

疏风解毒胶囊疏风解表的谱效关系研究

韩彦琪^{1,2}, 曹勇^{3#}, 董亚楠⁴, 武琦⁵, 许浚^{1,2}, 葛德助³, 龚苏晓^{1,2}, 张洪兵^{1,2}, 张铁军^{1,2*}, 刘昌孝^{2,6*}

1. 天津药物研究院, 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300193
2. 天津药物研究院, 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300193
3. 安徽济人药业有限公司, 安徽 亳州 236800
4. 银川市中医医院, 宁夏 银川 750001
5. 天津医科大学, 天津 300070
6. 天津药物研究院 新药评价中心, 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: 目的 明确疏风解毒胶囊发挥疏风解表作用的潜在物质基础。方法 利用 LC-MS 建立疏风解毒胶囊 22 个不同药材配比样品的 MS 谱库; 采用与疏风解表相关的 M3 型乙酰胆碱受体高表达的中国仓鼠卵巢癌细胞 CHO-K1/M3 为体外药效筛选模型, 检测 22 个样品对 M3 受体的激动活性; 以 22 个样品特征峰的相对峰面积为自变量, 以对 M3 受体的激动率为因变量, 采用 BP-神经网络算法进行谱-效关联分析。结果 通过建立的最佳神经网络模型, 计算得到 16 个特征峰与疏风解毒胶囊对 M3 受体的激动活性显著相关。结论 通过谱效研究, 推测疏风解毒胶囊发挥疏风解表的药效物质基础可能为包括二氢败酱苷、大黄素、大黄酸、连翘苷、连翘酯苷 E、柴胡皂苷 d、虎杖苷、毛蕊花糖苷等在内的 16 个化合物, 为其质量标志物的确定提供了依据。

关键词: 疏风解毒胶囊; 清热解毒; 谱效关系; 神经网络; 二氢败酱苷; 大黄素; 大黄酸; 连翘苷; 连翘酯苷 E; 柴胡皂苷 d; 虎杖苷; 毛蕊花糖苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)15-3534-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.15.003

Spectrum-effect relationship of wind-dispersing and exterior syndrome-relieving of Shufeng Jiedu Capsules

HAN Yan-qi^{1,2}, CAO Yong³, DONG Ya-nan⁴, WU Qi⁵, XU Jun^{1,2}, GE De-zhu³, GONG Su-xiao^{1,2}, ZHANG Hong-bing^{1,2}, ZHANG Tie-jun^{1,2}, LIU Chang-xiao^{2,6}

1. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
2. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China
4. Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750001, China
5. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
6. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Center for New Drug Evaluation and Research, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To explore the potential effective compounds of 'wind-dispersing and exterior syndrome-relieving' of Shufeng Jiedu Capsule (SJC). **Methods** The fingerprints of 22 samples with different proportions of SJC were established by LC-MS. The

收稿日期: 2019-03-15

基金项目: 国家中药标准化专项资助项目(ZYBZH-C-AH-02); 国家自然科学基金资助项目(81430096); 国家自然科学基金资助项目(81703802)

作者简介: 韩彦琪, 女, 助理研究员。Tel: (022)23003935 E-mail: hanyq@tjpr.com

*通信作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: zhangtj@tjpr.com

刘昌孝 中国工程院院士。E-mail: liucx@tjpr.com

#并列第一作者 曹勇, 男, 副研究员。E-mail: caoyong20021226@163.com

stimulation rates of 22 samples to the M3 receptor were measured by Chinese hamster ovarian cancer cells with high expression of M3 acetylcholine receptor which related to 'wind-dispersing and exterior syndrome-relieving'. Finally, the spectrum-effect relationship of relative peak areas of characteristic peaks and stimulation rates was analyzed by BP-neural network. **Results** According to the established optimal neural network model, 16 characteristic peaks were calculated and found to be significantly correlated with the activity of SJC on the M3 receptor stimulation. **Conclusion** Through the spectrum-effect study, it is speculated that the effective components of SJC on 'wind-dispersing and exterior syndrome-relieving' may be the 16 compounds including dihydrodylate glycoside, emodin, rhein, phillyrin, forsythoside E, saikosaponin d, polydatin, verbascoside, etc, which provides a basis for the determination of quality markers.

