

基于指纹图谱及网络药理学的白芍质量标志物 (Q-marker) 预测分析

梅茜, 夏金鑫, 郭爽, 沈钱能, 蒋利华, 严国俊, 赵晓莉, 陆兔林*, 毛春芹*

南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

摘要:目的 基于指纹图谱和网络药理学方法, 分析预测当归四逆汤中单味药白芍潜在的质量标志物(Q-marker)。方法 建立白芍水煎液和当归四逆汤指纹图谱, 明确成分传递规律; 进一步通过网络药理学方法, 构建“成分-靶点-通路”网络, 预测白芍的 Q-marker。结果 建立了 15 批白芍水煎液和 15 批当归四逆汤指纹图谱, 并各指认其中 5 个色谱峰, 分别为没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷; 经网络药理学分析, 筛选出潜在的 2 个活性成分、8 个核心靶点、13 条关键通路, 表明白芍主要通过这些成分、靶点、通路发挥作用, 初步预测芍药苷、芍药内酯苷为白芍潜在的 Q-marker。结论 研究分析预测的 Q-marker, 为白芍质量的全面控制提供参考, 同时也为白芍功效关联物质的研究及作用机制的阐释奠定基础。

关键词: 白芍; 质量标志物; 当归四逆汤; 指纹图谱; 网络药理学; 芍药苷; 芍药内酯苷

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)10-2627-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.10.005

Q-marker prediction analysis of *Paeoniae Radix Alba* based on fingerprint and network pharmacology

MEI Xi, XIA Jin-xin, GUO Shuang, SHEN Qian-neng, JIANG Li-hua, YAN Guo-jun, ZHAO Xiao-li, LU Tu-lin, MAO Chun-qin

College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To explore the potential Q-marker of *Paeoniae Radix Alba* in Danggui Sini Decoction based on fingerprint and network pharmacology. **Methods** The fingerprints of *Paeoniae Radix Alba* decoction and Danggui Sini Decoction were established, and the law of components transfer was also defined. The “compounds-targets-pathways” network was then established to predict the potential Q-marker of *Paeoniae Radix Alba* through the network pharmacology. **Results** The fingerprints of 15 batches of *Paeoniae Radix Alba* decoction and 15 batches of Danggui Sini Decoction were established, and the five chromatographic peaks were identified, they were gallic acid, albiflorin, paeoniflorin, 1,2,3,4,6-O-pentagalloylglucose, and benzoyl paeoniflorin. Through the network pharmacology analysis, the potential two active components, eight core targets and 13 key pathways were screened out, which indicated that paeoniflorin and albiflorin were preliminarily predicted to the potential Q-marker of *Paeoniae Radix Alba*. **Conclusion** The analysis and prediction of the Q-marker in this study can provide a reference for the whole control of the *Paeoniae Radix Alba* quality, which can also provide the basis for the further research on the efficacy-related substance and mechanism of *Paeoniae Radix Alba*.

Key words: *Paeoniae Radix Alba*; quality marker; Danggui Sini Decoction; fingerprint; network pharmacology; paeoniflorin; albiflorin

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 具有养血调经、敛阴止汗、柔肝止痛、平抑肝阳的功效^[1]; 现代临床用于痛经、帕金森疾病、慢性萎缩性胃炎、类风湿性关节炎^[2-4]等疾病的

治疗。当归四逆汤 (Danggui Sini Decoction, DSD) 出自于东汉张仲景所著的《伤寒论》, 原方由当归、桂枝、白芍、细辛、木通、甘草、大枣 7 味药组成, 主治血虚寒厥证, 具有温运血行、散寒通脉的功效^[5]。

收稿日期: 2020-02-15

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1707000); 南京市栖霞区科技计划项目 (高校院所产学研合作类, GC201802)

作者简介: 梅茜 (1995—), 女, 在读硕士, 主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。Tel: 17805936854 E-mail: 3544651869@qq.com

*通信作者 陆兔林, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。Tel: (025)85811835 E-mail: lutuling2005@126.com

