

## 基于“成分-靶点-代谢”预测分析黄芩酒炙前后质量标志物

胡恋琪<sup>1</sup>, 孙豪杰<sup>1</sup>, 熊 优<sup>1</sup>, 邱 婷<sup>1</sup>, 王雅琪<sup>1\*</sup>, 杨 明<sup>1,2</sup>

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

2. 成都中医药大学, 四川 成都 611137

**摘要:** 目的 基于“成分-靶点-代谢”关系筛选黄芩酒炙前后质量标志物(Q-marker)。方法 依据黄芩酒炙前后差异性化学成分, 结合网络药理学与代谢组学, 构建“差异成分-作用靶点-代谢组学”网络关系; 将黄芩中黄酮苷类成分与苷元成分、差异成分与内源性代谢物进行相关性分析。挖掘生黄芩和酒黄芩 Q-marker。结果 整合网络药理学与代谢组学结果, 预测分析得到黄芩苷、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷为生黄芩潜在 Q-marker; 黄芩素、汉黄芩素为酒黄芩潜在 Q-marker。结论 酒炙促进黄芩中苷元类活性成分的溶解和吸收是其炮制的重要机制。中药饮片炮制前后的差异鉴定、网络药理学及代谢组学的结合为发现和确认中药质量标志物提供思路和方法。

**关键词:** 黄芩; 酒炙; 质量标志物; 网络药理学; 黄芩苷; 千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷; 黄芩素; 汉黄芩素

**中图分类号:** R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)10-2618-09

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.10.004

## Prediction and analysis of quality markers between crude and wine-processed *Scutellaria baicalensis* based on “components-targets-metabolism” network analysis

HU Lian-qi<sup>1</sup>, SUN Hao-jie<sup>1</sup>, XIONG You<sup>1</sup>, QIU Ting<sup>1</sup>, WANG Ya-qi<sup>1</sup>, YANG Ming<sup>1,2</sup>

1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

**Abstract: Objective** To explore the potential Q-markers between crude *Scutellaria baicalensis* (CSR) and wine-processed *S. baicalensis* (WSR) based on “components-targets-metabolism” network analysis. **Methods** According to the differential components between CSR and WSR, the network relationship of “components-target-metabolomics” was constructed combining network pharmacology and metabolomics. The correlation analysis was then conducted between flavonoids glycosides, and aglycones in *S. baicalensis*, between differential components and endogenous metabolites to predict the potential quality markers. **Results** In this study, combining the results of network pharmacology and metabolomics, baicalin and oroxylin A-7-O-glucuronide were regarded as the quality markers of CSR; Baicalein and wogonin were considered as the quality markers of WSR. **Conclusion** It is crucial wine-processed mechanism of *S. baicalensis* that glutinous rice wine can promote the dissolution and absorption of aglycones. Overall, identification of the differences between Chinese herbal decoction pieces and its processed product, combining analysis of network pharmacology and metabolomics, which provides a demonstration for the investigation of quality markers of Chinese herbal pieces.

**Key words:** *Scutellaria baicalensis* Georgi; wine-processed; quality markers; network pharmacology; baicalin; oroxylin A-7-O-glucuronide; baicalein; wogonin

中药饮片是中药制药的原材料, 其质量好坏直接关系到中医临床用药的安全性和有效性<sup>[1]</sup>。而中药饮片经不同炮制工艺处理后, 其物质基础及临床药效均会发生改变<sup>[2]</sup>, 这也说明中药饮片质量标准

的制定需严谨全面。因此, 制定科学、合理、有效、安全的中药饮片质量标准, 是中医药产业快速稳定发展的重要前提<sup>[3]</sup>。质量标志物(Q-marker)是中药质量控制的新概念<sup>[4-5]</sup>, 中药饮片 Q-marker 的建

收稿日期: 2020-02-20

基金项目: 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-TJ-43)

作者简介: 胡恋琪, 硕士研究生, 研究方向为中药质量分析与控制。Tel: (0791)87118108 E-mail: hulianqi608@163.com

\*通信作者 王雅琪, 讲师。Tel: (0791)87118108 E-mail: wangyaqi\_3@163.com

立有利于中药饮片全程质量控制及溯源体系、有利于提高体现饮片专属性的质量标准<sup>[6]</sup>。

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根。具有泻火解毒、清热燥湿及止血安胎的作用。黄芩抗菌性强且服用后不易产生耐药性，被临床广泛应用于治疗上呼吸道感染、肺炎及肺热引起的咳嗽<sup>[7-8]</sup>。黄芩主要炮制加工方法为酒炙。《中国药典》2015 年版收载了生黄芩和酒黄芩<sup>[9]</sup>。中医认为“酒制则升”，黄芩酒炙后可引药上行，清上焦及头面部热邪，而生黄芩常用于治疗下焦大肠热证<sup>[10]</sup>。黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素是黄芩的主要活性成分。酒炙后，这些物质的含量发生改变<sup>[11]</sup>。然而药典仅规定黄芩、酒黄芩饮片黄芩苷含量不小于 8%，并没有对其他药效活性成分进行标准制定，难以全面反映其质量。因此，本研究提出基于“成分-靶点-代谢”策略，预测分析生黄芩、酒黄芩饮片 Q-marker，为中药饮片质量标准的研究提供思路 and 方向。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Triple TOF<sup>TM</sup>5600 型 LC-MS 质谱 [美国 AB SCIEX 公司，配备 DuoSpray<sup>TM</sup> 离子源，30A 型液相色谱系统 (LC-30AD 型输液泵、SIL-30AC 型自动进样器、CTO-30AC 型柱温箱、DGU-20A3 型真空脱气机、CBM-20A 型自动控制器)]; BSA124 型电子分析天平 (万分之一，德国 Sartorius 公司); SIGMA 2K15C 台式高速冷冻离心机 (德国 Sigma 公司)，KQ5200B 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 药材与试剂