Key words: Shufeng Jiedu Capsule; wind-dispersing and exterior syndrome-relieving; spectrum-effect relationship; neural network; dihydrodylate glycoside; emodin; rhein; phillyrin; forsythoside E; saikosaponin d; polydatin; verbascoside

疏风解毒胶囊是由虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草 8 味中药组成的复方制剂, 具有疏风解表、清热解毒之功, 一系列临床研究表明疏风解毒胶囊对于治疗急性上呼吸道感染有良好的疗效^[1-6]。目前, 对疏风解毒胶囊的研究多见于其临床应用、多指标含量测定及指纹图谱等质量控制研究^[7-12], 而对其药效物质基础研究少见报道, 并且目前尚未见疏风解毒胶囊谱效关系的研究报道。谱效关系研究是将指纹图谱与药效数据用特定的方式形成关系, 通过研究它们之间的相关性, 来阐明指纹图谱所表征的化学成分与药效的相互关系, 确定药效物质基础, 为质量标志物的确立提供了依据, 使得用于中药质量控制的指纹图谱特征峰更具有针对性, 更能反映中药与其药效基本一致的内在质量^[13]。因此, 本研究基于谱效关系, 建立了疏风解毒胶囊的化学成分与疏风解表药效的关联关系, 以阐释其药效物质基础。

1 材料

1.1 仪器

Acquity UPLC 超高效液相色谱仪、Premier 质谱仪 (美国 Waters 公司); AB204-N 电子天平 (德国 Mettler 公司); 高通量实时荧光检测分析系统 FLIPR (Molecular Devices 公司); MCO-5M CO₂ 细胞培养箱 (日本 Olympus 公司); 超净工作台 (苏州净化设备有限公司); 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); Milli-Q 超纯水仪 (美国 Millipore 公司); 离心机 (德国 Hettich 公司); 超声仪 (宁波新芝生物科技公司)。

1.2 药材

虎杖、连翘、板蓝根、马鞭草、败酱草、柴胡、芦根、甘草药材均由安徽济人药业有限公司提供, 经天津药物研究院张铁军研究员鉴定, 虎杖为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干

燥根茎和根、连翘为木犀科植物连翘 *Forsythia suspense* (Thunb.) Vahl 的干燥果实、板蓝根为十字花科菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根、马鞭草为马鞭草科植物马鞭草 *Verbena officinalis* L. 的地上部位、败酱草为败酱科植物黄花败酱 *Patrinia Scabiossefolia* Fisch. 的干燥根茎、柴胡为伞形科植物柴胡 *Bulperum chinese* DC. 的干燥根、芦根为禾本科植物芦苇 *Phragmites communis* Trin. 的干燥根茎、甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎。相关药材储存于天津药物研究院中药研究中心。

1.3 药品与试剂

对照品连翘酯苷 A (批号 MUST-16062001)、连翘苷 (批号 MUST-16041519)、甘草次酸 (批号 MUST-16032217)、芒柄花黄素 (批号 MUST-14091205)、大黄酸 (批号 MUST-14111905)、(+)- 松脂素 - β -D- 吡喃葡萄糖苷 (批号 MUST-16011707)、柴胡皂苷 a (批号 MUST-16060105)、毛蕊花糖苷 (批号 M-011-170629)、常春藤皂苷元 (批号 MUST-16101502)、表告依春 (批号 MUST-16012010) 购于成都曼斯特生物科技有限公司, 虎杖苷 (批号 HZG20150228)、白藜芦醇 (批号 BLLC20150520)、大黄素 (批号 DHS20150614) 购于南京春秋生物工程技术有限公司, 戟叶马鞭草苷 (批号 ZQ17120408) 购于上海再启生物技术有限公司, 齐墩果酸 (批号 110709-200505) 购于中国食品药品检定研究院, 决明酮-8-O-葡萄糖苷 (批号 CFN97101) 购于 ChemFaces 公司, 质量分数均 $\geq 98\%$; FLIPR[®] Calcium 4 assay kit 购于 Molecular devices; 二甲基亚砜 (DMSO)、卡巴胆碱 (Carbachol) 购于 Sigma 公司; 乙腈、甲酸为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

