

基于分子连接性指数相似度探讨归肺和大肠经中药成分“印迹模板”的分布特征及实验验证

贺琪珺^{1,3}, 盛丹丹^{2,3#}, 陈泽^{2,3}, 周敏^{2,3}, 周欣^{2,3}, 梁紫珊^{2,3}, 陈定芳^{2,3,4}, 贺福元^{2,3,4,5,6*}

1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

2. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

3. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

4. 湖南中医药大学 中药炮制与制剂制备工程技术实验室, 湖南 长沙 410208

5. 湖南中医药大学 中医药超分子机理与数理特征化实验室, 湖南 长沙 410208

6. 中药药性与药效国家中医药管理局重点实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 利用分子拓扑结构探讨归肺和大肠经中药成分“印迹模板”的特征, 并进行实验验证, 确定归肺和大肠经可能的物质基础。方法 以普通高等教育“十三五”国家级规划教材《中药学》为基准, 为排除其他经络如肝经、肾经等混合归经的影响, 对 443 味中药 (不包含附药) 进行归纳且只确定归肺和大肠经中药, 再通过查阅中国知网和中药系统药理学数据库与分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP), 归纳总结出归肺和大肠经中药化学成分, 并对其中相同的化学成分进行整理、删减、合并, 计算分子连接性指数 (molecular connectivity index, MCI); 运用夹角余弦法计算出各成分 MCI 与总体平均 MCI 的相似度, 确定成分部位和对照品; 建立相似度与保留时间的关系, 进行中药与对照品的 HPLC 指纹图谱的印迹性比较, 从而确定归肺和大肠经可能表征的化学结构特征。结果 共获得 11 味中药的 886 种化学成分, 黄酮、蒽醌、鞣质类成分的相似度较高, 且在药材中分布集中, 故选取其中相似度排名依次为 5、8、10、16、40、44、49 的 7 个成分: 大黄素-1-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、3,3'-二甲基鞣花酸-4'-*O*-葡萄糖苷、山柰苷、芦丁、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷, 平均 MCI 的相似度为 0.995 08~0.999 20, 保留时间为 39.63~60.14 min, 基于定量结构-性质关系/定量结构-保留时间关系 (quantitative structure-property relationship/ quantitative structure-retention relationship, QSPR/QSRR) 原理, 对二者进行线性回归, 相关系数 $R=0.866\ 2$ ($P<0.01$); 7 个成分和 9 味药材的总量统计矩的一阶矩的 15% 范围分别为 [44.46 min, 46.50 min]、[39.70 min, 47.08 min], 二者重叠, 则有 85% 把握认为可用 7 个对照品成分表征归肺和大肠经的中药成分的“印迹模板”特征。结论 归肺和大肠经的中药成分可以用黄酮、蒽醌和鞣质类成分进行“印迹模板”特征的表征。

关键词: 中药归经; 肺经; 大肠经; 分子连接性指数; 印迹模板; 相似度; 总量统计矩; 大黄素-1-*O*- β -D-葡萄糖苷; 大黄酚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷; 大黄素-8-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷; 3,3'-二甲基鞣花酸-4'-*O*-葡萄糖苷; 山柰苷; 芦丁; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷
中图分类号: R284; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)11-3622-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.11.023

Distribution characterization and experimental verification of “imprinted templates” of traditional Chinese medicine components attributed to lung and large intestine meridian tropism based on molecular connectivity index similarity

HE Qi-jun^{1,3}, SHENG Dan-dan^{2,3}, CHEN Ze^{2,3}, ZHOU Min^{2,3}, ZHOU Xin^{2,3}, LIANG Zi-shan^{2,3}, CHEN Ding-fang^{2,3,4}, HE Fu-yuan^{2,3,4,5,6}

1. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

收稿日期: 2023-02-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82274215); 湖南省大学生创新创业训练计划项目 (S202110541027); 湖南省重点研发计划 (2022SK2014); 湖南省自然科学基金和科药联合基金项目 (2022JJ30453, 2021JJ80058)