黄芩饮片购自盛实百草药业有限公司，经江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室杨明教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根；酒黄芩饮片按照前期课题组优化的黄芩酒炙工艺制备。甲醇 (色谱级)、乙腈 (色谱级) 均购自 Tedia 公司；甲酸 (色谱级) 购自 Merck KGaA 公司；对照品黄芩苷 (批号 141120)、汉黄芩苷 (批号 150730)、黄芩素 (批号 140729)、汉黄芩素 (批号 151017) 均购自成都克洛玛生物科技有限公司，液相色谱法测定质量分数 >98%；水为屈臣氏专业蒸馏制法的饮用水；其他试剂为分析级。

### 1.3 动物

40 只健康 SD 大鼠，体质量 (200±20) g，雄

性，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，许可证号 SCXK (湘) 2016-0002，实验单位使用许可证编号 SYXK (赣) 2014-0008。动物置于自然节律光照环境下，室温 (25±2) °C，相对湿度 (50±10) %，大鼠适应环境 1 周后进行实验，期间自由饮水。

## 2 方法

### 2.1 酒黄芩及供试品溶液的制备

称取黄芩饮片适量，加入 20% 的黄酒，闷制 1 h，在 (130±10) °C 下，炒制 18 min，即得酒黄芩片<sup>[12]</sup>。

生黄芩、酒黄芩饮片打粉后过 65 目筛，精密称取 2 g，加 70% 乙醇水 50 mL，加热回流提取 3 h，放冷，滤过，滤液置 100 mL 量瓶中，加 70% 乙醇水至刻度，摇匀，并用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液，每批样品平行 3 次，稀释 40 倍后供 UPLC-Q-TOF-MS 分析用。

### 2.2 液质条件

色谱条件：Phenomenex Kinetex C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×3 mm，2.6 μm) 色谱柱；柱温 40 °C；流动相为甲酸水 (A) -乙腈 (B)，梯度洗脱：0~3 min，10%~25% B；3~10 min，25% B；10~15 min，25%~45% B；15~25 min，45%~95% B；25~27 min，95% B；27~27.5 min，95%~10% B。体积流量 0.3 mL/min；进样量 5 μL。

质谱条件：离子化模式为电喷雾正离子模式和负离子模式，离子源电压 5 500 V，离子源温度 500 °C，去簇电压 (DP) 100/-100 V，碰撞能量 (CE) 为 35/-35 eV，碰撞能量扩展 (CES) 为 10/10 eV。雾化气体为氮气，辅助气 1 为 344.8 kPa，辅助气 2 为 344.8 kPa，气帘气为 275.8 kPa。一级质谱母离子扫描范围为 *m/z* 50~1 500，IDA 设置响应值超过 10 cps 的峰优先进行二级质谱扫描，子离子扫描范围为 *m/z* 100~1 500，开启动态背景扣除 (DBS)。

### 2.3 成分及疾病靶点的获得

先通过 Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库查找黄芩酒炙前后差异成分的靶点和 Canonical SMILES 编号，然后将成分对应的 Canonical SMILES 编号输入 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 和 Stitch (<http://stitch.embl.de/>) 数据库中查询成分相关靶点；通过 Disgenet (<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home>)、DrugBank (<https://www.drugbank.ca/>)、OMIM (<http://www.omim.org/>) 和 TTD (<https://db.idrblab.org/ttd/>) 数据库查询肺炎相关靶点。

## 2.4 整合分析

确定差异成分相关靶点及肺炎相关靶点后, 进行交集处理, 筛查“成分-疾病”共同靶点。利用 R Studio 软件进行 GO 富集分析, 查找与课题组前期代谢组学研究结果一致的代谢通路<sup>[13]</sup>, 然后将通路所涉及的靶点与化合物“成分-疾病”靶点相结合, 筛选化合物中“成分-疾病”靶点占比 GO 富集分析通路对应靶点 $\geq 50\%$ 的成分作为生黄芩和酒黄芩的初级 Q-marker, 进一步进行相关性分析确定生黄芩和酒黄芩 Q-marker。

## 3 结果

### 3.1 基于化学成分角度潜在 Q-marker 的鉴定

黄芩酒炙前后差异性成分的分析思路见图 1。根据课题组前期研究结果<sup>[14]</sup>, 在生黄芩、酒黄芩中共鉴定 53 个化学成分, 其中 33 个黄酮苷元类成分,

17 个黄酮苷类成分, 3 个其他类成分。为比较生黄芩、酒黄芩之间的成分含量差异, 采用 MarkView 软件对 2 组数据进行  $t$  检验以及 Simca-P 软件进行主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA)。筛选满足  $P < 0.05$ 、重复变量的投影评分值 (VIP)  $> 1$  的变量, 最终确定 17 个具有显著性差异的化合物, 将这 17 个化合物作为黄芩酒炙前后的初步 Q-marker。

### 3.2 生黄芩、酒黄芩干预肺炎大鼠代谢组学研究

课题组前期采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术, 结合正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 等多元统计分析方法, 比较生黄芩、酒黄芩干预肺炎大鼠体内内源性代谢物的变化以及代谢通路的影响。研究思路见图 2。造模前后, 大鼠体内共有 16 种内源性物质发生显著改变。其中, 酒黄芩作用后, 色氨酸、9(S)-HPODE、视黄酸、 $\alpha$ -亚麻酸和孕烯醇酮代谢物