1.4 细胞

M3 乙酰胆碱受体高表达的中国仓鼠卵巢癌 CHO-K1/M3 细胞, 由南京金斯瑞生物科技有限公司构建。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 供试品溶液的制备 采用均匀设计法通过 DPS 软件对疏风解毒胶囊中的 8 味药材进行 8 因素 21 水平均匀设计, 虎杖按 0~900 g, 板蓝根、连翘、

柴胡、败酱草、马鞭草均按 0~720 g, 芦根按 0~540 g, 甘草按 0~360 g 配比, 得到 21 组样品配比, 编号 N1~N21, 另外按处方原配比设计增加 N0 号样品, 共计 22 个样品配比组 (表 1)。然后, 按照疏风解毒胶囊原制备工艺, 获取 8 味药材干膏, 再用相应的药材提取溶剂复溶干膏, 超声并离心取上清液。最后, 根据均匀设计表的配比, 取 8 味药材溶液配制成 22 个样品溶液, 水浴挥干乙醇后冻干, 得 22 个样品的冻干粉。

表 1 均匀设计结果

Table 1 Results of uniform design

样品	用量/g								样品	用量/g							
	虎杖	板蓝根	连翘	柴胡	败酱草	马鞭草	芦根	甘草		虎杖	板蓝根	连翘	柴胡	败酱草	马鞭草	芦根	甘草
N0	450	360	360	360	360	360	270	180	N11	180	216	0	252	648	288	81	198
N1	675	288	324	648	684	72	378	72	N12	315	720	432	288	612	504	297	0
N2	855	432	180	72	396	144	135	36	N13	630	612	360	180	36	612	108	270
N3	495	36	72	144	504	540	405	108	N14	45	108	612	108	324	108	324	252
N4	900	180	648	432	576	684	243	216	N15	450	648	576	576	468	36	54	162
N5	585	144	468	468	0	324	486	18	N16	90	576	216	396	540	180	513	288
N6	810	684	36	612	144	396	351	234	N17	360	324	288	0	216	720	540	180
N7	0	504	144	540	288	648	216	90	N18	765	540	720	216	252	252	459	126
N8	225	396	540	684	432	576	432	324	N19	720	72	252	504	360	468	0	306
N9	540	468	504	36	720	360	189	342	N20	135	360	684	360	108	432	27	54
N10	405	252	108	324	72	0	270	360	N21	270	0	396	720	180	216	162	144

精密称定 22 个样品的冻干粉, 加入 70%乙醇配制成质量浓度均为 10 mg/mL 的样品溶液, 离心后取上清, 即得 UPLC-Q/TOF MS 实验的供试品溶液。精密称定 22 个样品的冻干粉溶解于 DMSO, 再用 HBSS buffer (含 20 mmol/L HEPES) 稀释配制成 5 倍于实验用检测质量浓度 (0.5 mg/mL) 的溶液储存液, 离心取上清液, 即得细胞实验样品。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取戟叶马鞭草苷、毛蕊花糖苷、连翘酯苷 A、(+)-松脂素-β-D-吡喃葡萄糖苷、连翘苷、甘草次酸、虎杖苷、白藜芦醇、决明酮-8-O-葡萄糖苷、芒柄花黄素、大黄酸、大黄素、柴胡皂苷 a、表告依春、齐墩果酸、常春藤皂苷元对照品适量, 加甲醇溶解并定容, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.3 阳性激动剂卡巴胆碱及 N0 号样品的配制 将阳性激动剂卡巴胆碱溶解于 DMSO 中, 配制成浓度为 50 mmol/L 的储备溶液, 密封后放于 -20 °C 备用, 临用前用 HBSS buffer 对其进行 10 倍梯度稀释, 共 8 个浓度组, 最高检测浓度为 2 μmol/L, 每组 2

个复孔。

将 N0 样品溶解于 DMSO 中, 用 HBSS buffer (含 20 mmol/L HEPES) 稀释, 配制成 5 倍于实验用检测质量浓度 (5 mg/mL) 的溶液储存液, 离心取上清液, 密封后放于 4 °C 备用, 在检测前, 用 HBSS buffer 对 N0 储存液进行 5 倍梯度稀释, 共 6 个质量浓度组, 最高检测质量浓度为 1 mg/mL, 每组 2 个复孔。本研究中 DMSO 体积分数均未超过 0.5%。