作者简介: 贺琪珺, 2021 级硕士研究生, 从事心脑血管疾病防治研究。E-mail: 844645407@qq.com

*通信作者: 贺福元, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化的研究工作。

Tel: (0731)88458230 13787213681 E-mail: pharshmsharking@163.com

#共同第一作者: 盛丹丹, 女, 2018 级本科生。Tel: 19174153245 E-mail: 1940242269@qq.com

2. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
3. Hunan Key Laboratory of Drugability and Preparation Modification of TCM, Changsha 410208, China
4. Laboratory of TCM Processing and Pharmaceutical Preparation Engineering Technology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
5. Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
6. Key Laboratory of Property and Pharmacodynamic of TCM, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective The molecular topological structures of “imprinted template” of traditional Chinese medicine (TCM) components attributed to lung and large intestine meridian tropism were explored, and the possible material bases were verified experimentally. **Methods** Based on the *Traditional Chinese Pharmacology*, as a textbook of the 13th Five-Year national planning for general higher education, 443 flavors of TCMs (excluding accompanying drugs) were investigated to screen out the TCMs attributed to lung and large intestine meridian tropism. By consulting CNKI and Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) database, the chemical components of TCMs attributed to lung and large intestine meridian tropism were collected, and the same chemical components were deleted and integrated. Their molecular connectivity indexes (MCI) were calculated out in matrix, of which the similarity of each component versus total averages were calculated by the intersection angle cosine method. The components and their fraction were ranked according to the similarity, and from them selecting referent substances. The relationship between similarity and retention time was established to compare the imprinting of HPLC fingerprints of TCMs and referent substances, so as to determine the possible chemical structure characteristics attributed lung and large intestine meridian. **Results** A total of 886 chemical components were obtained from 11 flavors of TCMs. The flavonoids, anthraquinones and tannins were highly similar and concentrated in the medicinal materials, among which the seven components (emodin-1-*O*- β -D-glucoside, chrysophanol-8-*O*- β -D-glucoside, emodin-8-*O*- β -D-glucopyranoside, 3,3'-dimethyl ellagic acid-4'-*O*-glucoside, kaempferol, rutin, kaempferol-3-*O*-rutoside) were selected with similarity ranking of 5, 8, 10, 16, 40, 44, 49, with the similarity to MCI in average as 0.995 08 to 0.999 20, were studied chromatographically, and their retentive times were from 39.63 min to 60.14 min. Based on the principle of quantitative structure-property relationship/ quantitative structure-retention relationship (QSPR/QSRR), the linear regression was conducted between the MCI and retentive times, as a result that there were a good correlation coefficient of $R = 0.866\ 2$ ($P < 0.01$). The first-order moments of the total statistical moments for the seven chemical components to the nine flavors of TCMs were in the interval of [44.46 min, 46.50 min] to [39.70 min, 47.08 min] in possibility of 15% correspondingly, and their intervals were overlapped. There was 85% confidence that seven reference components could be used to characterize the “imprinting template” characteristics of TCM components attributed to lung and large intestine meridian tropism. **Conclusion** Flavonoids, anthraquinone and tannic acid can be used to characterize the “imprinting template” characteristics of the TCM components of lung and large intestine meridian tropism.

Key words: traditional Chinese medicine meridian; lung meridian; intestine meridian; molecular connectivity index; imprint template; similarity; total statistical moment; emodin-1-*O*- β -D-glucoside; chrysophanol-8-*O*- β -D-glucoside; emodin-8-*O*- β -D-glucopyranoside; 3,3'-dimethyl ellagic acid-4'-*O*-glucoside; kaempferol; rutin; kaempferol-3-*O*-rutoside

中药归经理论最早见于《黄帝内经》，归即归属，指药物作用的归属；经即人体的脏腑经络；归经即药物作用的定位，就是将药物的作用与人体的脏腑经络密切联系起来，以说明药物作用对机体某部分的选择性。因此，利用中药归经理论可引药上升、下降、达表、入里，直达病所^[1]。肺与大肠通过“立体多维”的经络循行构成表里关系，其中任何一方功能失调，都会波及到对方^[2]。然这种作用关系可通过只归肺经中药成分客体“印迹模板”的拓扑结构特征得到探知，因此展开归肺和大肠经中药成分

