrol	甘草

2 药效物质基础的筛选和确认

2.1 抗炎药效物质基础的筛选

采用 UPLC/Q-TOF-MS 整合 NF- κ B 双荧光素酶报告基因系统的筛选体系,快速准确地筛选鉴定疏风解毒胶囊中潜在的抗炎活性成分,明确其抗炎药效物质基础。通过活性筛选实验,确定了 10 个活性单体,

按照结构类型分类,主要有苯乙醇苷类(连翘酯苷 E、连翘酯苷 A、异连翘酯苷 A、毛蕊花糖苷)、环烯醚萜苷类(戟叶马鞭草苷、马鞭草苷)、木脂素类(连翘苷)、黄酮类(3-羟基光甘草酚、牡荆苷)和蒽醌类(大黄素)化合物。抗炎药效物质 UPLC/Q-TOF、生物活性分析及结构信息见图 1 及表 2。

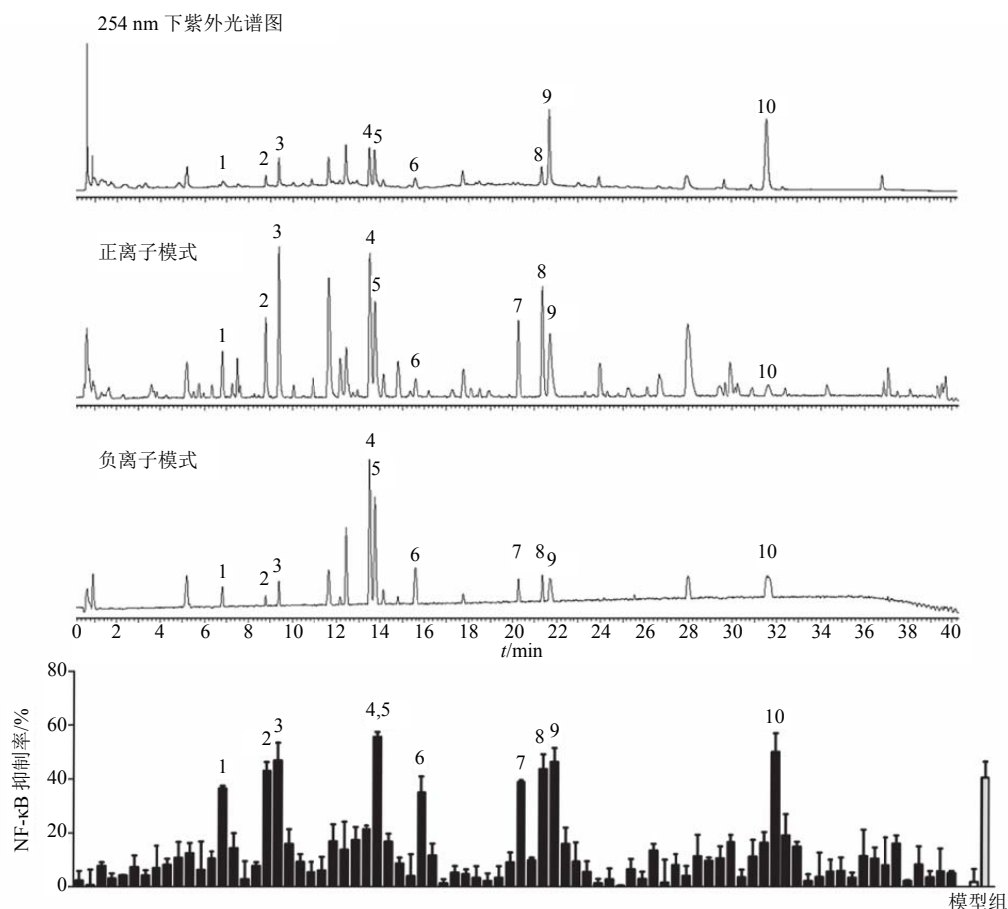


图 1 疏风解毒胶囊 UPLC/Q-TOF 图及抗炎活性分析

Fig. 1 UPLC/Q-TOF for SJZ and analysis on anti-inflammatory components

2.2 验证试验

以原代小鼠腹腔巨噬细胞为研究对象,建立了脂多糖(LPS)诱导的炎症模型,在体外细胞水平上评价马鞭草苷、连翘酯苷 A、连翘苷、牡荆苷、大黄素 5 个单体化合物的抗炎效果。结果表明,5 个化合物能显著抑制原代小鼠腹腔巨噬细胞中 LPS 诱导的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)的表达水平,并且呈现一定的剂量依赖关系,验证了 5 个单体化合物的抗炎效果。