毛春芹, 女, 正高级实验师, 主要从事中药新药研发及中药质量标准研究。E-mail: mcq63@163.com

现代临床在原方基础上, 加减药味或联合其他化学药用于治疗糖尿病周围神经病变、类风湿性关节炎、子宫内膜异位症^[6-9]等疾病。白芍为 DSD 中的臣药, 在方中养血和营, 助当归补益营血, 是方中的重要组成部分^[10]。

中药质量标志物 (Q-marker) 是近年来提出的中药质量评价与质量控制的核心概念, 其基于有效、特有、传递与溯源、可测和处方配伍的“五原则”^[11-12], 目前已用于药材、饮片、复方 Q-marker 的研究。Q-marker 概念的提出, 为中药的质量控制研究指明了方向, 为后续研究中药发挥作用的机制奠定了基础。中药指纹图谱具有整体性和模糊性的特点, 能反映中药及制剂内在质量的稳定性和均一性^[13-14]。网络药理学是建立在系统生物学和网络生物学基础上的研究方法, 能够推动对药物作用机制的认识, 加速药物靶点的确认以及发现生物标志物^[15-16]。本研究选取经典名方 DSD 中单味药白芍为研究对象, 从 Q-marker 的“五原则”出发, 结合指纹图谱及网络药理学方法, 从化学和生物信息角度预测分析白芍潜在的 Q-marker, 为白芍的质量控制及后续开发研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪, 包括四元泵、柱温箱、自动进样器、PDA 检测器和 Empower 工作站 (美国 Waters 公司); MS-105DU 电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); KQ-500B 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); H1650-W 台式高速离心机 (湖南湘仪实验室仪器有限公司); TD5001C 电子天平 (天津天马衡基仪器有限公司)。

1.2 试药

芍药内酯苷 (批号 4644)、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖 (批号 3367)、苯甲酰芍药苷 (批号 4633) 均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司; 没食子酸 (批号 110831-200302)、芍药苷 (批号 110736-201842) 购自中国食品药品检定研究院; 乙腈 (色谱纯, 德国 Merck 公司); 纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司); 其他试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司)。白芍饮片 (编号 B1~B15, 产地安徽亳州)、当归饮片 (产地甘肃岷县)、桂枝饮片 (产地广西东兴)、细辛饮片 (产地辽宁新宾)、木通饮片 (产地河南洛阳)、甘草饮片 (产地甘肃陇西)、大枣饮片 (产地山西闻喜)。经南京中医药大学药

院陈建伟教授鉴定分别为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根、樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl. 的干燥嫩枝、马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. 的干燥根和根茎、木通科植物三叶木通 *Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz. 的干燥藤茎、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实。白芍及 DSD 各研究 15 个批次。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Merck Purospher Star LP RP-18 endcapped (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相乙腈 (A) - 0.05% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~8 min, 5%~10% A; 8~15 min, 10%~13% A; 15~24 min, 13%~15% A; 24~30 min, 15%~17% A; 30~35 min, 17%~20% A; 34~45 min, 20%~30% A; 45~50 min, 30%~45% A; 50~65 min, 45%~80% A; 65~70 min, 80%~95% A; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 230 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。

2.2 样品制备

《伤寒论》中记载当归四逆汤的用法用量为:“当归三两, 桂枝三两 (去皮), 芍药三两, 细辛三两, 甘草二两 (炙), 通草二两, 大枣二十五枚 (擘)。上七味, 以水八升, 煮取三升, 去滓, 温服一升, 日三服。”本研究在前期试验已确定处方剂量的基础上, 按一两为 13.8 g, 大枣二十五枚为 8 枚 (约 62.5 g), 一升为 200 mL 计算, 称取处方药味, 置陶瓷锅中, 加水 1 600 mL, 先武火煮沸, 后文火保持微沸煎至 600 mL, 以 80 目筛滤过, 即得水煎液样品。按以上方法制备 15 批 DSD 样品、15 批白芍水煎液样品及 1 批缺白芍阴性水煎液样品。饮片编号为 B1~B15 的白芍饮片煎煮得到对应编号为 S1~S15 的白芍饮片水煎液样品、编号为 DSD1~DSD15 的当归四逆汤样品; 缺白芍阴性水煎液样品编号为 YX1。