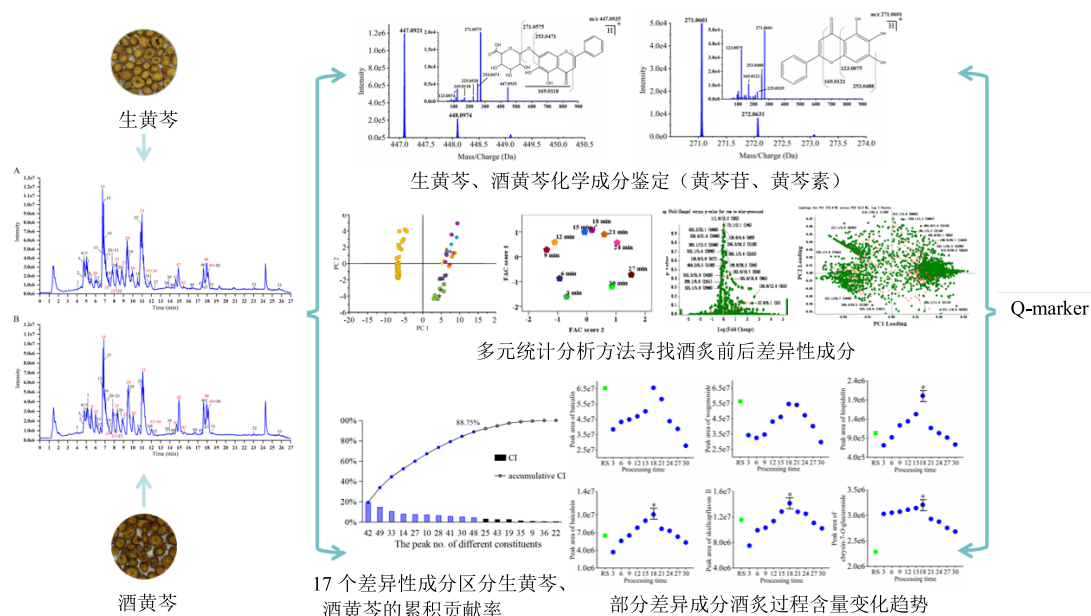


图 1 生黄芩、酒黄芩饮片 UPLC-Q-TOF-MS 差异成分分析

Fig. 1 Differential component analysis of crude and wine-processed *S. baicalensis* by UPLC-Q-TOF-MS

水平明显与空白组接近, 涉及视黄醇代谢和色氨酸代谢通路; 生黄芩作用后, 植物鞘氨醇、鞘氨醇、棕榈油酸以及 SM (d18: 1/22: 1 (13Z)) 代谢物的回调趋势优于酒黄芩, 涉及鞘脂类代谢通路。由这个结果可以看出, 生黄芩、酒黄芩干预肺炎大鼠可能通过调节体内不同的代谢途径, 从代谢组学的角度初步阐释黄芩酒炙作用增强的机制。

### 3.3 “差异成分-作用靶点-代谢组学”网络整合分析

3.3.1 “差异成分-作用靶点-肺炎疾病”网络的构建 通过 Pubchem、Stitch 和 Swiss Target Prediction

数据库查询“3.1”项中得到的 17 个差异性成分相关靶点, 其中有 1 个物质未找到相应靶点。查询其余物质共获得对应靶点蛋白 729 个。

以“pneumonia”为关键词, 在 Disgenet、DrugBank、OMIM 和 TTD 数据库查询物种为人类的肺炎相关靶点, 共获得 581 个靶点蛋白。将上述 729 个成分相关靶点与肺炎相关靶点交集分析后得到 127 个“成分-靶点-肺炎”靶点蛋白。并将其导入 Cytoscape 3.7.2 中构建黄芩酒炙前后差异成分-抗炎靶点网络。如图 3, 差异成分-抗炎靶点网络中

