

基于网络药理学的藏药红景天功效关联性质量标志物预测分析

范芳芳^{1,2}, 张雯^{1,2}, 余羊羊^{1,2}, 杨露¹, 李轩豪², 张艺^{1,2}, 孟宪丽^{3*}

1. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611137

2. 成都中医药大学 民族医药学术传承创新研究中心, 四川 成都 611137

3. 成都中医药大学 中医院创新研究院, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 基于中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 核心理论, 结合文献研究与网络药理学分析, 预测藏药红景天传统功效关联性 Q-Marker。 **方法** 通过文献整理、TCMID 数据库收集构建红景天化学成分库, 利用 FAFDrugs4 网站计算各成分吸收、分布、代谢、排泄和毒理性 (ADMET) 属性, 筛选得到类药性化合物; 采用 BATMAN-TCM 平台预测并收集红景天类药性化合物靶点, 将靶点导入 DAVID 数据库和 CTD 平台富集分析得到红景天作用组织和疾病; 根据 Q-Marker 定义, 结合红景天类药性化合物与传统功效主治的关联性, 分析红景天潜在的 Q-Marker。 **结果** 红景天中 67 个类药性化合物共作用 407 个靶点; 主要靶向作用于肝、肺、肾、心、脑等组织, 涉及癌症、高血压、脑缺血、心肌缺血、动脉粥样硬化、心衰、哮喘等 1060 种疾病; 结合《晶珠本草》1986 年版等典籍记载藏药红景天“归肺心经, 清肺热, 治脉病”的传统功效主治与现代文献研究, 揭示了类药性成分没食子酸乙酯、没食子酸、红景天苷、草质素、咖啡酸、儿茶素、原儿茶酸、香草酸等可作为红景天传统功效关联性 Q-Marker。 **结论** 以 Q-Marker “有效性” 为核心要素, 辅以其他原则分析, 有效预测了红景天功效关联性 Q-Marker。建议后期可开展功效相关药理学及病理状态下药动学等研究, 进一步确定其 Q-Marker, 为制定全面科学的红景天质量控制标准提供参考。

关键词: 藏药; 红景天; 网络药理学; 有效性; 质量标志物; 没食子酸乙酯; 没食子酸; 红景天苷; 草质素; 咖啡酸; 儿茶素; 原儿茶酸; 香草酸

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)22-6911-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.22.017

Predictive analysis of traditional efficacy correlated Q-Marker of Tibetan medicine *Rhodiola crenulata* based on network pharmacology

FAN Fang-fang^{1, 2}, ZHANG Wen^{1, 2}, YU Yang-yang^{1, 2}, YANG Lu², LI Xuan-hao², ZHANG Yi^{1, 2}, MENG Xian-li³

1. School of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Ethnic Medicine Academic Heritage Innovation Research Center, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

3. Academic Inheritance and Innovation Research Center for Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To analyze the Q-Marker of Tibetan medicine *Rhodiola crenulata* that correlated with traditional efficacy combining network pharmacology and document research based on core theory of TCM Q-Marker. **Methods** Compounds database of *R. crenulata* was constructed through literature research and TCMID database. ADMET attributes of each component were calculated by FAFDrugs4 website, and drug-like compounds with similar physical and chemical properties were screened. The target of drug-like compounds of *R. crenulata* was predicted by BATMAN-TCM platform. Then these targets were imported into DAVID database to obtain tissue distribution. Target-related diseases were analyzed online by CTD platform. According to the definition of

收稿日期: 2021-04-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81973569); 国家重点研发计划项目 (2017YFC1703904); 四川省科技厅科技项目 (2019YFSY0046, 2020YFQ0032); 中医药行业科研专项 (201507002)

作者简介: 范芳芳 (1992—), 女, 博士研究生, 从事中药及民族药药效及物质基础研究。Tel: (028)61932600 E-mail: 1738170360@qq.com

*通信作者: 孟宪丽, 教授, 博士生导师, 从事中药及民族药药理与毒理研究。E-mail: xlm999@cdutcm.edu.cn

Q-Marker, the potential Q-Marker of *R. crenulata* was analyzed in combination with the relationship between drug-like compounds and traditional efficacy. **Results** A total of 67 drug-like compounds of *R. crenulata* acted on 407 targets, mainly targeting tissues including liver, lung, kidney, heart and brain, involving 1060 diseases including cancer, hypertension, brain ischemia, myocardial ischemia, atherosclerosis, heart failure and asthma. Combination with the traditional effect theory of “clearing lung heat, treating pulse disease” and meridian tropism in lung and heart, recorded in 1986 edition of “*Jingzhu Materia Medica*”, the main involving effective ingredients ethyl gallate, gallic acid, salidroside, herbacetin, caffeic acid, catechin, protocatechuic acid, vanillic acid can be used as candidates for *R. crenulata* Q-Marker. **Conclusion** Potential Q-Marker of *R. crenulata* could be effectively predicted by taking “effectiveness” as the core element and supplemented by analysis of other principles of Q-Marker. Further studies on efficacy related pharmacology and pharmacokinetics can be carried out for confirming its Q-Marker, and provide a basis for the formulation of scientific quality control standards.

Key words: Tibetan medicine; *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba; network pharmacology; effectiveness; Q-Marker; ethyl gallate; gallic acid; salidroside; herbacetin; caffeic acid; catechin; protocatechuic acid; vanillic acid

红景天为景天科红景天属多年生草本，其干燥根及根茎系藏族习用药材“索罗玛保”（ སོ་རོ་མ་པོ ），始载于《四部医典》^[1]，《晶珠本草》^[2]记载其具有“清肺热，治脉病”的功效，《中国药典》2020年版一部收载品种为大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba，归肺、心，具有益气活血、通脉平喘的功效，主治气虚血瘀、胸痹心痛、中风偏瘫、倦怠气喘等疾病^[3]。随着红景天应用需求和野生资源开采的增加，市场上出现了各种混伪品，红景天药材及饮片样品仅 40% 为《中国药典》规定的大花红景天正品药材^[4]。因此，如何加强红景天质量控制，提高红景天质量控制标准成为亟待解决的问题。目前，《中国药典》对红景天质量控制含量测定仅以红景天苷为指标，但由于红景天化学成分的复杂性，对单一的化学成分分析，并不能完全体现其发挥作用的完整性，无法很好地对红景天质量进行评价。因此，开展红景天质量控制提升研究是非常有必要的。

中药质量标志物（quality marker, Q-Marker）由刘昌孝院士^[5]于 2016 年提出：“存在于中药材及中药产品（饮片、提取物、中成药制剂等）中固有的或是加工过程中形成的、与重要的功能属性密切相关的化学物质，作为中药安全性和有效性的标志性物质”^[5-6]，反映了中药质量本质的科学内涵。中药 Q-Marker 的发现和确立须符合“五原则”的核心要求，包括了有效性、特有性、传递与溯源、可测性以及处方配伍^[7-8]。其中，“有效性”作为中药质量控制的根本目的，也是 Q-Marker 的核心要素，在 Q-Marker 的发现和确立中起着主导地位。中药有效性是对其“药效”（传统功效）、“药性”（性味归经）的概括，药效和药性是中药特有的功能属性，也是