的“印迹模板”特征分布分析，对探讨肺经与大肠经的表里关系具有重大的意义。

人和中药都是巨复超分子，各种分子按“印迹模板”形成超分子聚集体^[3]。在这个过程中，各种分子通过自组织、自组装、自识别与自复制作用逐级形成巨复超分子，母体必然保留子体的“印迹模板”特征，关联表里内外、上下左右形成经络脏腑^[4]。因此，通过探索中药与人体之间相互匹配的“印迹模板”特征，就有可能阐明中药归经理论，从而揭示中医经络“印迹模板”物质基础特征。

定量结构-性质关系/定量结构-保留时间关系 (quantitative structure-property relationship/quantitative structure-retention relationship, QSPR/QSRR) 是运用数学统计分析和应用化学理论计算方法, 建立数学模型来定量地描述和研究有机物的结构与性质或保留时间之间的对应关系, 已于 1977 年开始陆续在色谱学中得到应用。在缺乏对照品, 也没有可以利用的相对保留时间可参考的情况下, 人们希望能通过利用药物结构参数或某些容易获得的物化性能参数来预测药物色谱保留时间, 于是建立了 QSPR/QSRR 法^[5]。该方法同样可用于中药成分与人体经络脏腑作用关系的研究, 解决中药归经难以阐释这个问题^[6]。由于 QSPR/QSRR 可表征中药成分结构与色谱印迹行为, 同样也能表征中药成分结构与人体定量作用规律, 可将中药对人体归经的作用规律研究转移至体外对色谱学行为规律的研究^[7-8], 将极大地化简中药归经研究的难度。

本研究以全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材《中药学》为基本标准, 从 443 味中药中归纳只归肺和大肠经的 11 味药, 分别是番泻叶、罗汉果、紫苏子、马兜铃、胖大海、苦杏仁、皂荚、金沸草、诃子、石榴皮、松子仁。先对其所含成分的化学结构进行类别分析, 并对其中相同成分进行整理、删减、合并, 最终共获 886 种中药成分。再计算出 0~8 阶分子连接性指数 (molecular connectivity index, MCI), 汇总成各类别的 MCI 信息^[9], 并与其平均值进行相似度比较, 按相似度高低排序获得归肺和大肠经成分类型和对照品, 并对 MCI 相似度与对照品保留时间进行线性回归, 获得印迹参数; 利用 QSPR/QSRR 原理对比分析中药与对照品的印迹参数重叠, 将中药对人体的归经印迹研究转移至体外的色谱印迹研究, 简化并创立中药归经体外研究方法, 为人体经络“印迹模板”空间结构的物质基础研究奠定基础^[10]。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Acquity UPLC H-Class 系统、四元溶剂泵、自动进样装置、在线真空脱气装置、PDA 检测器、Empower 3 色谱工作站、柱温箱 (以上均来自美国沃特世公司); RE-2000A 旋转蒸发器 (巩义市中天仪器科技有限公司); SHB-III A 循环水式多用真空泵 (北京市中兴伟业仪器有限公司); DZTW 调温电热套 (北京市永光明医疗仪器有限公司); 1000C 多

功能粉碎机 (永康市玖蓝五金制品有限公司); JCS-31002C 电子天平 (哈尔滨众汇衡器有限公司); HH 数显恒温水浴锅 (金坛市金城国胜实验仪器厂); SB-5200DTD 超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); DZF-6050 型真空干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司)。

1.2 试药

番泻叶、石榴皮、金沸草、诃子、皂荚、罗汉果、胖大海、苦杏仁及紫苏子购于湖南长沙高桥中药材市场, 由湖南中医药大学药学院中药鉴定教研室石继连副教授鉴定, 均符合《中国药典》2020 版一部规定。对照品芦丁 (批号 DSTDL001701)、3,3'-二甲基鞣花酸-4'-O-葡萄糖苷 (批号 DST210420-021)、山柰苷 (批号 DSTDQ-005101)、山柰酚-3-O-芸香糖苷 (批号 DST200619-075)、大黄素-1-O-葡萄糖苷 (批号 DST210425-072)、大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷 (批号 DSTDM000801)、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷 (批号 DST201106-066) 均购于湖南长沙玖弘生物科技有限公司, 以上对照品质量分数均大于 98%; 乙腈 (色谱纯, 美国 TEDIA), 甲酸 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 甲醇 (色谱纯, 美国 TEDIA), 无水乙醇 (分析纯, 湖南汇虹试剂有限公司), 自制纯化水。