3 解热作用及其机制研究

3.1 解热作用研究

采用酵母致大鼠发热模型,研究疏风解毒胶囊

的解热作用,结果显示,造模后 5、6 h,模型组与对照组比较,大鼠肛温有非常显著性地升高,说明造模成功。与模型组比较,疏风解毒胶囊高、低剂量组大鼠肛温有显著性降低,表明疏风解毒胶囊有显著的解热作用。

3.2 作用机制研究

采用酵母致大鼠发热模型,研究疏风解毒胶囊给药后对体温调节相关因子 IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、 γ 干扰素 (IFN- γ)、前列腺素 E₂ (PGE₂)、环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)、Na⁺、K⁺-ATPase、IL-6、精氨酸加压素 (AVP) 的影响。结果显示,疏风解毒胶囊能显著降低炎症因子 PGE₂ 及细胞因

表 2 疏风解毒胶囊抗炎活性单体结构信息表
Table 2 Information of anti-inflammatory components from SJC

峰号	t_R/min	MS (m/z)	MS/MS (m/z)	UV/nm	分子式	相对分子质量	化合物	来源
1	6.83	461.162 8	315 [M-H-Rha] ⁻ , 135 [M-H-Rha-Glu] ⁻	196, 221, 284	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₂	462.451 0	连翘酯苷 E (forsythoside E)	连翘
2	8.81	405.138 8	243 [M+H-Glu] ⁺ , 225 [M+H-Glu-H ₂ O] ⁺ , 207 [M+H-Glu-2H ₂ O] ⁺ , 193 [M+H-Glu-H ₂ O-CH ₄ O] ⁺	232, 192	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	404.371 0	戟叶马鞭草苷 (hastatoside)	马鞭草
3	9.40	389.140 7	227 [M+H-Glu] ⁺ , 195 [M+H-Glu-CH ₄ O] ⁺ , 177 [M+H-Glu-CH ₄ O-H ₂ O] ⁺	238	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	388.371 6	马鞭草苷 (verbenalin)	马鞭草
4	13.52	623.200 7	623 [M-H] ⁻ , 461 [M-H-Rha] ⁻ , 161 [M-2H-461] ⁻	198, 220, 326	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	624.595 8	连翘酯苷 A (forsythoside A)	连翘
5	13.77	623.197 1					毛蕊花糖苷 (verbascoside)	马鞭草
6	15.58	623.197 8					异连翘酯苷 A (isoforsythoside A)	连翘
7	20.25	535.218 7	557 [M+Na] ⁺ , 355 [M+H-Glu] ⁺ , 249 [M+H-Glu-anisole] ⁻ , 189 [M+H-Glu-anisole-2CH ₂ O] ⁻	200, 230, 277	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₁	534.560 4	连翘苷 (phillyrin)	连翘
8	21.35	407.129 4	407 [M-H] ⁻ , 245 [M-H-2C ₅ H ₇ -CO] ⁻	237	C ₂₅ H ₂₈ O ₅	408.494 3	3-羟基光甘草酚 (3-hydroxyglabrol)	甘草
9	21.77	431.084 3	269 [M-H-Glu] ⁻ , 225 [M-H-Glu-CO ₂] ⁻	222, 271, 194	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.383 8	牡荆苷 (vitexin)	板蓝根
10	31.61	269.042 3	269 [M+H] ⁺ , 241 [M+H-CO] ⁺ , 225 [M+H-CO ₂] ⁺	287, 266, 224	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.241 4	大黄素 (emodin)	虎杖、板蓝根