2.3 供试品溶液的制备

取白芍水煎液、DSD 及缺白芍阴性水煎液样品摇匀, 精密量取 3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇 5 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 对照品溶液的制备

精密称取没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖和苯甲酰芍药苷对照品适量,以甲醇溶解,得到质量浓度分别为 54.4、74.5、321.9、121.6、6.5 mg/L 的混合对照品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 参照峰的选择 《中国药典》2015 年版将芍药苷作为评价白芍质量的指标性成分,其含量较高,色谱峰较稳定,故选择芍药苷作为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。

2.5.2 精密度试验 取 DSD11,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次进行测定。结果表明 DSD 各共有峰的相对保留时间 $RSD < 0.21\%$,相对峰面积 $RSD < 2.9\%$,表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验 取同一批 DSD11,按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果 DSD 各共有峰的相对保留时间 $RSD < 0.23\%$,相对峰面积 $RSD < 3.0\%$,表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 取 DSD11,按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别在供试品溶液制备后 0、4、8、12、24、48 h 按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果表明 DSD 各共有峰的相对保留时间 $RSD < 0.15\%$,相对峰面积 $RSD < 3.0\%$,表明 DSD 供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.6 指纹图谱研究

2.6.1 指纹图谱建立及相似度评价 取 15 批 DSD 及 15 批白芍水煎液样品,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行检测,记录色谱图。通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)软件,分别以 DSD11 和 S11 的指纹图谱作为参照图谱,采用平均数法,进行多点校正和色谱峰匹配,自动匹配生成指纹图谱共有模式。相似度评价结果表明,15 批 DSD 的相似度在 0.989~0.998,表明 15 批 DSD 具有较好的一致性;15 批白芍水煎液相似度在 0.972~0.999,表明同一产地的 15 批白芍饮片质量较为稳定均一。15 批 DSD 及 15 批白芍水煎液指纹图谱叠加图见图 1、2,共有模式及对照品图谱见图 3,相似度结果见表 1。

2.6.2 指纹图谱结果分析 实验得到的 DSD 与空白芍阴性水煎液、白芍水煎液指纹图谱见图 4。

DSD 指纹图谱可确定 25 个共有峰,白芍水煎

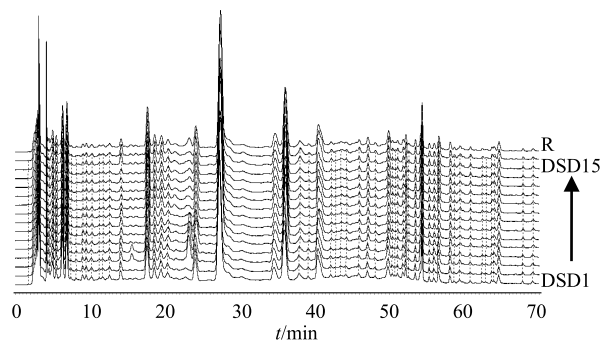


图 1 DSD 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of DSD

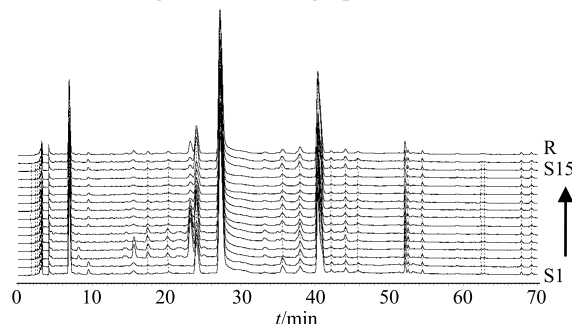
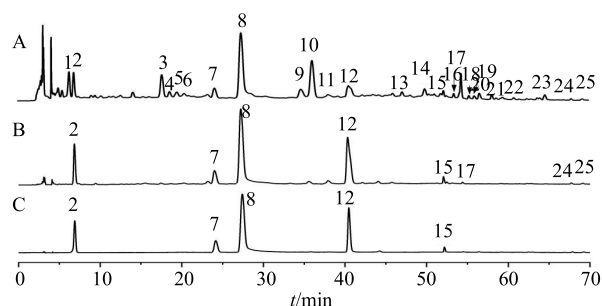