临床辨证用药的重要依据^[8]。因此，中药有效性贯穿整个中药材及中药产品制备的全过程，无论哪一个环节出现差错都会影响中药质量，最终造成药效的差异。中药有效性体现在中药物质基础作用机体后的效应表现，中药吸收入体的原型成分及代谢成分才是终端效应成分。从质量传递和溯源的角度来看，可以吸收入体的入血成分才是中药 Q-Marker 的重要依据^[9]。由此可见，以药效为中心和主线，明确中药成分有效性是确定中药 Q-Marker 的首要条件。目前，中药 Q-Marker 已经报道了一系列相关的实例应用研究，其中既包含实验性研究^[10-16]，在中药回顾性综述基础上进行 Q-Marker 预测分析的文献^[17-21]，同时，还有部分基于网络药理学分析的中药 Q-Marker 的预测^[4,22-25]。现有文献分析发现，中药 Q-Marker 研究多以中药“物质-功能”关联为核心，围绕化学成分与中药性味归经、功效主治、资源（生物合成途径）、炮制加工、配伍、制剂工艺、储藏条件等各个方面来进行，充分体现了中药 Q-Marker 研究的完整性和可靠性^[26]。

本研究依据刘昌孝院士提出的中药 Q-Marker 研究新模式，以中药“有效性”为基准，采用类药性分析和网络药理学的方法，预测红景天可吸收入体的类药性化合物与传统功效归经的关联性，获得有效性成分；再结合现代文献研究报道，从特有性、传递与溯源、可测性以及处方配伍等方面综合分析，进一步确定红景天潜在的药效关联性 Q-Marker，为红景天后续质量控制提高研究提供参考依据。

1 方法

1.1 化学成分收集

通过文献搜集^[27-33]、TCMID（<http://www.megabionet.org/tcmid/>）数据库查询等途径，收集红

景天中化学成分,记录 InCHI、Smiles 等相关信息,构建红景天的化学成分库。

1.2 类药性化合物筛选

将上述检索得到的红景天化学成分上传至 FAFDrugs4 网站 (<http://fafdrugs4.mti.univ-paris->

[diderot.fr/](http://fafdrugs4.mti.univ-paris-)), 计算得到各个成分的吸收、分布、代谢、排泄和毒性 (absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicology, ADMET) 属性, 随后基于表 1 的类药性质参数, 筛选理化性质接近已上市药物的化学成分, 作为红景天类药性化合物。

表 1 类药性质参数

Table 1 Parameter of drug-like properties

性质	参数	作用	来源
相对分子质量 (M _w)	100~600	吸收	文献[34]
正辛醇与水分配系数的对数 (logP)	-3~6		文献[35]
口服生物利用度-VEBER (Oral_Bioavailability_VEBER)	Good		文献[36]
口服生物利用度-EGAN (Oral_Bioavailability_EGAN)	Good		
可旋转键 (RotatableBonds)	≤11	与靶标的亲和性	文献[34]
刚性键 (RigidBonds)	≤30		
环状结构 (Rings)	≤6		
氢键给体 (HBD)	≤12	透过血脑屏障	文献[37]
氢键受体 (HBA)	≤7		
碳原子 (Carbons)	3~35	吸收	FAF-Drugs4 网站
非碳原子 (不含氢) (HeteroAtoms)	1~15		
非碳原子数与碳原子数之比 (H/C Ratio)	0.1~1.1		
违反 5 规则的数量 (Lipinski_Violation)	≤1		
带电基团数 (Charges)	≤4		
化合物的总电荷 (TotalCharge)	-4~4		
涉及最大系统环的原子数 (MaxSizeSystemRing)	≤18		
拓扑极性表面积 (tPSA)	≤180	透过血脑屏障	

1.3 药物靶点预测

基于红景天的化学成分信息库, 采用 BATMAN-TCM 平台对红景天的类药性化合物进行靶点预测, 并下载包含靶点预测结果的数据文件。提取每个成分对应的评分前 20 个靶标, 合并去重后即得到红景天潜在的作用靶点。将筛选获得靶点导入 STRING (<https://string-db.org>) 数据库, 进行靶点之间的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 关系构建。

1.4 组织和疾病富集分析

为考察红景天类药性化合物靶标组织定位和疾病富集, 将其潜在靶点导入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) 数据库, 进行组织分布 (UP_TISSUE) 富集, 下载结果文件, 筛选 $P \leq 0.01$ 的作用部位, 并对结果中小类目录归属到大类组织下, 如将“Hippocampus, Brain stem”归类到 Brain, 整理得到红景天中类药性化合物主要作用组织; 同时, 将潜在的靶点导入 CTD 在线分析平台 (<http://ctdbase.org/>) Batch Query 模块, 进行靶点相关联疾病分析 (疾病数据来源于 OMIM 和 PubMed 数据库), 下载疾病文档, 获取靶点相关疾病及其分类, 采用 Cytoscape 3.7.1 软件构建“靶

点-疾病”网络。

1.5 Q-Marker 预测分析

根据中药 Q-Marker 定义, 基于红景天传统功效归经, 即《晶珠本草》1986 版等记载红景天“归肺心经, 清肺热, 治脉病”传统功效理论, 结合网络药理学获得作用组织定位和疾病分析结果, 综合分析红景天功能相关联的 Q-Marker; 再结合现代文献研究, 从特有性、传递与溯源、可测性以及处方配伍等方面综合分析, 进一步确定红景天潜在的疗效关联性 Q-Marker。

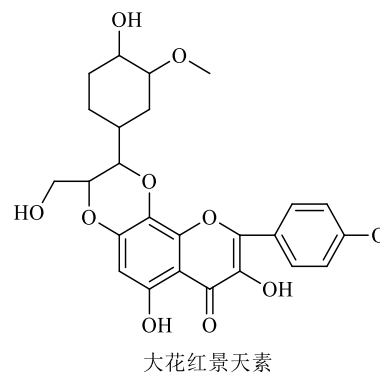
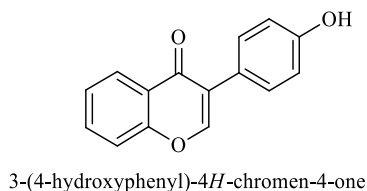
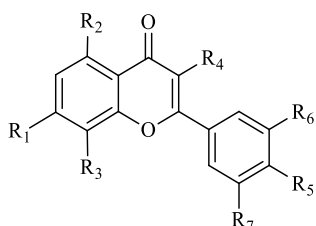
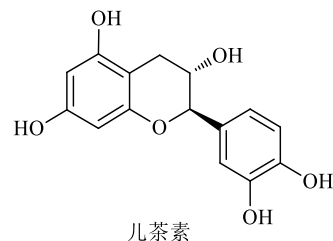
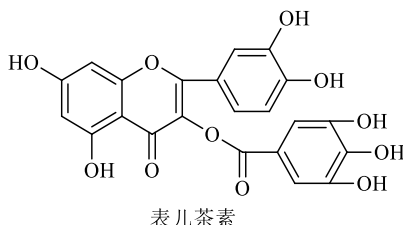
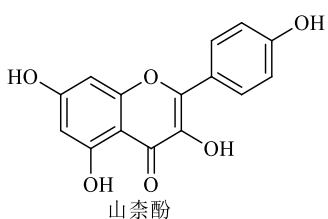
2 结果

2.1 红景天类药性化合物

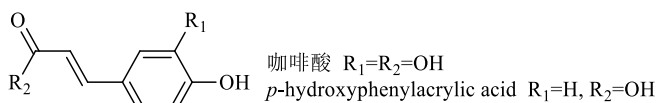
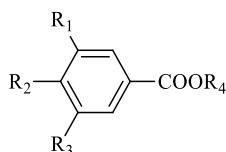
共收集得到红景天化学成分 148 个, 收录了 InCHI、Smiles 等相关信息, 构建了红景天化学成分库; 其成分经 ADMET 筛选后得到 67 个类药性较好的化合物, 见图 1。