子 TNF- α 、IL-6、IL-1 α 、IL-1 β 水平, 显著降低致热介质 cAMP 及 cAMP/cGMP 水平, 显著降低 Na⁺、K⁺-ATPase, 减少产热, 显著升高内源性解热介质 AVP 的量。表明疏风解毒胶囊能显著抑制炎症因子 PGE₂ 产生, 从而显著抑制致热性细胞因子 TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 的生成, 进而减少产热因子 cAMP、Na⁺、K⁺-ATPase 等的量, 降低 cAMP/cGMP, 减少产热, 并使内源性解热介质 AVP 量增加, 从而发挥其解热作用。

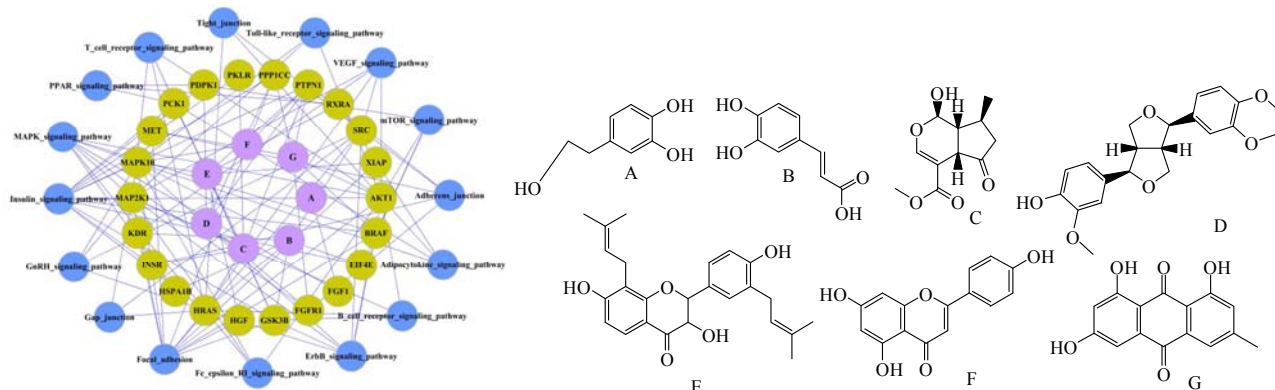
4 抗炎作用机制研究

4.1 抗炎网络药理学研究

对筛选鉴定出的 10 个抗炎活性单体 (连翘酯苷 E、连翘酯苷 A、异连翘酯苷 A、毛蕊花糖苷、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、连翘苷、3-羟基光甘草酚、牡荆苷、大黄素) 利用 PharmMapper 和 KEGG 等生物信息学手段对其结构母核进行靶点及作用通路的预测分析, 预测 10 种成分可能通过 HRAS、PDPK1、MAP2K1 等 31 个靶点作用于炎症反应的 Focal adhesion、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、Fc epsilon RI、过氧化物酶体增殖体激活受体 (PPAR)、Toll 样受体 (Toll-like receptor)、NK 细胞介导的细胞毒、

血管内皮生长因子 (VEGF)、B 细胞受体和 T 细胞受体信号等 19 条通路, 其中 MAPK、Toll 样受体、PPAR、VEGF、Fc epsilon、花生四烯酸代谢 (arachidonic acid metabolism)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)、表皮生长因子受体 (ErbB)、Wnt 信号通路和 focal adhesion 信号通路与炎症相关。补体系统 (complement and coagulation cascades)、自然杀伤 (natural killer)、T/B 细胞受体 (T/B cell receptor)、Fc epsilon、原发性免疫缺陷 (primary immunodeficiency) 与免疫相关。Focal adhesion、PPAR、VEGF 与胶原形成相关。Focal adhesion、缝隙连接 (gap junction)、黏着连接 (adherens junction)、紧密连接 (tight junction) 和肌动蛋白细胞骨架调节 (regulation of actin cytoskeleton) 与肌肉收缩相关。