图 2 白芍水煎液指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprint of *Paeoniae Radix Alba* decoction



A-DSD 共有模式图 B-白芍水煎液共有模式图 C-混合对照品色谱图
2-没食子酸 7-芍药内酯苷 8-芍药苷 12-1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖 15-苯甲酰芍药苷

A-common pattern of DSD B-common pattern of *Paeoniae Radix Alba* decoction C-chromatogram of mixed reference substances
2-gallic acid 7-albiflorin 8-paeoniflorin 12-1,2,3,4,6-*O*-pentagalloylglucose 15-benzoyl paeoniflorin

图 3 DSD、白芍水煎液指纹图谱共有模式及混合对照品色谱图

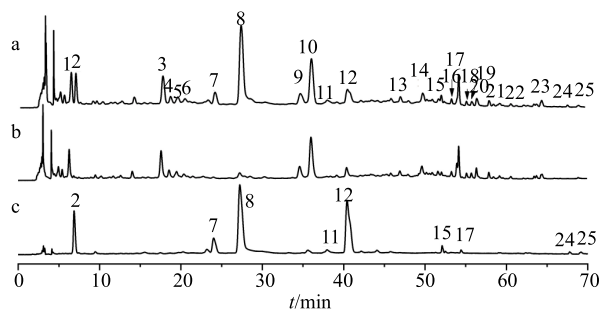
Fig. 3 Common patterns of DSD and *Paeoniae Radix Alba* decoction and chromatogram of mixed reference substances

液指纹图谱可确定 9 个共有峰,通过比对 DSD、空白芍阴性水煎液及白芍水煎液的指纹图谱可知,2 号峰(没食子酸)、7 号峰(芍药内酯苷)、8 号峰(芍药苷)、11 号峰、24 号峰来自于白芍,而 12 号峰(1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖)、15 号峰(苯甲酰

表 1 DSD 及白芍水煎液指纹图谱相似度

Table 1 Similarity evaluation of DSD and *Paeoniae Radix Alba* decoction

编号	相似度	编号	相似度
DSD1	0.993	S1	0.984
DSD2	0.995	S2	0.983
DSD3	0.990	S3	0.972
DSD4	0.989	S4	0.972
DSD5	0.996	S5	0.981
DSD6	0.996	S6	0.982
DSD7	0.998	S7	0.999
DSD8	0.997	S8	0.999
DSD9	0.998	S9	0.996
DSD10	0.997	S10	0.996
DSD11	0.998	S11	0.986
DSD12	0.998	S12	0.987
DSD13	0.998	S13	0.987
DSD14	0.997	S14	0.999
DSD15	0.997	S15	0.999



a-DSD11 指纹图谱 b-空白芍药阴性水煎液 (YX1) 指纹图谱

c-白芍水煎液 (S11) 指纹图谱

a-fingerprint of DSD11 b-fingerprint of negative *Paeoniae Radix Alba* decoction (YX1) c-fingerprint of *Paeoniae Radix Alba* decoction (S11)

图 4 DSD 与空白芍药阴性水煎液、白芍水煎液指纹图谱

Fig. 4 Fingerprints of DSD and negative *Paeoniae Radix Alba* decoction and *Paeoniae Radix Alba* decoction

芍药苷)、17 号峰、25 号峰虽在白芍中可指认到,但可能由于复方成分复杂,在 DSD 中有一定干扰。

2.7 网络药理学研究

2.7.1 候选化合物靶点预测 通过检索中药系统药理数据库 (TCMSP, <http://tcmsp.com/tcmsp.php>)、PubChem Compound 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)、Therapeutic Target Database 数据库 (TTD, <http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 中没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖、苯甲酰芍药苷 5 个化合物, 候选化合物作用的靶点; 并通过 Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 将预测出的靶点蛋白名转换为对应的基因名。将各数据库筛选出的靶点蛋白合并, 除去重复靶点, 最终得到与 5 个化合物相关的 119 个靶点蛋白。