2.2 UPLC-Q/TOF MS 分析

2.2.1 液相色谱条件 色谱柱为 Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈 (A)-0.1%甲酸水溶液 (B); 梯度洗脱程序: 0~2 min, 2% A; 2~6 min, 2%~12% A; 6~15 min, 12% A; 15~20 min, 12%~20% A; 20~37 min, 20%~50% A; 37~40 min, 50%~100% A; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 样品室温度 25 °C; 进样量 10 μL。

2.2.2 质谱条件 使用 Waters Premier 质谱仪, 正、负离子 2 种模式扫描测定, 仪器参数如下: 采用电

喷雾离子源; V 模式; 毛细管电压正离子模式 3.0 kV, 负离子模式 2.5 kV; 锥孔电压 30 V; 离子源温度 110 °C; 脱溶剂气温度 350 °C; 脱溶剂氮气体积流量 600 L/h; 锥孔气体积流量 50 L/h; 检测器电压正离子模式 1 900 V, 负离子模式 2 000 V; 采样频率 0.1 s, 间隔 0.02 s; 检测范围 m/z 100~1 500; 内参校准液采用亮氨酸脑啡肽醋酸盐 ($[M+H]^+ = 555.293$ 1, $[M-H]^- = 553.277$ 5)。

2.3 M3 受体激动剂检测

2.3.1 细胞培养 稳定表达 M3 受体的 CHO-K1/M3 细胞 培养于 10 cm² 培养皿中, 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 传代在含有 10% 胎牛血清的 Ham's F12, 抗生素质量浓度为 400 μg/mL G418。当细胞汇合度达到 80%~85% 时, 进行消化处理, 将收集到的细胞悬液, 以每孔 15 000 个细胞的密度接种到 384 微孔板, 然后放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱中继续培养至少 18 h 后用于实验。

2.3.2 激动剂检测 首先配制染料工作液 (参照 Molecular Devices 公司产品说明书操作), 然后将培养 18~20 h 的细胞取出, 每孔加入染料 20 μL 后将细胞板放到 37 °C、5% CO₂ 培养箱孵育 1 h, 最后于室温平衡 15 min。检测时, 将细胞板、待测样品板放入 FLIPR 内指定位置, 运行激动模式检测程序, 仪器总体检测时间为 120 s, 在第 21 秒时由仪器自动向细胞培养板内加入 5× 检测浓度的阳性激动剂 (卡巴胆碱) 及待测样品 10 μL 检测相对荧光强度 (RFU) 值。

2.3.3 数据分析 数据采集和分析使用 Excel 和 GraphPad Prism 6 软件程序。对于每个检测孔而言,

以 1~20 s 的平均 RFU 值作为基线, 21~120 s 的最大 RFU 值减去 21~120 s 的最小 RFU 值即为 ΔRFU, 根据该数值并依据下列公式计算出激动率。使用 GraphPad Prism 6 用四参数方程对数据进行分析, 从而计算出半数有效浓度 (EC₅₀) 值。

$$\text{激动率} = (\Delta\text{RFU}_{\text{受试样品}} - \Delta\text{RFU}_{\text{本底}}) / (\Delta\text{RFU}_{\text{激动剂对照}} - \Delta\text{RFU}_{\text{本底}})$$

2.4 误差反向传播 (BP)-神经网络分析

首先将 22 个样品特征峰的峰面积及 M3 受体激动率数据分别进行平滑化处理和归一化处理, 将数据统一到 [0, 1]。然后利用 Matlab, 以特征峰峰面积作为输入层神经元, 以激活率为输出神经元, 中间层神经元选 1 层, 建立 BP-神经网络。通过反复试验优化, 最终确定隐含层神经元个数为 6, 算法为 trainlm, 结合遗传算法 (genetic algorithm, GA) 作为最佳模型, 该训练模型的均方误差为 0.021, 相关系数为 0.995。以最优 GA-BP 模型计算各色谱峰对 M3 受体激动率的 MIV 值, 明确各自变量对网络输出影响相对重要性的排序, 从而识别潜在活性成分。