2.2 潜在靶点分析

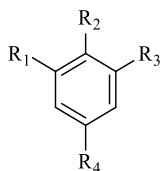
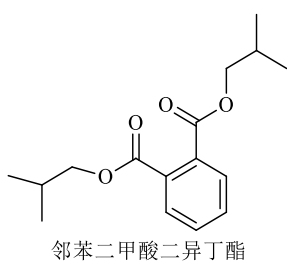
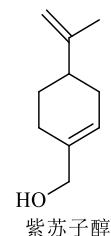
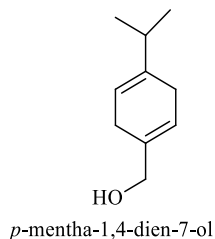
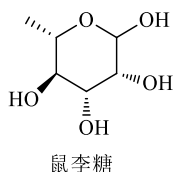
经 BATMAN-TCM 预测得到红景天类药性化合物排名前 20 的靶点, 去除重复靶点, 得到 407 个靶点。经 STRING 数据库分析 407 个靶点与靶点之间的相互作用关系, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建其 PPI 网络, 见图 2。



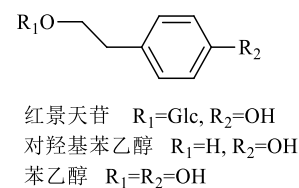
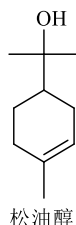
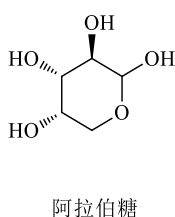
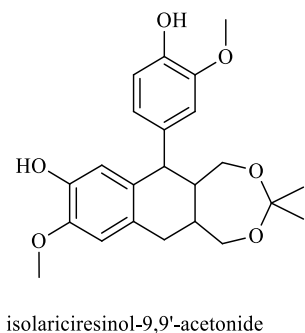
草质素 $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=OH, R_6=R_7=H$
 5,4'-dihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone $R_1=R_7=OCH_3, R_2=R_5=OH, R_4=R_6=H$
 柃柳素 $R_1=R_2=R_4=R_7=OH, R_3=R_6=H, R_5=OCH_3$
 槲皮素 $R_1=R_2=R_4=R_5=R_7=OH, R_3=R_6=H$
 苜蓿素 $R_1=R_2=R_5=OH, R_3=R_4=H, R_6=R_7=OCH_3$
 3,5-dihydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavone $R_1=R_5=R_7=OCH_3, R_2=R_4=OH, R_3=R_6=H$



没食子酸 $R_1=R_2=R_3=R_4=H$
 3-methoxygallic acid $R_1=OMe, R_2=R_3=OH, R_4=H$
 没食子酸乙酯 $R_1=R_2=R_3=OH, R_4=Me$
 p -hydroxybenzoic acid $R_1=R_3=R_4=H, R_2=OH$
 原儿茶酸 $R_1=R_2=OH, R_3=R_4=H$
 2-methylhept-2-en-6-one $R_1=R_2=OH, R_3=R_4=H$
 苯甲酸乙酯 $R_1=R_2=R_3=H, R_4=CH_2CH_3$
 香草酸 $R_1=R_4=H, R_2=OH, R_3=OCH_3$



4-isopropylbenzyl alcohol $R_1=R_3=H, R_2=CH_2(CH_3)_2, R_4=CH_2OH$
 benzyl beta-D-glucopyranoside $R_1=R_2=R_3=H, R_4=Glc$
 间苯三酚 $R_1=R_2=R_3=OH, R_4=H$
 O -cresol $R_1=OH, R_2=CH_3, R_3=R_4=H$