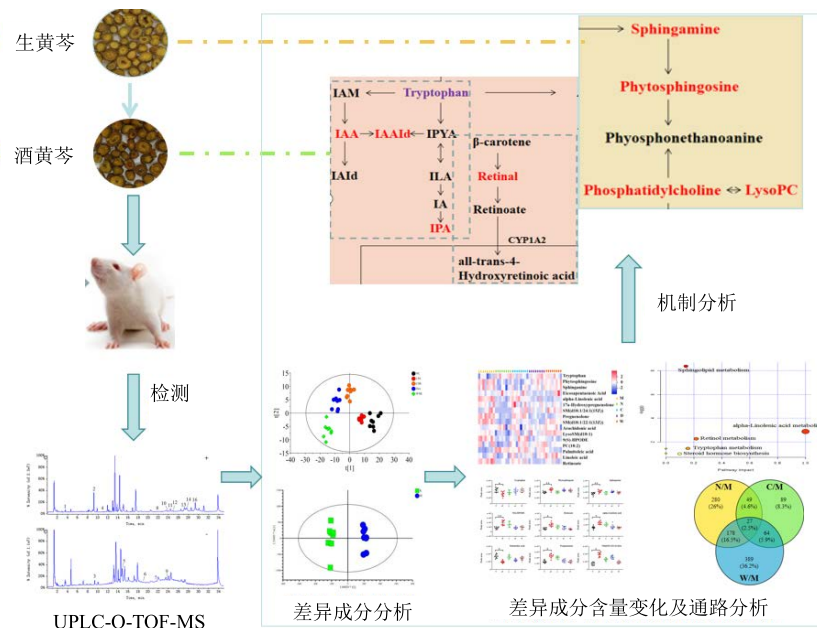


图2 生黄芩、酒黄芩在肺炎大鼠体内的血浆代谢组学研究

**Fig. 2** Metabolomics study of *Scutellariae Radix* and its wine-processed products in plasma of pneumonia rats

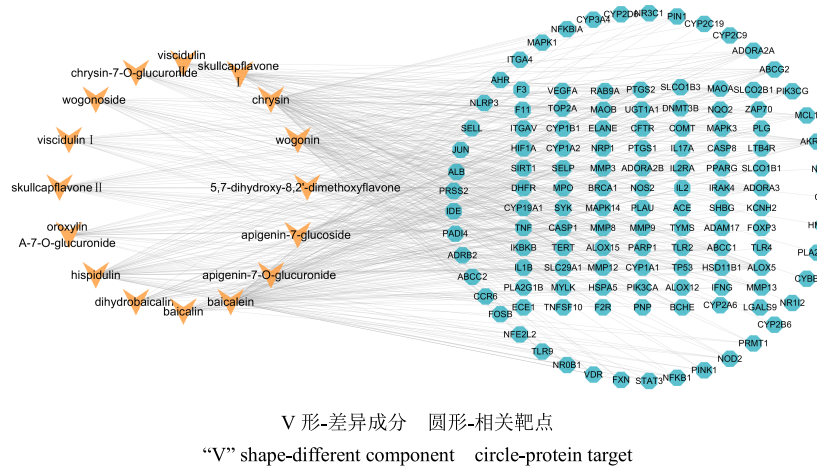


图3 黄芩酒炙前后差异成分-抗炎靶点网络

**Fig. 3** Different components between *Scutellariae Radix* and its wine-processed products-anti-inflammatory target network

共包括了 143 个节点 (16 个化合物节点和 127 个靶点节点), 528 条相互作用边构成成分-靶点网络, 平均度值为 7.385。

**3.3.2 GO 富集分析** 将差异成分-肺炎共同靶点应用 R Studio 软件进行 GO 富集分析,筛选出  $P < 0.001$  的生物过程 70 个。黄芩中成分干预肺炎靶点所涉及到的生物过程包括甾体类激素生物合成、辅助性 T 细胞 17 (Th17) 分化、白细胞介素-17 (IL-17) 信号通路、PD-L1 表达、肿瘤坏死因子信号通路、AGEs/RAGE/NF- $\kappa$ B 信号通路、Toll 样受体信号通路、NOD 样受体介导炎症信号通路、花生四烯酸代谢、亚油酸代谢、鞘脂类信号通路、视黄醇代谢、

色氨酸代谢、细胞色素 P450 药物代谢等 70 个生物过程,大多与炎症反应及免疫调节的作用有关。提示黄芩相关成分可能通过干预以上生物过程调控肺炎的发生和发展。另外,GO 富集的生物过程同样包括代谢组学研究结果中所涉及的 5 条与炎症相关的信号通路。代谢组学结果显示生黄芩干预肺炎过程主要与鞘脂类代谢通路相关,酒黄芩干预肺炎过程主要与视黄醇代谢通路和色氨酸代谢通路相关,所以筛选生黄芩、酒黄芩质量标志物主要通过分析这 3 条通路所涉及的靶点。结果发现色氨酸代谢通路相关靶点有 CYP1B1、CYP1A1、CYP1A2、MAOA 和 MAOB;视黄醇代谢通路相关靶点有 CYP1A1、



CYP1A2、UGT1A1、CYP2C9 和 CYP3A4；鞘脂类代谢通路相关靶点有 NOS3、ADORA3、TNF、MAPK14、ABCC1、PIK3CA、TP53、MAPK1、NFKB1 和 MAPK3。

**3.3.3 蛋白互作网络分析** 将“3.3.2”项所得与色氨酸代谢通路、视黄醇代谢通路和鞘脂类代谢通路的相关靶点名称输入到 String 数据库中，进行蛋白相互作用 (PPI) 网络分析，构建网络图。由图 4 可知，鞘脂类代谢通路靶蛋白 PPI 网络中 TP53、MAPK1 和其他蛋白的互相关联程度较高。色氨酸代谢通路、视黄醇代谢通路靶蛋白 PPI 网络中 CYP2C9、CYP3A4、CYP1A1、CYP1A2 和其他蛋白的互相关联程度较高。

**3.3.4 基于“成分-靶点-代谢”预测质量标志物** 将 3 条代谢通路、黄芩酒炙前后差异成分以及“成分-肺炎”相关靶点相关联，见表 1。“通路-肺炎-成分”靶点数占“3.3.2”项中得到的每条通路总靶点数大于 50% 的成分视为质量标志物。初步确定千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、芹菜素-7-葡萄糖

苷、黄芩素、高车前素、白杨素为生黄芩的潜在质量标志物；高车前素、白杨素、黄芩素、5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮、黄芩黄酮 I、粘毛黄芩素 II、汉黄芩素为酒黄芩的潜在质量标志物，从这个结果可以看出生黄芩质量标志物大多为黄酮苷类成分，酒黄芩质量标志物主要为苷元类物质，说明黄芩酒炙前后有必要对不同类型成分质量分别进行控制。将化学成分、相关靶点和通路上传到 Cytoscape 3.7.2 软件建立网络关系图 (图 5)。

### 3.4 相关性分析

**3.4.1 生黄芩、酒黄芩黄酮苷类成分峰面积比例特征** 由上述结果可知，生黄芩的潜在质量标志物大都为苷类成分，而酒黄芩的潜在质量标志物为苷元类成分。参考文献报道<sup>[15]</sup>，以黄酮苷元和其苷成分 [黄芩素与黄芩苷 (R1)、汉黄芩素与汉黄芩苷 (R2)、千层纸素 A 与千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷 (R3)、芹菜素与芹菜素-7-葡萄糖苷 (R4)、高车前素与高车前素-7-O-葡萄糖醛酸苷 (R5)、白杨素与白杨素-7-O-葡萄糖醛酸苷 (R6)、5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮与 5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷 (R7)] 的峰面积比为指标值，观察酒炙前后，黄芩中苷及苷元的整体变化。结果见图 6，炮制后，所有成分指标值均有一定程度的升高，说明在这个过程中，黄酮苷类物质与苷元发生转化，与相关文献报道结果一致<sup>[16-17]</sup>。