3 结果

3.1 样品 UPLC-Q/TOF MS 分析

通过 UPLC-Q/TOF MS 分析, 得到了样品正、负离子模式质谱图 (N0 质谱图见图 1)。然后运用 Marker Lynx 软件对 22 个样品的正、负离子模式数据进行峰提取、峰匹配以及主成分分析 (PCA), 选取贡献 (significance) 值较大的色谱峰进行整合, 共得到 44 个特征峰, 以 44 个特征峰的相对峰面积建立谱库作为后续谱效分析实验的自变量。

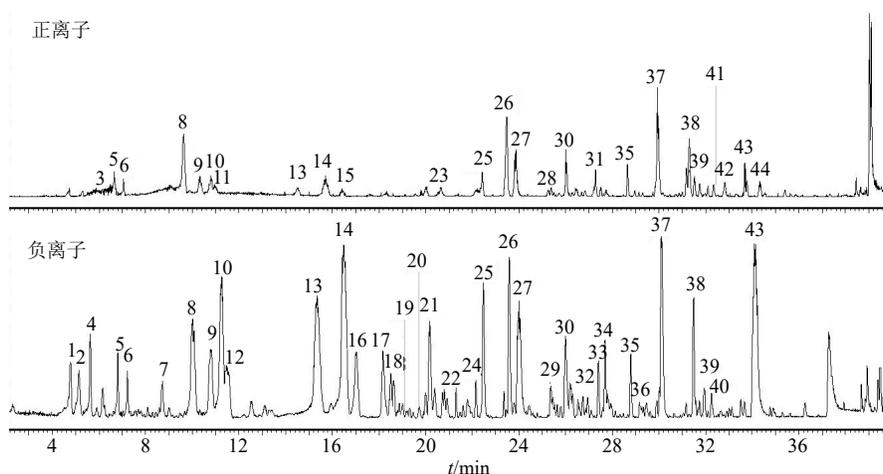


图 1 N0 样品正、负离子模式 BPI 图

Fig. 1 BPI chromatograms in positive and negative ESI mode of N0

3.2 22 个样品对 M3 受体的激动作用

采用“2.3”项下方法,检测得到阳性激动剂卡巴胆碱对 M3 受体的 EC₅₀ 值为 20.19 nmol/L, N0 对 M3 受体的 EC₅₀ 为 0.18 mg/mL,量效曲线分别见图 2。并由 N0 的 EC₅₀ 值确定 22 个样品的给药质量浓度为 0.1 mg/mL。

检测得到疏风解毒胶囊 22 个样品在 0.1 mg/mL 给药质量浓度下,对 M3 受体的激动效应见图 3。可以发现,疏风解毒胶囊对 M3 受体有显著的激动作用,不同配比的 22 个样品对 M3 受体的激动活性存在较大差异,激动率最高的为 95.73% (样品 N3),激动率最低的为 57.44% (样品 N14)。

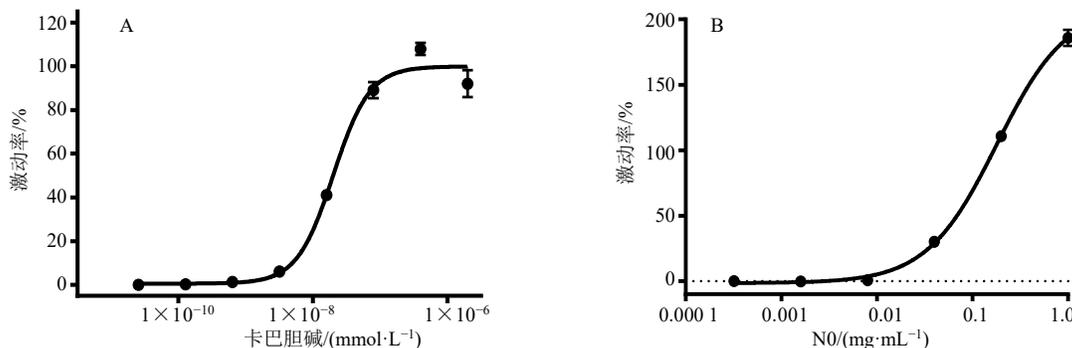


图 2 阳性激动剂卡巴胆碱 (A) 及 N0 样品 (B) 对 M3 激动作用的剂量曲线图 (n = 3)

Fig. 2 Dose curves of effect of positive agonist Carbachol (A) and N0 sample (B) on M3 receptor (n = 3)