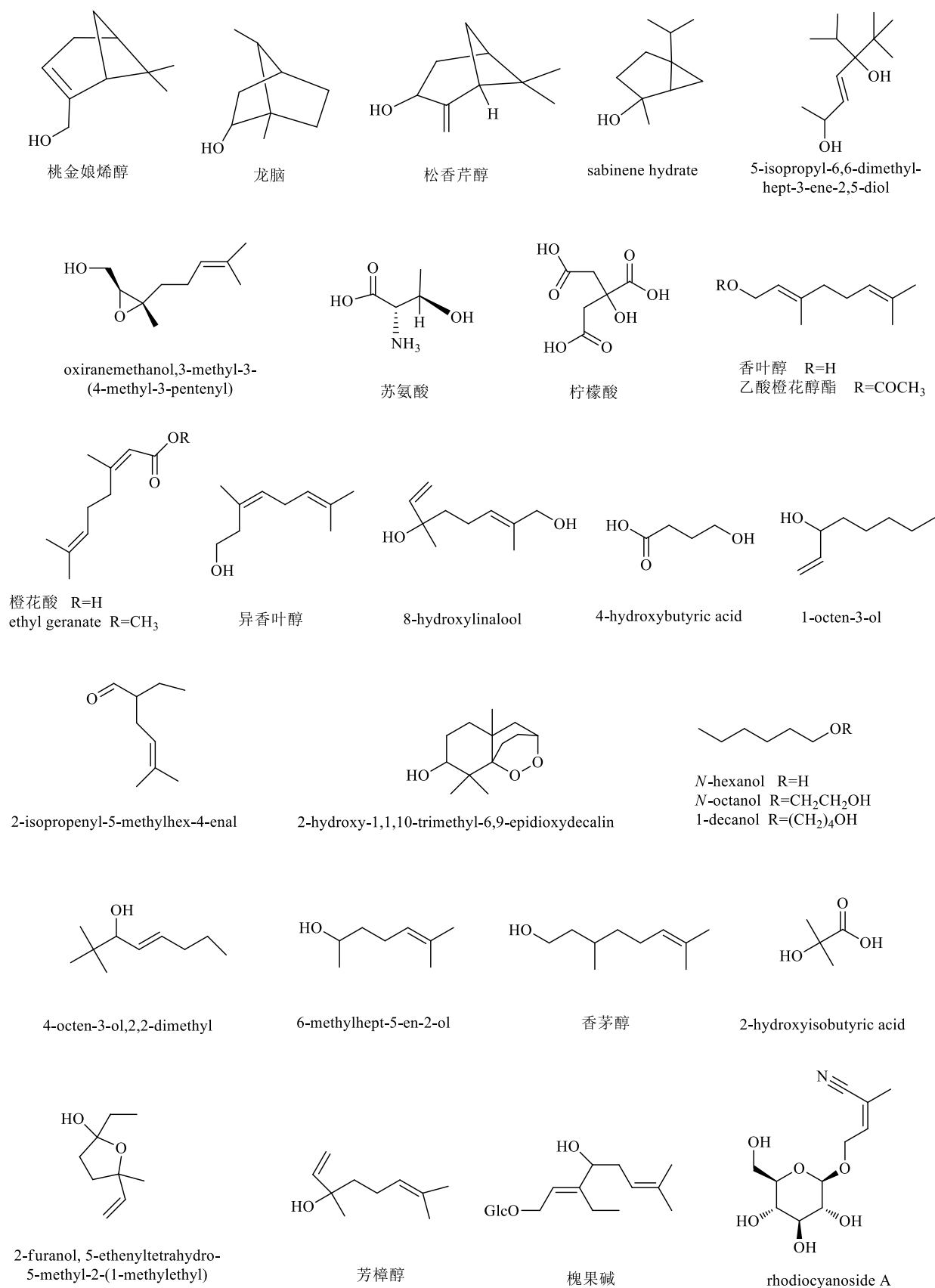


图1 红景天类药性化合物

Fig. 1 Drug-like compounds of *R. crenulata*

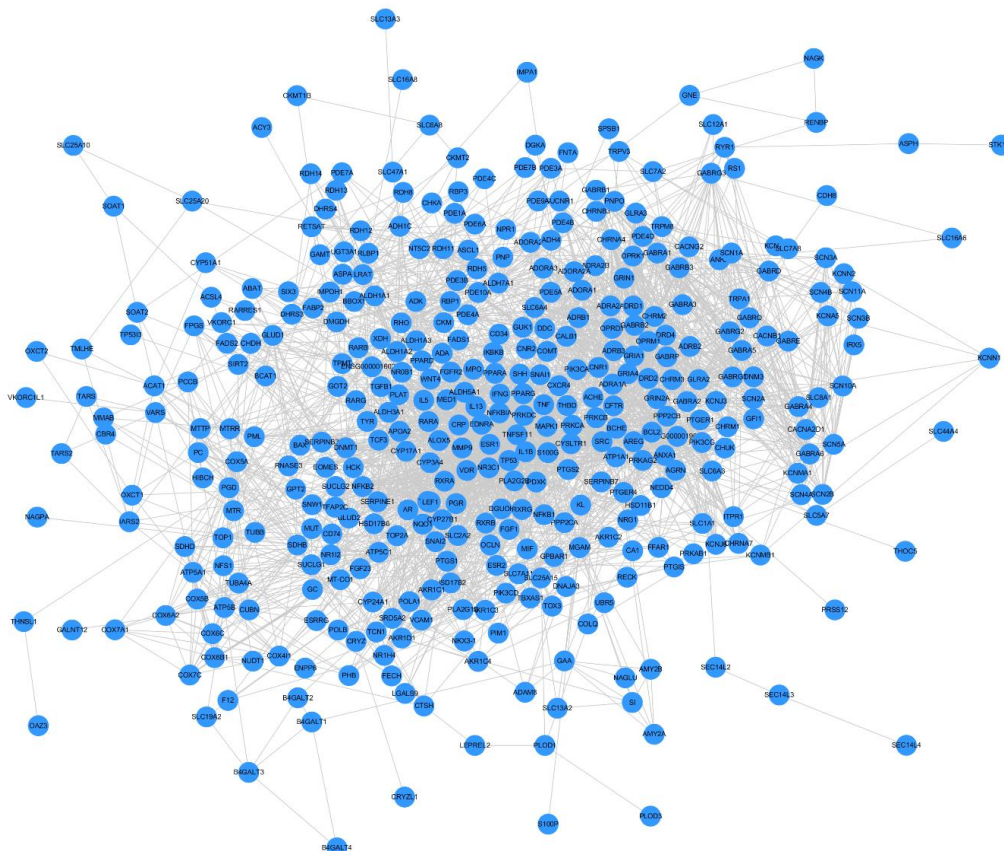


图2 红景天类药性化合物PPI网络

Fig. 2 PPI network of *R. crenulata* drug-like compounds

2.3 组织分布及相关疾病富集

2.3.1 组织分布富集 根据 DAVID 组织分布富集, 以 $P \leq 0.01$ 归类整理后得到红景天类药性化合物富集到组织部位, 见图 3。组织分布基因数排名前 5 位的部位分别为肝、肺、肾、心、脑。

2.3.2 类药性化合物靶点-疾病富集 将 67 个类药性化合物的靶点导入 CTD 网站分析相关疾病, 下载

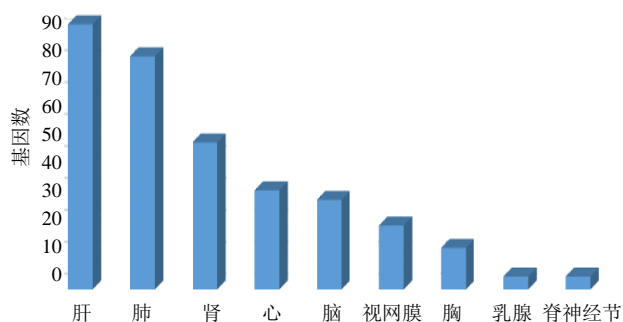


图3 红景天类药性化合物的组织分布

Fig. 3 Tissue distribution of drug-like compounds in *R. crenulata*

数据文件, 去除没有结果及重复结果, 得到 325 个作用靶标、1060 种疾病, 涉及 273 类疾病。根据 Cytoscape 3.7.1 软件构建类药性化合物“靶点-疾病”网络(图 4), 应用软件分析功能, 以度值为指标筛选主要作用疾病, 其中贡献度较大的以度值 ≥ 10 的疾病有 59 个(表 2)。涉及疾病以癌症居多, 包括乳腺、肝、肺、胃、前列腺、肾和结直肠等部位病变, 如乳腺癌 (breast neoplasms)、肝癌 (liver neoplasms)、肺癌 (lung neoplasms)、前列腺癌 (prostatic neoplasms)、胃癌 (stomach neoplasms)、结直肠癌 (colorectal neoplasms) 等; 同时, 也涉及心脑血管系统、神经系统、呼吸系统、消化系统、内分泌系统和生殖系统性疾病, 包括高血压 (hypertension)、脑缺血 (brain ischemia)、心肌缺血 (myocardial ischemia)、动脉粥样硬化 (atherosclerosis)、心衰 (heart failure)、癫痫 (seizures)、阿尔兹海默病 (Alzheimer disease)、哮喘 (asthma)、肥胖 (obesity)、糖尿病 (diabetes mellitus) 和 (子宫内膜异位症 endometriosis) 等疾病。

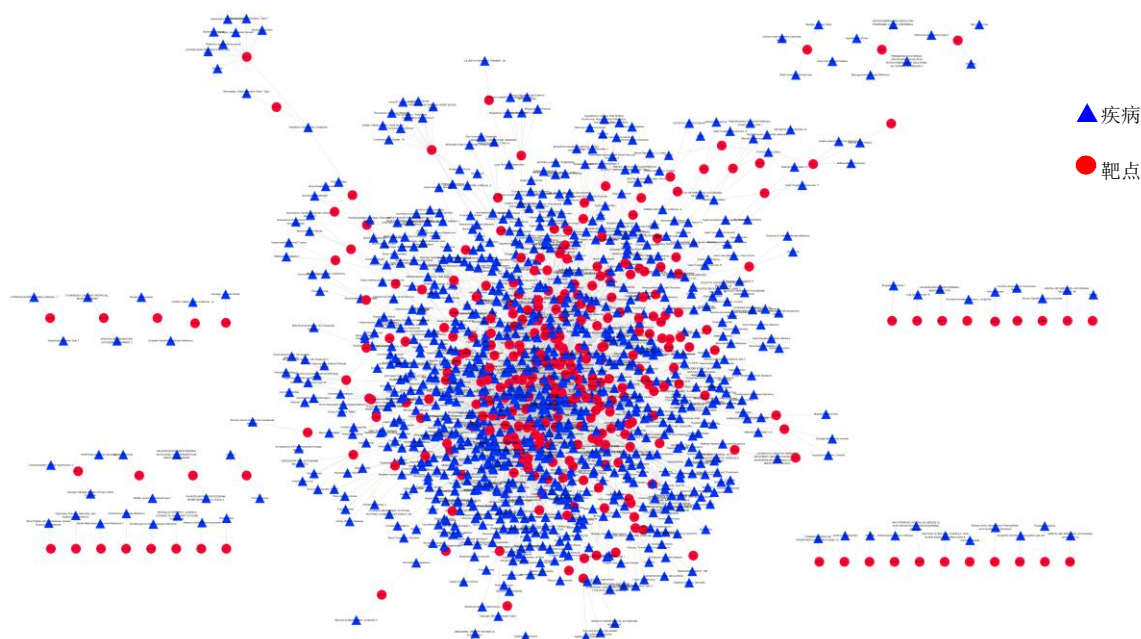


图 4 红景天类药性化合物“靶点-疾病”网络

Fig. 4 “Target-disease” network of drug-like compounds in *R. crenulata*

表 2 红景天类药性化合物作用疾病 (度值 ≥ 10)