2.7.2 靶点蛋白与蛋白互作 (PPI) 网络分析 将获得的 119 个靶点蛋白导入在线 STRING 11.0 软件 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>), 物种选择为人 (*homo sapiens*), 最高置信度蛋白交互参数评分值 > 0.9, 其他参数设置不变, 去掉网络中的单一节点, 获得 PPI 网络 (图 5)。对 PPI 进行拓扑特征分析, 选取在“度中心性” (degree)、“中介中心性” (betweenness)、“接近中心性” (closeness) 3 个参数均大于中位数且 degree ≥ 10 的点作为核心靶点, 经筛选后共得到 10 个重要核心靶点, 具体包括 SRC (degree=23)、HRAS (degree=19)、EGFR (degree=15)、PRKCD (degree=15)、VEGFA (degree=13)、HSP90AA1 (degree=12)、TP53 (degree=12)、PRKCA (degree=11)、PRKCB (degree=10)、LCK (degree=10), 且发现这 10 个靶点主要与芍药苷、芍药内酯苷、没食子酸有关。

2.7.3 功能富集分析与通路分析 利用 David 6.8 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对 10 个潜在的核心靶点蛋白进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。GO 功能分析主要用于描述基因靶点的功能, 包括细胞功能、分子功能和生物功能。KEGG 富集分析

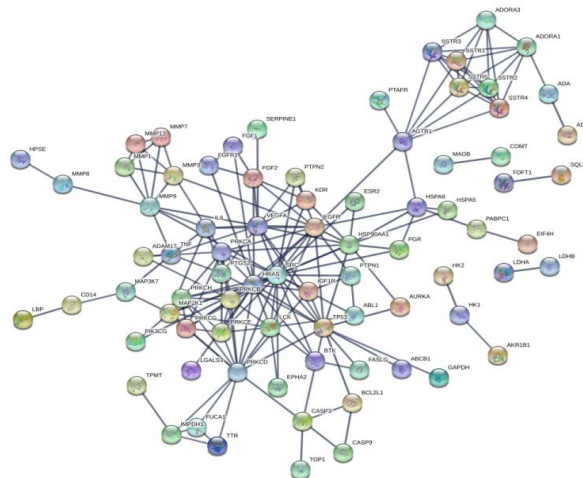


图 5 PPI 网络

Fig. 5 PPI network

可以得到潜在靶点所富集的信号通路。GO 和 KEGG 分析均以 $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

在 GO 富集分析中,共获取 99 个 GO 条目,其中生物过程 (biological process, BP) 占 62 个,分子功能 (molecular function, MF) 占 24 个,细胞组成 (cellular component, CC) 占 13 个,选择 P 值 < 0.05 、FDR < 0.05 的条目进行展示,GO 分析结果提示生物过程 (BP) 显著富集在血小板活化、ERBB2 信号通路、ERK1 和 ERK2 级联的正调控等过程;分子功能 (MF) 主要富集在 ATP 结合、蛋白磷酸酶结合等功能;细胞组分 (CC) 主要富集在细胞核周围区域。具体信息见表 2。

KEGG 富集分析得到 50 条通路,选择 P 值 < 0.05 、FDR < 0.05 的通路进行展示,见表 3。富集到的前 13 条通路主要涉及癌症中的蛋白多糖 (proteoglycans in cancer)、GnRH 信号通路 (GnRH signaling pathway)、膀胱癌 (bladder cancer)、非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer)、血管内皮生长因子信号途径 (VEGF signaling pathway) 等,表明这 10 个核心靶点可能主要通过调控这些通路达到干预疾病的目的。

2.7.4 “成分-靶点-通路”网络构建 以 10 个核心靶点相关的 3 个成分、13 条通路为节点 (node),在 Excel 中建立彼此对应关系,将表格导入到