**3.4.2 黄芩中黄酮苷类成分与苷元成分间的相关性分析** 酒炙过程黄芩中相关成分发生转化，进一步将上述黄酮苷类物质与苷元物质峰面积数据相关性进行分析。由表 2 可知，黄芩素与黄芩苷、芹菜素与芹菜素-7-葡萄糖苷呈负相关；汉黄芩素与汉黄芩苷、千层纸素 A 与千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷、高车前素与高车前素-7-O-葡萄糖醛酸苷、5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮与 5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷呈正相关；白杨素与白杨素-7-O-葡萄糖醛酸苷无相关性。

**3.4.3 化学成分与内源性代谢物的相关性分析** 通过代谢组学研究结果得知，黄芩在干预肺炎的发生、发展过程中，色氨酸、视黄酸、植物鞘氨醇这 3 个内源性代谢物发挥重要作用。将这 3 种代谢物的数据与质量标志物峰面积数据进行相关性分析，相关系数如表 3 所示。从表 3 可以看出，黄芩苷、芹菜素-7-葡萄糖苷、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷、高车前素与植物鞘氨醇有显著的负相关，黄芩素、汉

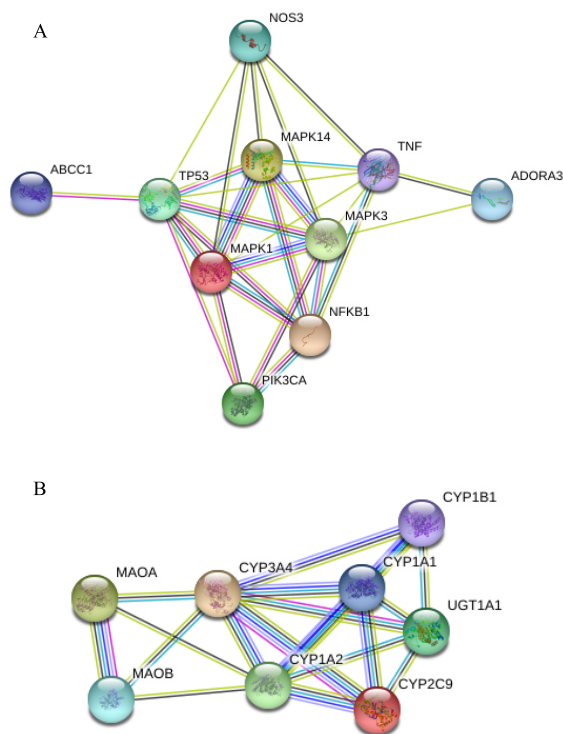


图 4 鞘脂类代谢通路 (A) 及色氨酸代谢通路和视黄醇代谢通路 (B) 涉及的靶蛋白 PPI 网络

Fig. 4 PPI network of target proteins related to sphingolipid metabolism pathway (A) and tryptophan metabolic pathway and retinol metabolism pathway (B)

表 1 网络药理学整合代谢组学“通路-靶点-成分”

Table 1 Network pharmacology integrated metabolomics “pathway-target-component”

| 通路    | 成分                  | “通路-肺炎-成分”靶点                                                    | 个数 | 占总靶点数的比例/% |
|-------|---------------------|-----------------------------------------------------------------|----|------------|
| 鞘酯类代谢 | 黄芩素                 | ADORA3、ABCC1、TP53 <sup>a</sup> 、MAPK1 <sup>a</sup> 、NFKB1、MAPK3 | 6  | 60.00      |
|       | 千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷   | ADORA3、TNF、MAPK14、TP53 <sup>a</sup> 、NFKB1、PIK3CA               | 6  | 60.00      |
|       | 汉黄芩苷                | TNF、MAPK14、PIK3CA、TP53 <sup>a</sup> 、NFKB1                      | 5  | 50.00      |
|       | 芹菜素-7-葡萄糖苷          | TNF、MAPK14、ABCC1、PIK3CA、ABCC1                                   | 5  | 50.00      |
|       | 高车前素                | ADORA3、ABCC1、TP53、MAPK1 <sup>a</sup> 、NFKB1                     | 5  | 50.00      |
|       | 白杨素                 | ADORA3、ABCC1、TP53、MAPK1 <sup>a</sup> 、NFKB1                     | 5  | 50.00      |
|       | 白杨素-7-O-葡萄糖醛酸苷      | TNF、MAPK14、PIK3CA                                               | 3  | 30.00      |
|       | 芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷      | TNF、MAPK14、ABCC1                                                | 3  | 30.00      |
|       | 二氢黄芩素-7-O-葡萄糖醛酸苷    | ABCC1、PIK3CA、ADORA3                                             | 3  | 30.00      |
|       | 汉黄芩苷                | ADORA3、ABCC1、TP53                                               | 3  | 30.00      |
|       | 黄芩苷                 | TNF、MAPK14、PIK3CA                                               | 3  | 30.00      |
|       | 5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮 | NOS3、ADORA3                                                     | 2  | 20.00      |
|       | 黄芩黄酮 II             | ADORA3、ABCC1                                                    | 2  | 20.00      |
|       | 粘毛黄芩素 I             | ADORA3、ABCC1                                                    | 2  | 20.00      |
|       | 黄芩黄酮 I              | ADORA3                                                          | 1  | 10.00      |
|       | 粘毛黄芩素 II            | ABCC1                                                           | 1  | 10.00      |
| 视黄醇代谢 | 白杨素                 | CYP1A1、CYP1A2、UGT1A1、CYP2C9、CYP3A4、CYP2A6、CYP2B6                | 7  | 100.00     |
|       | 黄芩素                 | CYP1A1、CYP1A2、UGT1A1、CYP2C9 <sup>a</sup> 、CYP3A4 <sup>a</sup>   | 5  | 71.43      |
|       | 粘毛黄芩素 II            | CYP1A1、CYP1A2                                                   | 2  | 28.57      |
|       | 5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮 | CYP1A1、CYP1A2                                                   | 2  | 28.57      |
|       | 高车前素                | CYP1A1、CYP1A2                                                   | 2  | 28.57      |
|       | 汉黄芩素                | CYP1A1、CYP1A2                                                   | 2  | 28.57      |
|       | 黄芩黄酮 II             | CYP2C9                                                          | 1  | 14.29      |
| 色氨酸代谢 | 高车前素                | CYP1B1、CYP1A1 <sup>a</sup> 、CYP1A2 <sup>a</sup> 、MAOA、MAOB      | 5  | 100.00     |
|       | 白杨素                 | CYP1B1、CYP1A1 <sup>a</sup> 、CYP1A2 <sup>a</sup> 、MAOA、MAOB      | 5  | 100.00     |
|       | 黄芩素                 | CYP1B1、CYP1A1 <sup>a</sup> 、CYP1A2 <sup>a</sup> 、MAOA           | 4  | 80.00      |
|       | 5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮 | CYP1B1、CYP1A1 <sup>a</sup> 、CYP1A2 <sup>a</sup>                 | 3  | 60.00      |
|       | 黄芩黄酮 I              | CYP1B1、MAOA、MAOB                                                | 3  | 60.00      |
|       | 粘毛黄芩素 II            | CYP1B1、CYP1A1 <sup>a</sup> 、CYP1A2 <sup>a</sup>                 | 3  | 60.00      |
|       | 汉黄芩素                | CYP1B1、CYP1A1 <sup>a</sup> 、CYP1A2 <sup>a</sup>                 | 3  | 60.00      |
|       | 芹菜素-7-葡萄糖苷          | CYP1B1、MAOA                                                     | 2  | 40.00      |
|       | 二氢黄芩素-7-O-葡萄糖醛酸苷    | CYP1B1、MAOB                                                     | 2  | 40.00      |
|       | 黄芩黄酮 II             | CYP1B1、MAOA                                                     | 2  | 40.00      |
|       | 粘毛黄芩素 I             | CYP1B1、MAOA                                                     | 2  | 40.00      |
|       | 芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷      | CYP1B1                                                          | 1  | 20.00      |