Table 2 Diseases treated by drug-like compounds of *R. crenulata* (degree value ≥ 10)

序号	疾病	度值	序号	疾病	度值
1	breast neoplasms	46	31	myocardial infarction	14
2	liver cirrhosis	43	32	arthritis, rheumatoid	14
3	prostatic neoplasms	42	33	reperfusion injury	14
4	autistic disorder	33	34	mammary neoplasms, animal	14
5	carcinoma, hepatocellular	33	35	drug-related side effects and adverse reactions	13
6	stomach neoplasms	31	36	urinary bladder neoplasms	13
7	hypertension	29	37	substance withdrawal syndrome	13
8	chemical and drug induced liver injury	25	38	carcinoma, squamous cell	13
9	obesity	23	39	mammary neoplasms	13
10	seizures	20	40	memory disorders	12
11	neoplasm metastasis	20	41	hypotension	12
12	diabetes mellitus	20	42	epilepsy	12
13	colonic neoplasms	20	43	disease progression	12
14	schizophrenia	20	44	atherosclerosis	12
15	disease models, animal	19	45	anxiety disorders	11
16	lung neoplasms	19	46	kidney diseases	11
17	adenocarcinoma	19	47	acute kidney injury	11
18	endometriosis	18	48	diabetes mellitus, type 2	11
19	hyperalgesia	18	49	pain	11
20	carcinoma	18	50	melanoma	11
21	colorectal neoplasms	18	51	brain ischemia	11
22	asthma	17	52	liver neoplasms	11
23	neoplasm invasiveness	17	53	alzheimer disease	10
24	inflammation	17	54	nervous system diseases	10
25	heart failure	16	55	cardiomegaly	10
26	myocardial Ischemia	16	56	weight gain	10
27	cell transformation, neoplastic	16	57	bipolar disorder	10
28	cocaine-related disorders	16	58	infertility, male	10
28	amphetamine-related disorders	15	59	pancreatic neoplasms	10
30	nerve degeneration	15			

2.4 红景天传统功效归经相关 Q-Marker 预测分析

中药有效性是筛选 Q-Marker 的重要前提，而 Q-Marker 是评价和控制中药有效性的主要指标，二者之间存在着必然的联系^[38-39]。根据 Q-Marker 的定义、基本原则和要求，本研究结合红景天类药性化合物网络药理学分析得到的作用组织定位和疾病富集结果，从红景天传统归经功效主治的角度综合分析其潜在的 Q-Marker。

功效主治是中药有效性的概括，也是临床用药的主要依据。红景天始载于《四部医典》^[1]，《晶珠本草》^[2]记载“其性凉，可清肺热，治脉病”。《中国藏药（第三卷）》^[40]记载“味甘苦涩，性凉；功效养肺，清热，滋补元气”。藏医理论认为，因红景天性凉，可清肺，偏治黑脉病。脉病分为白脉病和黑脉病，其中黑脉病即指现代医学中动脉等血液循环系统疾病。《本草纲目-草部》第 20 卷注明红景天为“本草上品”，具有扶正固本、益气养血、清热润肺、健脑益智等功效^[41]。《中国药典》2020 版一部记载其归肺、心经，具有益气活血、通脉平喘的功效，主治气虚血瘀、胸痹心痛、中风偏瘫、倦怠气喘等疾病。上述传统文献和现代考证均表明，红景天归肺、心经，可治疗肺部及心血管方面疾病。

根据表 2 中红景天类药性化合物疾病富集结果，发现富集到心脑血管系统和呼吸系統性疾病与红景天“清肺热，治脉病”传统功效相符，如涉及高血压、脑缺血、心肌缺血、动脉粥样硬化、心衰等心脑血管疾病与“治脉病”“益气活血，通脉”功效相符；干预哮喘等与其“清肺热”“平喘”功效相通。因此，根据 Q-Marker 定义和要求，选择上述与传统功效主治（清肺热，治脉病）相符的疾病，反向匹配，找到作用于该类疾病的 69 个靶点以及相应的 61 个成分，并构建“功效-疾病-靶点-成分”网络（图 5）。

通过对网络节点分析发现，同时具有“清肺热，治脉病”的靶点有 12 个，包括 5-脂氧合酶（5-lipoxygenase, ALOX5）、前列腺素内过氧化物合成酶 1（prostaglandin-endoperoxide synthase 1, PTGS1）、PTGS2、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）、蛋白磷酸酶 2 催化亚基 α （protein phosphatase2 catalytic subunit α , PPP2CA）、基质金属蛋白酶 9（matrix metalloproteinase 9, MMP9）、白细胞介素-1 β （interleukin-1 β , IL1B）、 β 2 型肾上腺素受体（ β 2 adrenergic receptor, ADRB2）、转化生长因子- β 1（transforming growth factor- β 1, TGF β 1）、磷酸二酯酶 4B（phosphodiesterase 4B,

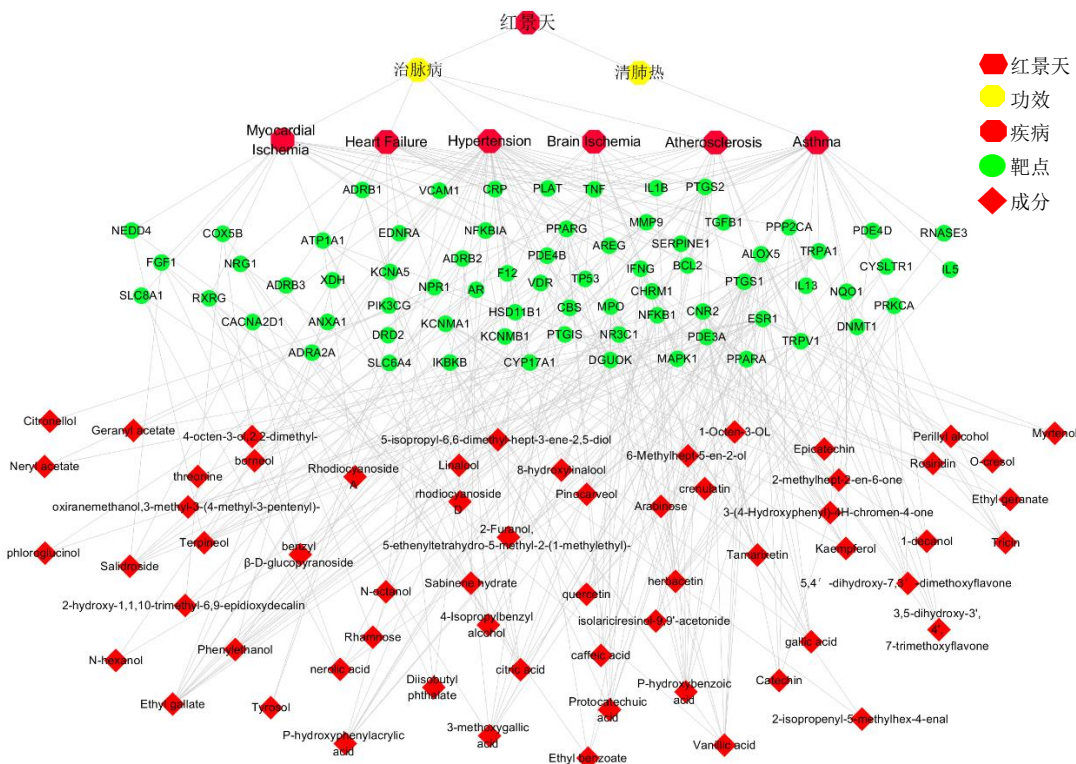


图 5 红景天“功效-疾病-靶点-成分”网络
Fig. 5 “Efficacy-disease-target-compound” network of *R. crenulata*