2 方法与步骤

2.1 MCI 法

MCI 是由 Kier 和 Hall 等加以发展而形成的一种新的拓扑方法, 最早可以追溯到 1975 年由 Randic 提出。其能够定量描述分子的结构信息^[11-12], 如分支、不饱和度、大小、环和杂原子等, 并充分反映分子的连接信息和化学环境, 是表征分子结构的重要参数。MCI 与分子的多种理化性质 (包括液体沸点、密度、分子极化度、摩尔折射率、分配系数、有机物的水溶性、立体参数等) 及生物效应 (酶抑制活性、抗菌活性、麻醉活性、毒性等) 有关^[13]。本研究采用自编软件计算 0~8 阶 MCI。

$${}^mX_t = \sum_{s=t}^{N_m} \prod_{i=1}^{m+1} (\delta_i)_s^{1/2}$$

mX_t 为 m 阶的 MCI; N_m 为阶数为 m 的 t 类型子图的数目; δ_i 为原子 i 的非原子点价, 即与原子 i 相连接的其他非氢原子数目; t 代表子图类型

随着阶数 m 的增高, mX_t 表达的结构信息能力亦增强, 可获得 $m \times t$ 的矩阵数据信息集。本研究阶数 N_m 为 0~8 阶, 子图类型 t 为 8, 因此能获得 72

个 MCI 数据信息集。对于本研究中两两 72 个 MCI 信息集可按照夹角余弦值计算其相似度。将两矩阵看作是二维数组向量,任意矩阵数组元素 a_{ij} 和 b_{ij} 相似度的公式如下。

$$\cos \theta = \frac{\sum_{i=1}^{N_m} \sum_{j=1}^t (a_{ij} b_{ij})}{\left(\sum_{i=1}^{N_m} \sum_{j=1}^t (a_{ij}^2) \sum_{i=1}^{N_m} \sum_{j=1}^t (b_{ij}^2) \right)^{1/2}}$$

2.2 总量统计矩分析法

总量统计矩分析法是指纹图谱定性、定量分析方法之一,其总量零阶矩表示作用强度,可用于定量分析;总量一阶矩和总量二阶矩表示作用特征,可用于定性分析。本研究基于高效液相色谱理论和统计学方法,对相关的中药成分指纹图谱应用总量统计矩进行评价分析。以零阶矩、一阶矩、二阶矩等参数对图谱性质进行刻画,达到定性、定量分析中药的目的^[14]。总量零阶矩 (AUC_T) 即一定总量下曲线的总响应面积;总量一阶矩 ($MCRT_T$) 为总量中心矩或总量平均保留时间,用 λ_T 表示;总量二阶矩 ($VCRT_T$) 为平均保留时间方差,用 σ_T^2 表示。其中 AUC_T 可用于定量分析, $MCRT_T$ 、 $VCRT_T$ 可用于定性分析。本研究将 MCI 与 HPLC 指纹图谱结合,探讨归肺和大肠经中药成分 MCI 与中药指纹图谱之间的联系,再通过总量统计矩进行实验验证。

2.3 实验步骤

2.3.1 归肺和大肠经中药的收集及其所含成分 MCI 的计算 根据全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材《中药学》,归纳只归肺和大肠经的中药。利用 TCMSP 数据库 (<http://localhost/ce/index.php>) 以及 MCI 计算软件完成各成分 MCI 的计算,再通过 Excel 表的合并计算获得归肺和大肠经中药各类成分的平均 MCI 以及中药的总体平均 MCI。

2.3.2 供试品溶液的制备 分别取单味药材番泻叶、石榴皮、金沸草、诃子、皂荚、罗汉果、胖大海、苦杏仁、紫苏子约 20 g 加入圆底烧瓶,加 8 倍量水回流提取 2 次,每次 1 h,纱网滤过,合并 2 次滤液,趁热抽滤,减压浓缩至浸膏,分别加适量 50% 甲醇超声处理至完全溶解,定容至生药质量浓度为 0.5 g/mL,以 3000 r/min 转速离心 15 min,取上清液过 0.22 μ m 有机滤膜后置液相色谱仪样品瓶中,待测。