表 2 基因生物学过程

Table 2 Biological process of genes

类别	基因功能	基因数/个	P 值	FDR
BP	血小板活化 (platelet activation)	5	2.56×10^{-7}	3.63×10^{-4}
BP	ERBB2 信号通路 (ERBB2 signaling pathway)	4	8.90×10^{-7}	1.00×10^{-3}
BP	ERK1 和 ERK2 级联的正调控 (positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade)	5	1.38×10^{-6}	2.00×10^{-3}
BP	MAP 激酶活性的阳性调节 (positive regulation of MAP kinase activity)	4	3.41×10^{-6}	5.00×10^{-3}
BP	肽基丝氨酸磷酸化 (peptidyl-serine phosphorylation)	4	3.27×10^{-5}	0.046
MF	ATP 结合 (ATP binding)	8	1.29×10^{-6}	1.00×10^{-3}
MF	蛋白磷酸酶结合 (protein phosphatase binding)	4	4.10×10^{-6}	5.00×10^{-3}
MF	酶结合 (enzyme binding)	5	1.73×10^{-5}	0.020
MF	蛋白激酶活性 (protein kinase activity)	5	2.33×10^{-5}	0.026
MF	蛋白激酶 C 活性 (protein kinase C activity)	3	2.64×10^{-5}	0.030
MF	蛋白质酪氨酸激酶活性 (protein tyrosine kinase activity)	4	3.88×10^{-5}	0.044
CC	细胞核周围区域 (perinuclear region of cytoplasm)	6	5.08×10^{-6}	5.00×10^{-3}

表 3 主要作用靶点的通路富集分析

Table 3 Pathway enrichment analysis of main targets

ID 编号	KEGG 信号通路	基因数/个	P 值	FDR
hsa05205	癌症中的蛋白多糖 (proteoglycans in cancer)	7	4.38×10^{-8}	4.97×10^{-5}
hsa04912	GnRH 信号通路 (GnRH signaling pathway)	6	4.38×10^{-8}	4.97×10^{-5}
hsa05219	膀胱癌 (bladder cancer)	5	1.34×10^{-7}	1.52×10^{-4}
hsa05223	非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer)	5	4.82×10^{-7}	5.46×10^{-4}
hsa04370	血管内皮生长因子信号通路 (VEGF signaling pathway)	5	6.82×10^{-7}	7.73×10^{-4}
hsa05214	胶质瘤 (glioma)	5	8.83×10^{-7}	1.00×10^{-3}
hsa05200	癌症途径 (pathways in cancer)	7	2.43×10^{-6}	3.00×10^{-3}
hsa04510	黏着斑 (focal adhesion) 信号通路	6	2.62×10^{-6}	3.00×10^{-3}
hsa04012	ErbB 信号通路 (ErbB signaling pathway)	5	2.87×10^{-6}	3.00×10^{-3}
hsa04015	Rap1 信号通路 (Rap1 signaling pathway)	6	2.88×10^{-6}	3.00×10^{-3}
hsa04540	缝隙连接 (gap junction)	5	3.00×10^{-6}	3.00×10^{-3}
hsa04915	雌激素信号通路 (estrogen signaling pathway)	5	4.81×10^{-6}	5.00×10^{-3}
hsa04919	甲状腺激素信号途径 (thyroid hormone signaling pathway)	5	8.76×10^{-6}	0.01

Cytoscape 3.7.1 软件中,通过该技术平台的关系网络绘图,建立起“成分-靶点-通路”关系网络,并通过网络图进行可视化展示,结果见图 6。由网络图可知,白芍是通过多靶点、多途径发挥协同作用的。根据 Cytoscape 3.7.1 软件分析结果,以化合物、靶点蛋白、信号通路的连接度 (degree) 为参考,

发现化合物芍药苷 (degree=5) 和芍药内酯苷 (degree=9) 有较高的连接度,提示这 2 个化合物可能是白芍的活性成分;HRAS (degree=15)、EGFR (degree=13)、PRCKA (degree=12)、PRKCB (degree=12)、SRC (degree=11)、VEGFA (degree=8)、TP53 (degree=7)、HSP90AA1 (degree=5)