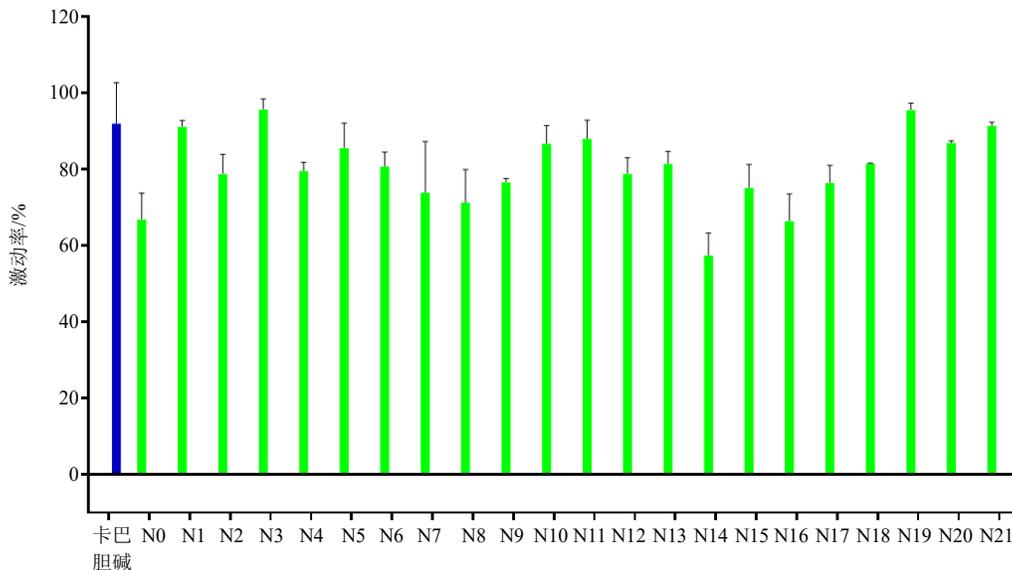


图 3 疏风解毒胶囊 22 个样品对 M3 受体的激动效应 (n = 2)

Fig. 3 Agonistic effects of 22 samples on M3 receptor (n = 2)

3.3 谱效分析结果

采用“2.4”项下方法,以 22 个样品的质谱峰面积数据为自变量矩阵 X (22×44),以对应的 M3 受体激动率数据为因变量矩阵 Y (22×1) 进行 GA-BP 分析,结果显示,排在前 16 的正相关色谱峰 MIV 值均大于 0.02,与 M3 受体的激动活性显著相关,可能为疏风解毒胶囊发挥疏风解表作用的潜在物质基础。16 个化合物对应的峰号是 27、3、43、

25、13、4、18、10、8、32、42、37、16、15、30、34。通过对照品指认、MS/MS 数据以及查阅文献,鉴定 16 个色谱峰分别为大黄素-1-O-葡萄糖苷、二氢败酱苷、大黄素、连翘苷、连翘酯苷 I、连翘酯苷 E、异毛蕊花糖苷、甘草苷、反式-虎杖苷、甘草素、柴胡皂苷 d、甘草酸、毛蕊花糖苷、松脂素-β-D-葡萄糖苷、大黄酸、7-甲氧基异鼠李素,具体信息见表 2。