2.3.3 对照品溶液的制备 分别取芦丁、3,3'-二甲基鞣花酸-4'-O-葡萄糖苷、山柰苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、大黄素-1-O-葡萄糖苷、大黄酚-8-O- β -D-葡萄

糖苷、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷对照品适量,精密称定 1 mg,置棕色量瓶中,加 50% 甲醇定容至 5 mL,分别制成 0.2 mg/mL 的对照品溶液,并超声处理 5 min,过 0.22 μ m 有机滤膜进置液相色谱仪样品瓶中,待测。

2.3.4 HPLC 测定条件 色谱柱为 Ultimate AQ-C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),流动相为 0.4% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B);梯度洗脱(0~20 min, 100%~95% A; 20~30 min, 95%~90% A; 30~65 min, 90%~75% A; 65~70 min, 75%~55% A; 70~75 min, 55%~100% A)。体积流量为 1.0 mL/min,进样量为 1 μ L,检测波长为 260 nm。

2.4 统计学分析

采用统计描述、相似度和线性回归比较分析样本间的差异。

3 结果

3.1 化学成分频次统计及 MCI 和相似度的计算

从 443 味中药中归纳只归肺和大肠经的 11 味药,分别是番泻叶、罗汉果、紫苏子、马兜铃、胖大海、苦杏仁、皂荚、金沸草、诃子、石榴皮、松子仁。归肺和大肠经中药所含成分种类分布统计如表 1 所示。用 X_p 、 X_{vp} 、 X_c 、 X_{vc} 、 X_{pc} 、 X_{vpc} 、 X_{ch} 、 X_{vch} 分别代表 0~8 阶的路径、点价路径、簇、点价簇、路径簇、点价路径簇、环、点价环的不同连接形式的 MCI,见图 1,并计算各类成分平均 MCI 与总体平均 MCI 的相似度(图 1 中各图标题后的括号内数值为相似度)。

3.2 归肺和大肠经中药成分的拓扑结构相似度

将 886 个成分 MCI 与归肺和大肠经的平均 MCI 逐个进行相似度计算并且进行排序,相似度最高的前 10 位成分是旋覆花内酯、 α -古芸烯、2(R)-(6-甲氧基-4-喹啉基)-[(2R,4R,5S)-5-乙烯基喹啉-2-基]甲醇、($\pm$)-紫苏醛、 β -榄香烯、4-甲氧基苯乙酮、旋覆花内酯 A、旋覆花内酯 B、1,2,3,7-四甲基吡啶、inuviscolide。以上成分多为萜类、苯丙素或生物碱类,对照品不易获得,很难进行实验验证。考虑到黄酮、蒽醌、鞣质类成分平均 MCI 相似度均在 0.95 以上,且主要集中在番泻叶、诃子、石榴皮中,易从中寻找到适宜的归肺和大肠经成分“印迹模板”表征物质。

对表 1 中的 96 个黄酮、蒽醌、鞣质类成分的 MCI 与其平均 MCI 的相似度进行排序,前 10 位成分的 MCI 相似度通过 0~8 阶 MCI 比较的情况分别用 X_p 、 X_{vp} 、

表 1 归肺和大肠经中药所含成分类型分布

Table 1 Type distribution of compositions contained in traditional Chinese medicine attributed to lung and intestine meridian

中药	各类型成分数量/个										合计/个
	蒽醌类	苯丙素类	黄酮类	萜类	鞣质类	甾体类	有机酸类	糖苷类	生物碱类	其他类	
番泻叶	27	2	9	63	1	3	29	7	—	44	185
罗汉果	—	3	3	54	—	4	34	2	13	44	157
紫苏子	—	1	2	34	—	3	30	—	4	27	101
马兜铃	—	—	—	27	—	—	—	3	7	11	48
胖大海	—	—	—	1	1	1	25	—	—	6	34
苦杏仁	—	3	3	7	—	2	16	1	3	26	61
皂荚	—	13	5	9	1	7	—	—	11	32	78
金沸草	—	9	6	10	—	6	1	—	2	3	37
诃子	1	1	—	7	8	3	13	4	9	7	53
石榴皮	—	3	13	5	13	—	24	1	12	17	88
松子仁	—	2	3	18	0	—	9	—	2	10	44
合计	28	37	44	235	24	29	181	18	63	227	886