PDE4B)、双调蛋白(amphiregulin, AREG)、B 淋巴细胞瘤 2(B-cell lymphoma 2, BCL2)。ALOX5 是白三烯(leukotrienes, LT)生物合成主要底物, LT 是炎症反应的脂质介质,与哮喘和动脉粥样硬化有关^[42]; Liu 等^[43]临床研究报道了 ALOX5 与缺血性卒中风险增加显著相关,红景天可能是通过干预 ALOX5 来介导炎症反应,从而发挥功效相关的治疗作用。PTGS 表达与细胞铁死亡密切相关,且具有促炎和抗炎的双重作用,在组织缺血/再灌注损伤中表达显著,红景天可能是通过调节 PTGS 发挥治脉病的作用。Lee 等^[44]报道红景天提取物可抑制 IL-1 β 和 TNF 的生成减轻神经炎症反应。McMillin 等^[45]发现 TGF- β 1 可促进 MMP9 的表达增加血脑屏

障透过性,由此推测红景天可能通过对二者的调节以发挥功效相关作用。Simats 等^[46]研究发现大鼠急性脑缺血后脑组织中 AREG 表达相对升高,红景天提取物可能通过回调其表达发挥作用。综上,红景天可通过调节上述靶点发挥传统功效相关作用,且多以发挥抗炎作用产生治疗效果。此外,同时具有“清肺热,治脉病”的成分 31 个,根据成分作用靶点频数排序的前 15 个类药性化合物为没食子酸乙酯、对羟基苯甲酸、红景天苷、没食子酸、咖啡酸、香草酸、柠檬酸、3-甲氧基没食子酸、原儿茶酸、4-羟基肉桂酸、苯乙醇、儿茶素、小麦黄素、草质素、表儿茶素(表 3),可作为与红景天“清肺热,治脉病”功效相关的候选 Q-Marker。

表 3 红景天“清肺热、治脉病”作用靶点频数前 15 个类药性化合物

Table 3 Fifteen drug-like compounds of *R. crenulata* in clearing lung heat and treating pulse disease

序号	化合物英文名称	化合物中文名称	分子式	作用靶点频数
1	ethyl gallate	没食子酸乙酯	C ₉ H ₁₀ O ₅	4
2	p-hydroxybenzoic acid	对羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	4
3	citric acid	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	3
4	salidroside	红景天苷	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	3
5	gallic acid	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	3
6	vanillic acid	香草酸	C ₈ H ₈ O ₄	3
7	3-methoxygallic acid	3-甲氧基没食子酸	C ₈ H ₁₀ O ₆	3
8	caffeic acid	咖啡酸	C ₉ H ₈ O ₄	3
9	protocatechuic acid	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	3
10	p-hydroxyphenylacrylic acid	4-羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	3
11	phenylethanol	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	3
12	catechin	儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	2
13	tricin	小麦黄素	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	2
14	herbacetin	草质素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	2
15	epicatechin	表儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	2

2.5 基于成分特有性的 Q-Marker 预测分析

红景天系景天科红景天属植物大花红景天的干燥根及根茎,为中医和藏医常用药材。红景天属植物全世界共 90 多种,我国共计有 73 种、2 个亚种、7 个变种,主要以青藏高原等西部海拔 2500 m 以上高寒地区种类分布最多^[47]。红景天属植物含有的化学成分包括酚酸类、黄酮类、多糖类、萜类、氨基酸、微量元素等,已报道有 280 多个^[48]。其中酚酸类为红景天属的主要药效成分,也是重要的化学标志物和次生代谢产物。藏药红景天及其常用近缘品种虽具有相似的化学成分,如均含有红景天苷、酪醇等成分,但在化学成分种类及含量上存在差异性^[49]。Li 等^[50]采用 ¹H-NMR 和 HPLC 法对大花红景天、狭叶红景天和长鞭红景天成分进行研究,发现 3 种不同红景天的主要差异成分包括红景天苷、酪醇、没食子酸、咖啡酸等,且大花红景天以

上 4 种次生代谢产物的含量均显著高于其它 2 种。因此,上述成分可作为藏药红景天特有成分,具有一定的特征性。

2.6 基于质量传递与溯源的 Q-Marker 预测分析

建立全程质量控制体系是中药 Q-Marker 的应用价值。中药及其产品的形成经历了采收加工、炮制、提取精制、制剂工艺制备和药物传输储存等多个环节,到作用人体还要经过体内代谢过程,整个药物从形成到发挥作用历经了无数个传递与变化^[7]。因此,辨识和监测中药形成及作用全程中的化学物质组及其变化规律,从中筛选出并建立可统领质量控制体系的 Q-Marker 是非常有必要的。

红景天中富含酚酸类、黄酮类、萜类和氨基酸类成分。本课题组前期采用 TLC、HPLC 以及 UV-Vis 法对不同施肥量、采收期和加工方式的大花红景天化学成分进行定性和定量分析,通过对总酚、总黄

酮和总多糖以及没食子酸、红景天苷、酪醇、没食子酸乙酯 4 种成分的测定,建立了红景天栽培、采收加工的最佳条件^[51]。同时,采用 UHPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱仪,鉴定了红景天药材提取液中 56 个成分,同时也鉴别了外翻肠囊法模拟的体内肠吸收液中成分 47 个,包括红景天苷、酪醇、没食子酸、没食子酸乙酯、儿茶素、山柰素、山柰酚、咖啡酸、原儿茶酸、香草酸等化合物^[52]。除此之外,大量文献揭示了红景天药动学和体内过程,报道了红景天吸收入血成分及体内代谢成分^[53]。Han 等^[54]从红景天药材中鉴别的 65 种成分,其中 24 个成分可以在 ig 大花红景天的大鼠血浆中检测到,包括红景天苷、大花红景天素、槲皮素、rosiridin、triandrin 等。刘凯等^[55]从阿尔茨海默症模型大鼠血中检测到大花红景天成分 42 个,包括 19 个原型成分(红景天苷、rosin、triandrin 等)和 23 个相关代谢产物(原型为红景天苷、没食子酸乙酯、大花红景天素等)。于浩楠等^[56]从红景天颗粒中测得 49 个化学成分,大鼠 ig 后血中移行成分 26 个,包括 4 个原型成分(红景天苷、rhodiololide E、rhodiocyanoside 和 kenposide A)和 22 个代谢产物(原型为红景天苷、咖啡酸、没食子酸乙酯、槲皮素、山柰酚等)。结合本研究 ADMET 成分的预测分析与上述报道的红景天药材或成药的血中移行成分,推测红景天苷、大花红景天素、槲皮素、没食子酸乙酯、咖啡酸等可能是红景天发挥药理作用的直接成分。