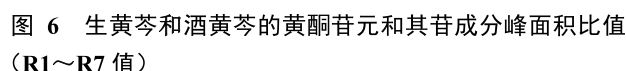
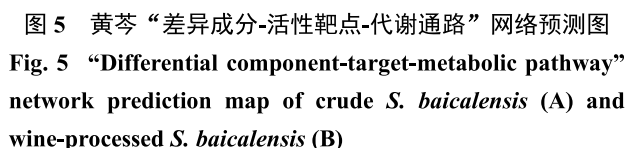
<sup>a</sup> 靶蛋白 PPI 网络中和其他蛋白的互相关联程度较高的蛋白<sup>a</sup> The protein with a high degree of correlation with other proteins in the PPI network

黄芩素与色氨酸、视黄酸有显著的正相关。说明化学成分与内源性代谢物之间有密切的关系。综合上述所有分析结果,考虑到芹菜素-7-葡萄糖苷、高车前素在黄芩中含量较低,最终预测黄芩苷和千层纸

素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷为生黄芩质量标志物,黄芩素和汉黄芩素为酒黄芩质量标志物。

#### 4 讨论

本研究对黄芩的物质基础做了详尽的研究,分



**Fig. 6** Value of R1—R7 in crude and wine-processed *S. baicalensis*

别从化学成分、代谢组学的角度探讨黄芩炮制作用机制,并结合网络药理学,将3者串联综合考虑并进行相关性分析。化学成分研究结果发现黄芩酒炙后部分苷类成分含量下降,而苷元类成分含量普遍升高,这个现象产生的原因可能与黄芩高温酒炙过程中某些成分糖苷键的断裂有关<sup>[18]</sup>。另外,苷元类成分含量的升高也可能与黄芩药材本身的材料结构