最后利用 Cytoscape 2.6 软件进行数据处理, 得到疏风解毒胶囊的抗炎网络药理图 (图 2)。预测结果显示, 环烯醚萜苷类化合物马鞭草苷 (verbenalin) 和戟叶马鞭草苷 (hastatoside) 以及苯乙醇苷类化合物连翘酯苷 A (forsythoside A) 和



A-羟基酪醇 B-咖啡酸 C-马鞭草醇 D-连翘脂素 E-3-羟基光甘草酚 F-芹菜素 G-大黄素

A-hydroxytyrosol B-citric acid C-verbenalol D-pillygenin E-3-hydroxyglabrol F-apigenin G-emodin

图 2 疏风解毒胶囊网络药理图

Fig. 2 Network pharmacology of SJC (A-G)

毛蕊花糖苷 (verbascoside) 通过与相应的靶蛋白结合主要作用于炎症、免疫、胶原蛋白形成、肌肉收缩相关的信号通路, 从而起到抗炎、免疫调节和镇咳的作用; 木脂素类化合物连翘苷 (phillyrin)、黄酮类化合物牡荆苷 (vitexin)、蒽醌类化合物大黄素 (emodin) 主要作用于炎症以及免疫相关的通路而起到抗炎和免疫调节的作用; 连翘酯苷 E (forsythoside E) 和 3-羟基光甘草酚 (3-hydroxyglabrol) 则主要通过作用于炎症通路起到基础抗炎的作用。由此推测, 在这些药效物质基础中, 马鞭草苷、戟叶马鞭草苷、连翘酯苷 A 和毛蕊花糖苷通过多靶点多途径的作用机制起到了最主要的药效, 是药效物质基础中最重要的 4 个化合物。

4.2 对小鼠急性肺炎模型基因组学研究

通过建立小鼠肺炎模型, 并给予疏风解毒胶囊干预, 首先探究了疏风解毒胶囊对肺损伤小鼠的保护作用。在观察其疗效基础上引入基因组学方法从基因角度系统分析疏风解毒胶囊作用机制。研究结果显示, 疏风解毒胶囊预给药 2 周后, 能显著降低急性上呼吸道感染造成的 IL-6、IL-8 等炎症因子的表达升高, 减少肺粒细胞浸润, 改善肺部组织水肿、坏死脱落; 基因芯片筛查显示药物干预组有 70 个基因与模型组有显著差异, 涉及 84 条作用通路。与前期进行的活性化合物反向分子对接预测结果比较, 有 10 条共有通路, 分别为 mTOR 信号通路、Toll 样受体信号通路、MAPK 信号通路、B 细胞受体信号通路、Fc epsilon 受体 I 信号通路、PPAR 信号通

路、黏着斑通路、缝隙连接通路、ErbB 信号通路和 VEGF 信号通路, 并且通过比对可得到 3 个共同的作用蛋白, 即酪氨酸蛋白激酶、脂肪酸结合蛋白和丝裂原活化蛋白激酶。并进一步通过分子对接预测了活性成分与相关蛋白的结合能力, 推测连翘苷、马鞭草苷、大黄素、毛蕊花糖苷等为疏风解毒胶囊抗炎的主要药效成分。

5 结论

通过以上研究, 基本明确了疏风解毒胶囊的药效物质基础, 初步阐释了疏风解毒胶囊的作用机制, 揭示了其多成分、多靶点、多途径的网络作用特点, 对于诠释中医治肺理论有一定的借鉴意义, 并为制定疏风解毒胶囊质量控制标准及临床应用提供了理论和实验依据。

参考文献

- [1] 吕伟伟, 朱童娜, 邱欢, 等. 疏风解毒胶囊抗病毒及抗菌的体外药效学实验研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(3): 234-238.
- [2] 刘颖, 崔晓兰, 时瀚, 等. 疏风解毒胶囊防治流感体内药效学实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 5(1): 35-39.
- [3] 刘颖, 时瀚, 金亚宏, 等. 疏风解毒胶囊防治流感体内药效学研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 5(2): 107-110.
- [4] 郭姗姗, 金亚宏, 王意忠, 等. 疏风解毒颗粒防治手足口病的体内药效学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 206-209.