2.7 基于成分可测性的 Q-Marker 预测分析

化学成分可测性是中药 Q-Marker 确定要素之一。酚酸类及其衍生物为作为红景天主要活性成分,包括红景天苷、酪醇、没食子酸等成分通常作为红景天及其成药含量测定评价指标。本课题组前期已开展了大量红景天成分含量测定研究,包括针对不同品种红景天、不同的采收期以及不同加工方式的红景天及其复方多血康胶囊中共有成分的定量检测,其中可测的化合物有红景天苷、酪醇、没食子酸、没食子酸乙酯、咖啡酸^[51,57-59]。除此之外,红景天中部分微量黄酮类成分也通过 HPLC、MS 等技术进行了含量测定。张杰等^[60]采用 HPLC-DAD 法测定不同产地红景天中 ternatumoside II、红景天欧素、红景天宁、草质素、山柰酚、大花红景天素等 6 个黄酮类成分。赵亮等^[61]采用 LC-MS 对红景天中草质素、芦丁和山柰酚进行测定。综上所述,

红景天中这些酚酸类和黄酮类成分符合 Q-Marker “可测性”的内涵,可作为其候选 Q-Marker。

2.8 基于复方配伍环境的 Q-Marker 预测分析

复方是中药临床应用的主要形式。同一药材在不同复方配伍中发挥作用和药效物质也有一定的差异性。因此,中药 Q-Marker 应从组方配伍环境出发,根据临床应用最终效应成分及临床表达形式来确定。甘昌胜等^[62]研究发现不同配方的复方红景天和红景天单方均具有很好的抗疲劳效果,其中配方三组效果最显著,表明复方配伍后可增强红景天的作用。刘桂花等^[63]通过测定景红颗粒复方中红景天苷等含量变化,优化了该方的提取工艺。肖凤琴等^[64]以红景天苷等成分提取率为指标,优选的复方红参丹富氧分散片的最佳提取工艺,并对活性进行评价。张婷等^[65]测定了复方景川片中君药红景天主要成分红景天苷和没食子酸,二者具有很好的抗炎、抗氧化、防治心血管系统疾病、神经系统性疾病和肿瘤等作用。吕秀梅等^[57]在明确红景天复方多血康胶囊化学组成的基础上,建立了红景天苷、酪醇、没食子酸等成分含量测定方法,初步揭示多血康胶囊药效物质基础。综合上述复方分析,可将复方中主要成分红景天苷、酪醇、没食子酸等作为红景天候选 Q-Marker。

3 结语

中药 Q-Marker 理论是以中医药理论为基础建立的,其中“有效性”是 Q-Marker 的核心要素,是中药质量控制的主要目的和根本目的。中药有效性是对其“药效”(传统功效)、“药性”(性味归经)的概括,药效和药性是中药特有的功能属性,二者从不同角度和层次体现中药物质基础对机体作用的表达,可作为中药“有效性”Q-Marker 的确定依据。此外,中药 Q-Marker 的确定还需要符合特有性、传递与溯源、可测性以及处方配伍 4 个原则。本研究基于 Q-Marker “有效性”核心要素,从藏药红景天传统功效主治“清肺热,治脉病”角度着手,采用类药性分析及网络药理学方法,结合 Q-Marker 定义中其他 4 个原则的文献分析,初步预测红景天潜在 Q-Marker。

初步网络药理学研究发现,红景天中 67 个类药性化合物,作用于 407 个靶点,主要分布作用于肝、肺、心、肾、脑等组织,涉及 1060 种疾病,主要作用疾病 59 种,包括乳腺癌、肝癌、高血压、哮喘、脑缺血、心肌缺血、动脉粥样硬化、心衰、癫痫、

阿尔茨海默病、糖尿病等。根据红景天“清肺热，治脉病”传统功效，上述主要作用疾病中哮喘与“清肺热”功效相关，高血压、脑缺血、心肌缺血、动脉粥样硬化和心衰与“治脉病”功效相关。在此相关性基础上建立的红景天“功效-疾病-靶点-成分”网络节点分析发现，同时具有“清肺热，治脉病”的功能靶点 12 个，包括 ALOX5、PTGS1、PTGS2、TNF、PPP2CA、MMP9、IL1B、ADRB2、TGFB1、PDE4B、AREG、BCL2；同时具有“清肺热，治脉病”的成分 31 个，根据成分作用靶点频数进行排序，前 15 个成分为没食子酸乙酯、对羟基苯甲酸、红景天苷、没食子酸、咖啡酸、香草酸、柠檬酸、3-甲氧基没食子酸、原儿茶酸、4-羟基肉桂酸、苯乙醇、儿茶素、小麦黄素、草质素、表儿茶素。

根据中药 Q-Marker 定义，结合上述预测结果与其他 4 个原则文献分析，得到红景天“清肺热，治脉病”功效相关的主要候选 Q-Marker，包括没食子酸乙酯、红景天苷、没食子酸、草质素、咖啡酸、儿茶素、原儿茶酸、香草酸等。但以上 Q-Marker 为初步预测结果，后期可开展进一步验证研究，包括功效相关药理学、相关正常或病理情况下药物体内药动学过程等方面研究，以确定红景天传统功效关联性 Q-Marker，并建立可行的质量分析和评价方法，为健全红景天质量控制体系提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 宇妥·云登贡布. 四部医典(藏文) [M]. 拉萨: 西藏人民出版社, 1982: 105.
- [2] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 108.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 161.
- [4] 李学军, 许海玉. 网络药理学与中药研究 [J]. 药学报, 2018, 53(9): 1385-1386.
- [5] 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.
- [6] 彭任, 陆兔林, 胡立宏, 等. 中药饮片质量标志物(Q-marker) 研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2603-2610.
- [7] 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.
- [8] 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): 187-196.
- [9] 杨宁娟, 刘妍如, 唐志书, 等. 基于“质量标志物-生物活性”关联分析评价丹参的等级 [J]. 中草药, 2021, 52(4): 1135-1142.
- [10] Zhang H, Wu X, Xu J, et al. The comparative pharmacokinetic study of Yuanhu Zhitong prescription based on five quality-markers [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 148-154.
- [11] Chen T B, Zuo Y H, Dong G T, et al. An integrated strategy for rapid discovery and identification of quality markers in Guanxin Kangtai preparation using UHPLC-TOF/MS and multivariate statistical analysis [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 239-246.
- [12] 王琼琚, 谢伟容, 邵艳妮, 等. 基于 Q-Marker 成分定性与定量的双黄连制剂质量评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18): 36-46.
- [13] 周秀娟, 李燕芳, 陈莹, 等. 基于 UPLC-Q Exactive 四级杆-轨道阱液质联用法快速建立清热灵颗粒中潜在中药质量标志物(Q-Marker) 成分库 [J]. 中草药, 2017, 48(1): 67-74.
- [14] Wang X J, Zhang A H, Kong L, et al. Rapid discovery of quality-markers from Kaixin San using chinmedomics analysis approach [J]. *Phytomedicine*, 2019, 54: 371-381.
- [15] 杨静, 江振作, 柴欣, 等. 中药注射液“Q-Markers”的辨析研究: 丹红注射液研究实例 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(12): 2056-2061.
- [16] 李欢欢, 林丽, 郭爽, 等. 基于网络药理学及定性定量研究的甘草质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2680-2688.
- [17] 赵鹿, 廖翠萍, 杨秀娟, 等. 诃子的研究进展及质量标志物的预测 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2732-2744.
- [18] He J, Feng X, Wang K, et al. Discovery and identification of quality markers of Chinese medicine based on pharmacokinetic analysis [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 182-186.
- [19] 张慧娟, 龚苏晓, 许浚, 等. 泽泻药材的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4741-4751.
- [20] 许姗姗, 许浚, 张笑敏, 等. 常用中药陈皮、枳实和枳壳的研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 35-44.
- [21] 姚奕, 许浚, 黄广欣, 等. 香薷的研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2661-2670.
- [22] Guo R, Zhang X, Su J, et al. Identifying potential quality markers of Xin-Su-Ning capsules acting on arrhythmia by integrating UHPLC-LTQ-Orbitrap, ADME prediction and network target analysis [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 117-128.
- [23] 李春霞, 何巧玉, 刘静, 等. 基于网络药理学和多元统计分析的黄连质量标志物预测分析 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2718-2727.
- [24] 郭锐, 苏瑾, 李志雄, 等. 基于网络药理学及 ADME 预测分析血脂灵片治疗血脂异常的 Q-marker [J]. 中成药, 2019, 41(1): 63-69.
- [25] 王萍, 唐仕欢, 苏瑾, 等. 基于整合药理学的中药现代研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(7): 1297-1302.
- [26] 张铁军, 许浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物(Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.
- [27] 李涛, 葛志乐, 张浩. 大花红景天的化学成分研究 [J]. 华西药学杂志, 2012, 27(4): 367-370.
- [28] 杨榼楠, 冯子明, 姜建双, 等. 大花红景天中化学成分的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(6): 410-413.