表 2 潜在活性成分数据信息
Table 2 Detailed information of potential active ingredients

编号	峰号	t _R /min	[M-H] ⁻	[M+H] ⁺	MS/MS 特征碎片		化合物	分子式	MIV	来源
					ESI ⁻	ESI ⁺				
1	27	23.40	431.101 3	433.113 4		433, 271	大黄素-1-O-葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	0.055 7	H
2	3	5.28		363.140 5		385, 200	二氢败酱苷	C ₁₆ H ₂₆ O ₉	0.049 6	B
3	43 ^a	33.71	269.047 9	271.061 2	241, 225, 210		大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	0.048 8	H
4	25 ^a	22.20		557.154 9 [#]		557, 535, 355, 249	连翘苷	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₁	0.046 9	L
5	13	15.22	623.202 8	647.194 6 [#]		647, 479, 325, 163	连翘酯苷 I	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	0.043 3	L
6	4	5.60	461.169 9		315, 135		连翘酯苷 E	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₂	0.043 0	L
7	18	18.46	623.202 9		623, 461, 161	625, 477, 325	异毛蕊花糖苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	0.037 1	M
8	10	10.75	417.122 6	419.081 9	255, 135	257	甘草苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	0.034 2	G
9	8 ^a	9.99	389.127 2	413.120 5 [#]	227, 185	391, 229	反式-虎杖苷	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	0.029 0	H
10	32	26.71	255.068 7	257.080 3	255, 135	137	甘草素	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	0.028 7	G
11	42	32.80	779.477 7	781.341 7		765, 603, 457	柴胡皂苷 D	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	0.026 0	C
12	37	29.91	821.402 4	823.410 4		823, 647, 471	甘草酸	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	0.022 9	G
13	16 ^a	16.97	623.202 6	647.234 6 [#]	623, 461, 161	625, 477, 325	毛蕊花糖苷	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	0.022 6	L、M
14	15 ^a	16.81	519.191 3	543.183 8 [#]	357, 342		松脂素-β-D-葡萄糖苷	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	0.022 6	L
15	30 ^a	25.94	283.063 6	285.076 8	239, 211, 183		大黄酸	C ₁₅ H ₈ O ₆	0.022 4	H
16	34	27.68	329.236 1	353.230 6 [#]		353, 295	7-甲氧基异鼠李素	C ₁₇ H ₇ O ₁₄	0.021 5	C、BLG

^a与对照品比对确证, [#][M+Na]⁺, H-虎杖, M-马鞭草, L-连翘, C-柴胡, G-甘草, B-败酱草, BLG-板蓝根

^aconfirmation by comparison with reference substance, [#][M+Na]⁺, H-*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc., M-*Verbena officinalis* L., L-*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl, C-*Bulperum chinese* DC., G-*Glycyrrhiza uralensis* Fisch., B-*Patrinia scabiossefolia* Fisch., BLG-*Isatis indigotica* Fort.

4 讨论

疏风解毒胶囊是由 8 味药材组成的中药复方制剂, 诸药配伍能直达上焦肺卫、疏风解表、解毒散结。方中连翘能够疏散风热, 柴胡能够疏散退热, 为常用疏风解表药, 性味为苦兼辛。辛味药多归肺经, 偏行肌表, 具有外透之力, 通过促进机体发汗、开泄腠理来发散肌表六淫之邪^[14]。《灵枢·五味论》也有记载:“辛入而汗俱出”, 说明辛味发散表邪之性, 主要由发汗的方式完成^[14]。人体汗腺主要接受交感胆碱能纤维支配, 汗腺上的 M 受体作为神经递质乙酰胆碱作用的靶点, 对维持正常的汗液分泌起着重要的作用^[15]。其中 M3 型乙酰胆碱受体主要分布于小汗腺, 与发汗密切相关。因此本实验利用 M3 型乙酰胆碱受体高表达的中国仓鼠卵巢癌细胞为体外药效筛选模型, 通过以 Ca²⁺ 反应元件 (NFAT-RE) 为特异性启动子的萤火虫荧光素酶报告基因检测体系, 测试疏风解毒胶囊不同配比样品对 M3 受体的激动活性来作为其疏风解表的药效数据。

人工神经网络 (ANN) 是一种应用类似于大脑神经突触联接的结构进行信息处理的数学模型。BP

神经网络是一种按误差逆传播算法训练的多层前馈神经网络, 是目前应用最广泛的神经网络模型之一^[16]。人工神经网络是非线性、自适应信息处理系统, 能够很好地处理非线性、模糊的、随机的、低精度的及大通量的信息, 解决知识背景不清楚, 推理规则不明确等复杂类模式识别问题^[17]。其非线性拟合能力可以解决事物间的模糊性规律, 同时可以在不需要事先假定一个特定的数学模型情况下, 对复杂的系统信息进行处理, 从而简化建模过程^[18]。大量实验已证明人工神经网络作为一种重要的化学计量学方法, 适用于复杂的中药组效关系研究, 并且大部分模型预测精度优于统计分析模型^[19-22]。