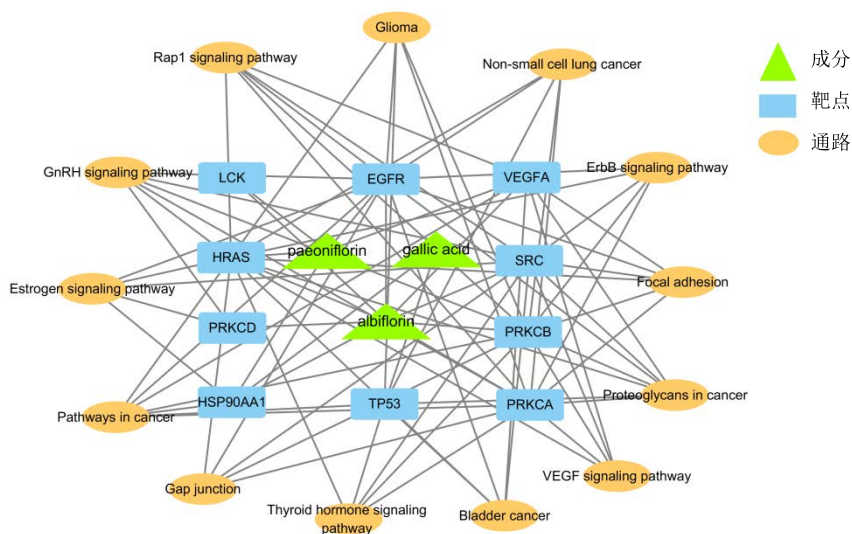


图 6 “成分-靶点-通路”网络

Fig. 6 “Compounds-targets-pathways” network

的连接度高于其他靶点,表明这 8 个靶点发挥的作用可能更关键;13 条通路的连接度相近,均可能是白芍潜在 Q-marker 的重要信号通路。

2.8 整合分析

白芍中含有单萜及其苷类、多元酚类、黄酮类及挥发油等成分,其中白芍总苷是白芍发挥药效的物质基础^[17]。目前研究发现白芍中单萜苷类、酚酸类以及多酚类是入血的主要成分^[18],在桂枝-白芍药对入血成分中检测出没食子酸、氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酰芍药苷等化合物^[19];白芍总苷可调节 MAPKs 信号通路及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路等参与自身免疫性疾病的治疗,研究表明白芍总苷在治疗自身免疫性疾病中具有疗效好、副作用小的优点^[20-21];白芍总苷还可以抑制 MMPs 的表达和活性,对心力衰竭具有一定的治疗作用^[22]。

本研究通过建立指纹图谱指认了 DSD 和白芍中没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖、苯甲酰芍药苷 5 个化学成分,经网络药理学研究筛选出与 2 个核心成分相关的 8 个靶点、13 条通路。基于 Q-marker 的定义和基本要求及结合上述分析,初步预测芍药苷、芍药内酯苷

是白芍潜在的 Q-marker。

3 讨论

本研究从 Q-marker 的“五原则”即传递与溯源、可测、特有、有效及处方配伍出发,利用指纹图谱指认了白芍和 DSD 中 5 个化学成分,体现中药质量的可传递性、可溯源性及成分的可测性;其中芍药苷、芍药内酯苷在缺白芍阴性水煎液中未检测到,而在白芍和 DSD 中均可指认出,体现所预测的白芍 Q-marker 的特有性;芍药苷和芍药内酯苷为白芍总苷所含的主要成分,且白芍总苷为白芍的有效成分,体现所预测的白芍 Q-marker 的有效性;在 DSD 的配伍环境中分析预测白芍的 Q-marker,加速了白芍 Q-marker 的寻找,为白芍 Q-marker 的分析预测提供了有利依据,同时也进一步表明所预测 Q-marker 的合理性。

中药质量是中药临床安全有效的基础,是中药产业发展的生命线^[23],对组方单味药进行质量控制,更有利于从原料开始对中药产品进行质量控制^[24]。本研究选取 DSD 中单味药白芍为对象,采用指纹图谱和网络药理学方法,分析预测芍药苷、芍药内酯苷为白芍潜在的 Q-marker,为白芍质量标