- [29] 袁雷, 钟国辉, 权红, 等. 西藏大花红景天挥发油成分 GC-MS 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 67-70.
- [30] 倪付勇, 谢雪, 刘露, 等. 大花红景天黄酮类化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(2): 214-218.
- [31] Zhou J J, Xie G R, Yan X J. *Encyclopedia of traditional Chinese medicines-molecular structures, pharmacological activities, natural sources and applications* [M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011: 313.
- [32] 温时媛, 周江韬, 陈燕燕, 等. 红景天药材的 ¹H-NMR 指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(13): 2629-2633.
- [33] 霍佳丽, 王建华, 吴志军, 等. 新疆大花红景天化学成分的 HPLC-MS 研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(10): 1405-1407.
- [34] 田盛. 基于中药资源的计算机辅助药物分子设计 [D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [35] 孔庆雅. 类药性质研究: 药物关键理化性质和结构的统计与分析 [D]. 上海: 华东理工大学, 2015.
- [36] 李海燕. 基于结构预测药物口服吸收/肝清除及生物利用度 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.
- [37] 陆榕. 生物分配胶束色谱及其用于评价药物膜转运 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009.
- [38] 熊亮, 彭成. 基于中药质量标志物 (Q-Marker) 的基本条件研究益母草和赶黄草的 Q-Marker [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2212-2220.
- [39] 侯小涛, 郝二伟, 秦健峰, 等. 肉桂的化学成分、药理作用及质量标志物 (Q-marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 20-34.
- [40] 青海省药品检验所. 中国藏药第三卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996: 372.
- [41] 龙继红. 红景天属植物药用研究进展 [J]. 中国药品标准, 2007, 8(1): 11-14.
- [42] Gilbert N C, Gerstmeier J, Schexnaydre E E, et al. Structural and mechanistic insights into 5-lipoxygenase inhibition by natural products [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(7): 783-790.
- [43] Liu D, Liu L, Song Z, et al. Genetic variations of oxidative stress related genes ALOX5, ALOX5AP and MPO modulate ischemic stroke susceptibility through main effects and epistatic interactions in a Chinese population [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(4): 1588-1602.
- [44] Lee Y, Jung J C, Jang S, et al. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of constituents isolated from *Rhodiola rosea* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 514049.
- [45] McMillin M A, Frampton G A, Seiwel A P, et al. TGFβ1 exacerbates blood-brain barrier permeability in a mouse model of hepatic encephalopathy via upregulation of MMP9 and downregulation of claudin-5 [J]. *Lab Invest*, 2015, 95(8): 903-913.
- [46] Simats A, García-Berrocoso T, Ramiro L, et al. Characterization of the rat cerebrospinal fluid proteome following acute cerebral ischemia using an aptamer-based proteomic technology [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7899.
- [47] 王爱玲, 曲玮, 梁敬钰. 红景天属植物化学成分及药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2014, 26(1): 1-8.
- [48] Tao H, Wu X, Cao J, et al. *Rhodiola* species: A comprehensive review of traditional use, phytochemistry, pharmacology, toxicity, and clinical study [J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(5): 1779-1850.
- [49] 吕秀梅, 李艳, 范刚, 等. 藏药红景天及其常用近缘品种研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(7): 1698-1701.
- [50] Li X H, Wang X B, Hong D X, et al. Metabolic discrimination of different *Rhodiola* species using ¹H-NMR and GEP combinational chemometrics [J]. *Chem Pharm Bull*, 2019, 67(2): 81-87.
- [51] 赵彩云. 不同施肥量、采收期和加工方式对藏药大花红景天化学成分的影响 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [52] 范芳芳. 藏药大花红景天抗氧化应激药效物质辨识研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [53] 赵亮. 红景天活性成分的含量测定及缺氧对主成分药代动力学影响 [D]. 北京: 首都医科大学, 2017.
- [54] Han F, Li Y, Ma L, et al. A rapid and sensitive UHPLC-FT-ICR MS/MS method for identification of chemical constituents in *Rhodiola crenulata* extract, rat plasma and rat brain after oral administration [J]. *Talanta*, 2016, 160: 183-193.
- [55] 刘凯, 褚晓文, 王雪, 等. HPLC-FT-ICR MS 法研究中药大花红景天在阿尔茨海默模型大鼠血中的移行成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(1): 28-39.
- [56] 于浩楠, 马丽娟, 黄坚, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术分析红景天颗粒的化学成分及大鼠口服后的入血成分 [J]. 上海中医药大学学报, 2021, 35(1): 61-73.
- [57] 吕秀梅. 藏药红景天及其复方多血康胶囊提取工艺与质量分析研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [58] 吕秀梅, 范芳芳, 文检, 等. HPLC 法同时测定 3 种红景天药材中 5 种化学成分的含量 [J]. 中国药房, 2018, 29(18): 2515-2519.
- [59] 文检, 赵彩云, 唐策, 等. UPLC 测定大花红景天中 5 种化学成分的含量 [J]. 中药材, 2018, 41(1): 151-154.
- [60] 张杰, 金诗雪, 耿冰, 等. HPLC-DAD 法测定不同产地红景天中 6 个黄酮类成分 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4253-4256.
- [61] 赵亮, 齐特, 葛贝康, 等. UPLC-MS/MS 法测定红景天提取物中 6 种活性成分的含量 [J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(5): 975-979.
- [62] 甘昌胜, 王珊珊, 李鸿, 等. 复方红景天缓解体力疲劳活性的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(8): 134-141.
- [63] 刘桂花, 王云飞, 于宁, 等. 基于多指标权重分析和正交设计法优选红景天颗粒复方提取工艺 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(10): 1178-1184.
- [64] 肖凤琴, 弓佩含, 刘玉婷, 等. 响应面法优选复方红参丹富氧分散片的最佳提取工艺及活性研究 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(4): 1780-1785.
- [65] 张婷, 刘庆焕, 王文彤. UHPLC-ESI-MS/MS 测定复方景川片中 6 种成分的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(11): 1627-1631.