表2 黄芩中黄酮苷类成分与苷元类成分相关性分析

**Table 2** Correlation analysis of flavonoid glycosides and flavonoid aglycones components of *S. baicalensis*

| 相关性 | A        | B        | C        | D        | E        | F        | G        | H        | I        | J        | K       | L        | M       | N        |
|-----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|----------|---------|----------|
| A   | 1.000    | -0.664** | 0.605**  | 0.849**  | 0.605**  | 0.883**  | -0.798** | 0.858**  | 0.792**  | 0.832**  | 0.390** | -0.299*  | 0.414** | 0.834**  |
| B   | -0.664** | 1.000    | -0.082   | -0.529** | -0.082   | -0.587** | 0.723**  | -0.602** | -0.333*  | -0.470** | 0.098   | 0.621**  | -0.158  | -0.494*  |
| C   | 0.605**  | -0.082   | 1.000    | 0.512**  | 1.000**  | 0.527**  | -0.355** | 0.497**  | 0.626**  | 0.515**  | 0.871** | 0.096    | 0.479** | 0.507**  |
| D   | 0.849**  | -0.529** | 0.512**  | 1.000    | 0.512**  | 0.989**  | -0.892** | 0.984**  | 0.875**  | 0.978**  | 0.397** | -0.441** | 0.470** | 0.982**  |
| E   | 0.605**  | -0.082   | 1.000**  | 0.512**  | 1.000    | 0.527**  | -0.355** | 0.497**  | 0.626**  | 0.515**  | 0.871** | 0.096    | 0.479** | 0.507**  |
| F   | 0.883**  | -0.587** | 0.527**  | 0.989**  | 0.527**  | 1.000    | -0.917** | 0.991**  | 0.865**  | 0.964**  | 0.390** | -0.473** | 0.450** | 0.968**  |
| G   | -0.798** | 0.723**  | -0.355** | -0.892** | -0.355** | -0.917** | 1.000    | -0.925** | -0.692** | -0.836** | -0.200  | 0.627**  | -0.283* | -0.850** |
| H   | 0.858**  | -0.602** | 0.497**  | 0.984**  | 0.497**  | 0.991**  | -0.925** | 1.000    | 0.834**  | 0.951**  | 0.362** | -0.489** | 0.439** | 0.957**  |
| I   | 0.792**  | -0.333*  | 0.626**  | 0.875**  | 0.626**  | 0.865**  | -0.692** | 0.834**  | 1.000    | 0.933**  | 0.552** | -0.201   | 0.611** | 0.929**  |
| J   | 0.832**  | -0.470** | 0.515**  | 0.978**  | 0.515**  | 0.964**  | -0.836** | 0.951**  | 0.933**  | 1.000    | 0.408** | -0.377** | 0.546** | 0.994**  |
| K   | 0.390**  | 0.098    | 0.871**  | 0.397**  | 0.871**  | 0.390**  | -0.200   | 0.362**  | 0.552**  | 0.408**  | 1.000   | 0.186    | 0.528** | 0.416**  |
| L   | -0.299*  | 0.621**  | 0.096    | -0.441** | 0.096    | -0.473** | 0.627**  | -0.489** | -0.201   | -0.377** | 0.186   | 1.000    | 0.019   | -0.401** |
| M   | 0.414**  | -0.158   | 0.479**  | 0.470**  | 0.479**  | 0.450**  | -0.283*  | 0.439**  | 0.611**  | 0.546**  | 0.528** | 0.019    | 1.000   | 0.550**  |
| N   | 0.834**  | -0.494** | 0.507**  | 0.982**  | 0.507**  | 0.968**  | -0.850** | 0.957**  | 0.929**  | 0.994**  | 0.416** | -0.401** | 0.550** | 1.000    |

A-黄芩苷 B-黄芩素 C-汉黄芩苷 D-汉黄芩素 E-千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷 F-千层纸素 A G-芹菜素-7-葡萄糖苷 H-芹菜素 I-高车前素-7-O-葡萄糖醛酸苷 J-高车前素 K-白杨素-7-O-葡萄糖醛酸 L-白杨素 M-5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸 N-5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮

A-baicalin B-baicalein C-wogonoside D-wogonin E-oroxylin A-7-*O*-glucuronide F-oroxylin A G-apigenin-7-glucoside H-apigenin  
I-hispidulin-7-*O*-glucuronide J-hispidulin K-chrysin-7-*O*-glucuronide L-chrysin M-5,7-dihydroxy-8,2'-dimethoxyflavone-7-*O*-glucuronide  
N-5,7-dihydroxy-8,2'-dimethoxyflavone

表 3 差异成分与内源性代谢物之间的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of differential components and endogenous metabolites

| 相关性 | 1       | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       | 7       | 8       | 9       | 10      | 11      | A      | B       | C       |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|
| 1   | 1.000   | 0.637*  | 0.875** | 0.915** | 0.848** | 0.738** | 0.159   | 0.487   | 0.303   | 0.022   | 0.275   | -0.124 | -0.714* | 0.283   |
| 2   | 0.637*  | 1.000   | 0.695*  | 0.519   | 0.637*  | 0.767** | 0.648*  | 0.606*  | 0.290   | 0.490   | 0.531   | 0.194  | -0.685* | 0.655*  |
| 3   | 0.875** | 0.695*  | 1.000   | 0.947** | 0.989** | 0.951** | 0.403   | 0.818** | 0.486   | 0.395   | 0.266   | -0.113 | -0.621* | 0.385   |
| 4   | 0.915** | 0.519   | 0.947** | 1.000   | 0.956** | 0.840** | 0.147   | 0.655*  | 0.393   | 0.131   | 0.159   | -0.268 | -0.602  | 0.239   |
| 5   | 0.848** | 0.637*  | 0.989** | 0.956** | 1.000   | 0.951** | 0.377   | 0.813** | 0.554   | 0.354   | 0.299   | -0.122 | -0.560  | 0.412   |
| 6   | 0.738** | 0.767** | 0.951** | 0.840** | 0.951** | 1.000   | 0.573   | 0.875** | 0.613*  | 0.550   | 0.431   | 0.020  | -0.621* | 0.534   |
| 7   | 0.159   | 0.648*  | 0.403   | 0.147   | 0.377   | 0.573   | 1.000   | 0.733*  | 0.593   | 0.877** | 0.662*  | 0.632* | -0.292  | 0.724*  |
| 8   | 0.487   | 0.606*  | 0.818** | 0.655*  | 0.813** | 0.875** | 0.733*  | 1.000   | 0.555   | 0.810** | 0.282   | 0.125  | -0.354  | 0.496   |
| 9   | 0.303   | 0.290   | 0.486   | 0.393   | 0.554   | 0.613*  | 0.593   | 0.555   | 1.000   | 0.391   | 0.764** | 0.457  | -0.189  | 0.593   |
| 10  | 0.022   | 0.490   | 0.395   | 0.131   | 0.354   | 0.550   | 0.877** | 0.810** | 0.391   | 1.000   | 0.268   | 0.392  | -0.208  | 0.430   |
| 11  | 0.275   | 0.531   | 0.266   | 0.159   | 0.299   | 0.431   | 0.662*  | 0.282   | 0.764** | 0.268   | 1.000   | 0.654* | -0.364  | 0.800** |
| A   | -0.124  | 0.194   | -0.113  | -0.268  | -0.122  | 0.020   | 0.632*  | 0.125   | 0.457   | 0.392   | 0.654*  | 1.000  | 0.042   | 0.664*  |
| B   | -0.714* | -0.685* | -0.621* | -0.602  | -0.560  | -0.621* | -0.292  | -0.354  | -0.189  | -0.208  | -0.364  | 0.042  | 1.000   | -0.173  |
| C   | 0.283   | 0.655*  | 0.385   | 0.239   | 0.412   | 0.534   | 0.724*  | 0.496   | 0.593   | 0.430   | 0.800** | 0.664* | -0.173  | 1.000   |