准的提升及全程质量控制提供参考,同时也为含有白芍的复方Q-marker的筛选提供参考。本研究虽预测了白芍的Q-marker,但对成分的有效性缺乏实验验证,有待后期对Q-marker的药效活性及作用机制进一步采用组学技术、生物芯片技术等方法进行验证和阐释。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] 张建军,李伟,王丽丽,等.赤芍和白芍品种、功效及临床应用述评[J].中国中药杂志,2013,38(20):3595-3601.
- [3] 游佳华,娄艳芳,张桂睿,等.中药白芍在帕金森领域的应用及临床研究进展[J].临床医药文献电子杂志,2016,3(16):3331,3334.
- [4] 邸莎,赵林华,杨映映,等.白芍的临床应用及其用量探究[J].环球中医药,2019,12(2):266-269.
- [5] 南京中医学院伤寒教研组编著.伤寒论译释(下册)[M].第2版.上海:上海科学技术出版社,1980.
- [6] 张晓珂,赵艳利.当归四逆汤联合常规西药治疗糖尿病周围神经病变的临床观察[J].中国民间疗法,2019,27(18):67-69.
- [7] 刘爻.当归四逆汤治疗糖尿病周围神经病变的有效性和安全性的系统评价[D].北京:北京中医药大学,2018.
- [8] 朱河文.当归四逆汤联合西药治疗类风湿关节炎的效果观察[J].实用中西医结合临床,2019,19(8):140-142.
- [9] 白瑞.当归四逆汤治疗子宫内膜异位症寒凝血瘀型临床观察[J].光明中医,2019,34(15):2293-2294.
- [10] 李冀主编.方剂学[M].北京:中国中医药出版社,2012.
- [11] 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.
- [12] 张铁军,白钢,陈常青,等.基于“五原则”的复方中药质量标志物(Q-marker)研究路径[J].中草药,2018,49(1):1-13.
- [13] 谢培山.中药色谱指纹图谱鉴别的概念、属性、技术与应用[J].中国中药杂志,2001,26(10):5-7.
- [14] 张慧,陈燕,汪佳楠,等.指纹图谱技术在中药配方颗粒质量评价及过程控制中的应用[J].中国中药杂志,2018,43(19):3822-3827.
- [15] 周文霞,程肖蕊,张永祥.网络药理学:认识药物及发现药物的新理念[J].中国药理学与毒理学杂志,2012,26(1):4-9.
- [16] 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.
- [17] 崔虹,朱佳茜,冯秋芳,等.中药白芍化学成分及生物活性研究进展[J].海峡药学,2017,29(9):1-5.
- [18] 阴奇材,陈聪聪,田俊生,等.基于UPLC-QE-Orbitrap-MS技术的柴胡-白芍药对血清药物化学分析[J].药学学报,2019,54(12):2296-2302.
- [19] 陈永财,钱江辉,王彬辉,等.“桂枝与白芍”药对入血成分UPLC-Q/TOF-MS分析[J].中国现代应用药理学,2017,34(12):1707-1711.
- [20] Shen M Y, Men R T, Fan X L, et al. Total glucosides of paeony decreases apoptosis of hepatocytes and inhibits maturation of dendritic cells in autoimmune hepatitis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, doi: 10.1016/j.biopha.2020.109911.
- [21] Zhang L L, Wei W. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of paeoniflorin and total glucosides of paeony[J]. *Pharmacol Ther*, 2019, doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.107452.
- [22] Naveed M, Han L, Hasnat M, et al. Suppression of TGF β on myocardial remodeling by regulating the NF- κ B pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1460-1468.
- [23] 刘昌孝.中药质量标志物(Q-marker):提高中药质量标准及质量控制理论和促进中药产业科学发展[J].中草药,2019,50(19):4517-4518.
- [24] 张天一,孙磊,乔善义.黄芪桂枝五物汤组方中单味药白芍的质量表征研究[J].国际药学研究杂志,2019,46(6):472-478.