本研究基于谱效关系, 利用 BP-神经网络的方法对疏风解毒胶囊疏风解表的药效物质基础进行了初步探讨, 对其质量标志物的发现以及质量标准化建立的建立具有一定的意义。但本实验中仅以质谱峰强度变化推断物质量的变化, 有可能得到假阳性结论, 今后还需借助其他检测手段来提高结论的准确度, 并且由数学模型计算出的药效物质仍需进一步的药效实验验证。另外, 本研究只探究了疏风解毒胶囊

疏风解表作用的谱效关系, 还可以进一步探讨其他如清热解毒等药效, 这样才能进一步丰富疏风解毒胶囊的谱效关系研究。

参考文献

- [1] 王书臣, 罗海丽. 疏风解毒胶囊治疗上呼吸道感染 480 例临床观察 [J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(12): 872-875.
- [2] 奚肇庆, 周建中, 梅建强, 等. 疏风解毒胶囊治疗病毒性上呼吸道感染发热患者 130 例临床观察 [J]. 中医杂志, 2010, 51(5): 426-427.
- [3] 叶祥庆, 曾德志, 罗世芳, 等. 疏风解毒胶囊治疗感冒风热证临床观察 [J]. 安徽医药, 2013, 17(4): 664-666.
- [4] 欧 强, 宁惠明. 疏风解毒胶囊在临床疾病治疗中的应用 [J]. 世界中医药, 2017, 12(10): 2539-2542.
- [5] 胡 蓉, 王丽华, 张珺珺, 等. 疏风解毒胶囊治疗急性咽喉风热证的临床观察 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(5): 460-462.
- [6] 李 文. 疏风解毒胶囊治疗小儿急性上呼吸道感染的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(9): 1140-1143.
- [7] 郭 倩. 疏风解毒胶囊质量标准研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2015.
- [8] Li Y, Chang N, Han Y, *et al.* Anti-inflammatory effects of Shufengjiedu Capsule for upper respiratory infection via the ERK pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 758-766.
- [9] Tao Z, Meng X, Han Y, *et al.* Therapeutic mechanistic studies of ShuFengJieDu Capsule in an acute lung injury animal model using quantitative proteomics technology [J]. *J Proteome Res*, 2017, 16(11): 4009-4019.
- [10] 郭 倩, 田成旺, 朱月信, 等. HPLC 法同时测定疏风解毒胶囊中 7 种活性成分 [J]. 中草药, 2015, 46(8): 1174-1177.
- [11] 曹 勇, 郭 倩, 田成旺, 等. 疏风解毒胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2034-2039.
- [12] 张铁军, 朱月信, 刘素香, 等. 疏风解毒胶囊的系统质量标准提升研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2027-2033.
- [13] 秦昆明, 郑礼娟, 沈保家, 等. 谱效关系在中药研究中的应用及相关思考 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 26-31.
- [14] 孙玉平, 张铁军, 曹 煌, 等. 中药辛味的药性表达及在临证配伍中的应用 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 785-790.
- [15] 刘国清, 王 涛, 余林中, 等. 麻黄汤的发汗作用与 M 受体的关系研究 [J]. 中国药房, 2006, 17(16): 1210-1211.
- [16] 朱尔一, 杨芑原. 化学计量学技术及应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [17] 韩胜男, 张晓杭, 周培培, 等. 化学计量学在中药组效关系研究中的应用进展 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14): 2595-2602.
- [18] 吕邵娃, 董书羽, 郭玉岩, 等. 数据分析技术在中药谱效关系中的应用进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(15): 226-230.
- [19] 赵筱萍, 范晓辉, 余 杰, 等. 一类基于组效关系神经网络模型的中药药效预测方法 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(11): 1082-1085.
- [20] Wang Y, Wang X, Cheng Y. A computational approach to botanical drug design by modeling quantitative composition-activity relationship [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2006, 68(3): 166-172.
- [21] Chen C, Li S X, Wang S M, *et al.* A support vector machine based pharmacodynamic prediction model for searching active fraction and ingredients of herbal medicine: Naodesheng prescription as an example [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 56(2): 443-447.
- [22] Han Y, Zhou M, Wang L, *et al.* Comparative evaluation of different cultivars of *Flos Chrysanthemi* by an anti-inflammatory-based NF- κ B reporter gene assay coupled to UPLC-Q/TOF MS with PCA and ANN [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 174: 387-395.