1-黄芩苷 2-芹菜素-7-葡萄糖苷 3-千层纸素A-7-O-葡萄糖醛酸苷 4-汉黄芩苷 5-5,7-二羟基-8,2'-二甲氧基黄酮 6-高车前素 7-黄芩素  
8-粘毛黄芩素II 9-白杨素 10-黄芩黄酮I 11-汉黄芩素 A-色氨酸 B-植物鞘氨醇 C-视黄酸  
1-baicalin 2-apigenin-7-glucoside 3-oroxylin A-7-O-glucuronide 4-wogonoside 5-5,7-dihydroxy-8,2'-dimethoxyflavone 6-hispidulin  
7-baiclein 8-viscidulin II 9-chrysin 10-skullcapflavon I 11-wogonin A-tryptophan B-phytosphingosine C-retinoate

有关<sup>[9]</sup>, 研究表明黄芩是一种多孔材料<sup>[19]</sup>, 经过黄酒热处理后, 致药材组织密度疏松, 总表面积增加<sup>[20]</sup>, 使得溶剂能够渗透疏松组织, 改变黄芩内部结构, 增加物质的溶解。综合分析后, 预测黄芩苷和千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷为生黄芩的潜在质量标志物; 黄芩素和汉黄芩素为酒黄芩的潜在质量标志物。药典规定黄芩苷的含量作为生黄芩和酒黄芩饮片的质量标准, 测定指标较为单一, 也缺乏对其他与药效关联较强的成分作质控说明。笔者认为有必要在控制黄芩苷含量的基础上进一步规范和完善酒黄芩饮片的苷元类成分质量标准。

#### 参考文献

- [1] 邓海英, 龚勇祥, 李连凤, 等. 中药饮片微生物污染现状及典型菌鉴定研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(9): 2242-2250.
- [2] Zhao J P, Wang M, Avula B, et al. Effect of processing on the traditional Chinese herbal medicine *Flos Lonicerae*: An NMR-based chemometric approach [J]. *Planta Med*, 2015, 81(9): 754-764.
- [3] 张铁军, 白 钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法 [J]. 药学报, 2019, 54(2): 16-26.
- [4] 苏联麟, 李 昱, 徐 祯, 等. 基于多元统计分析和网络药理学的五味子醋制前后质量标志物预测分析 [J].

中草药, 2019, 50(19): 4643-4653.

- [5] Wang Y L, Cui T, Li Y Z, et al. Prediction of quality markers of traditional Chinese medicines based on network pharmacology [J]. *Chin Heb Med*, 2019, 11(4): 349-356.
- [6] 郝 敏, 童黄锦, 张 季, 等. 中药饮片质量标志物 (Q-marker) 研究: 莪术饮片质量评价研究及质量标准探讨 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4673-4682.
- [7] Li C, Lin G, Zuo Z, et al. Pharmacological effects and pharmacokinetics properties of *Radix Scutellariae* and its bioactive flavones [J]. *Biopharm Drug Disposit*, 2011, 32(8): 427-445.
- [8] 李津津. 中药黄芩药理作用的研究进展 [J]. 内蒙古中医药, 2018, 37(10): 117-118.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [10] Cui C L, He X, Dong C L, et al. The enhancement mechanism of wine-processed *Radix Scutellaria* on NTG-induced migraine rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 138-146.
- [11] Wang F, Wang B, Wang L, et al. Discovery of discriminatory quality control markers for Chinese herbal medicines and related processed products by combination of chromatographic analysis and chemometrics methods: *Radix Scutellariae* as a case study [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 138: 70-79.

- [12] 熊 优, 王雅琪, 焦姣姣, 等. 黄芩酒炙过程中化学成分含量变化及其与药效的相关性分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(16): 1-6.
- [13] Hu L Q, Wang Y Q, Sun H J, *et al.* An untargeted metabolomics approach to investigate the wine-processed mechanism of *Scutellariae radix* in acute lung injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, doi: 10.1016/j.jep.2020.112665.
- [14] Hu L Q, Xiong Y, Zou Z R, *et al.* Identifying the chemical markers in raw and wine-processed *Scutellaria baicalensis* by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled with multiple statistical strategies [J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, doi: 10.1002/bmc.4849.
- [15] 王 丹, 蒋亚杰, 梁 艳, 等. 黄芩不同规格与化学成分及内在质量相关性的研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(4): 426-432.
- [16] Zhu T T, Liu X, Wang X L, *et al.* Profiling and analysis of multiple compounds in rhubarb decoction after processing by wine steaming using UHPLC-Q-TOF-MS coupled with multiple statistical strategies [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(15): 3081-3090.
- [17] Sun S, Qi L W, Du G J, *et al.* Red notoginseng: Higher ginsenoside content and stronger anticancer potential than Asian and American ginseng [J]. *Food Chem*, 2011, 125(4): 1299-1305.
- [18] 宋 健, 张小伟, 郑 莉, 等. HPLC 测定黄芩生品及不同炮制品中三种黄酮类成分的含量 [J]. 中药材, 2009, 32(10): 1522-1524.
- [19] Simeonov E, Tsibranska I, Minchev A, Solid-liquid extraction from plants-experimental kinetics and modelling [J]. *Chem Eng J*, 1999, 73(3): 255-259.
- [20] Zhang W J, Dong C L, Wang J Y, *et al.* Thermal effects on the dissolution enhancement of *Radix scutellariae* by wine-processing [J]. *Appl Therm Eng*, 2016, 103: 522-527.