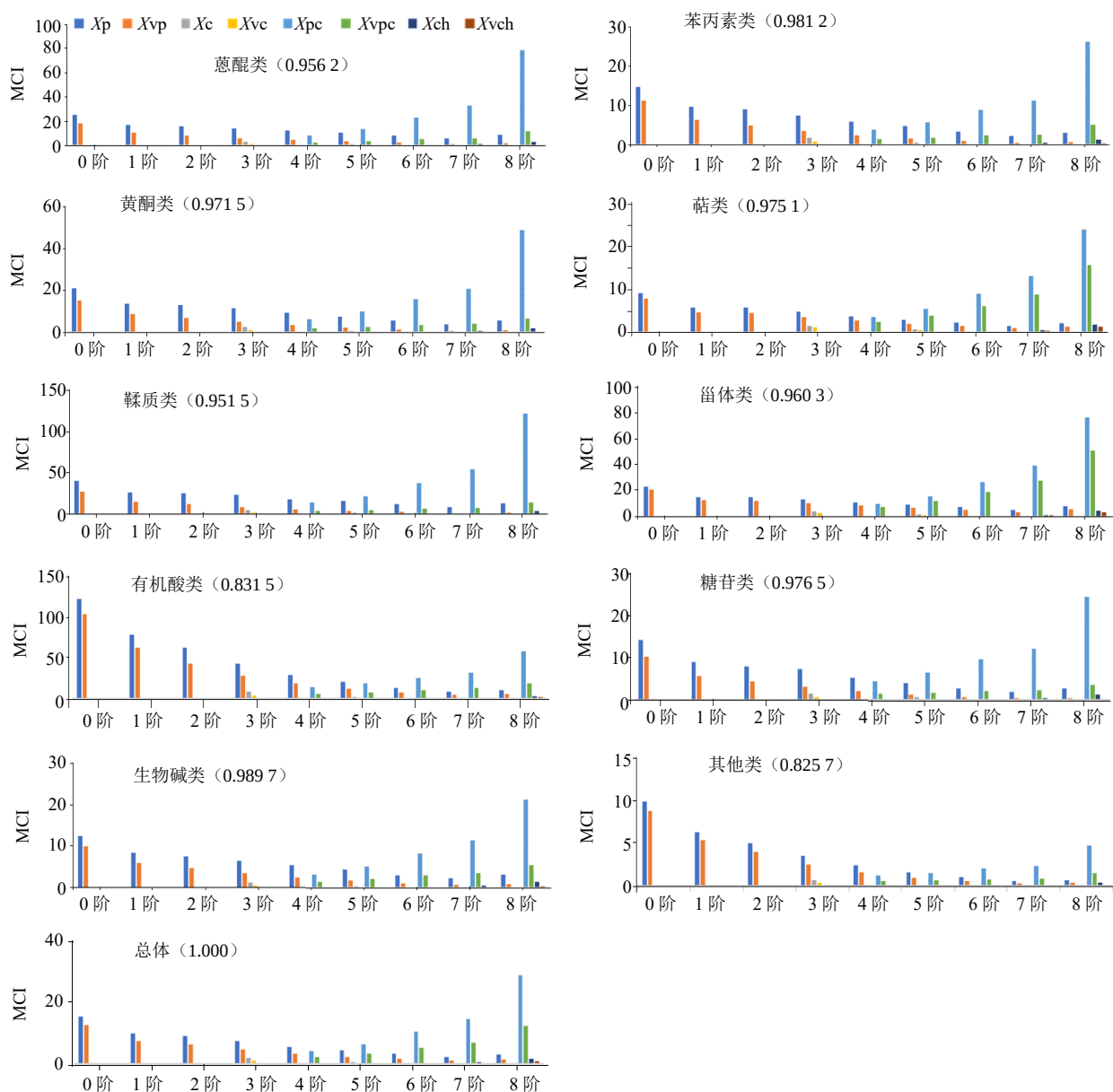


图 1 中药各类成分的平均 MCI 及总体平均 MCI

Fig. 1 Average molecular connectivity index of various components and overall components in traditional Chinese medicine

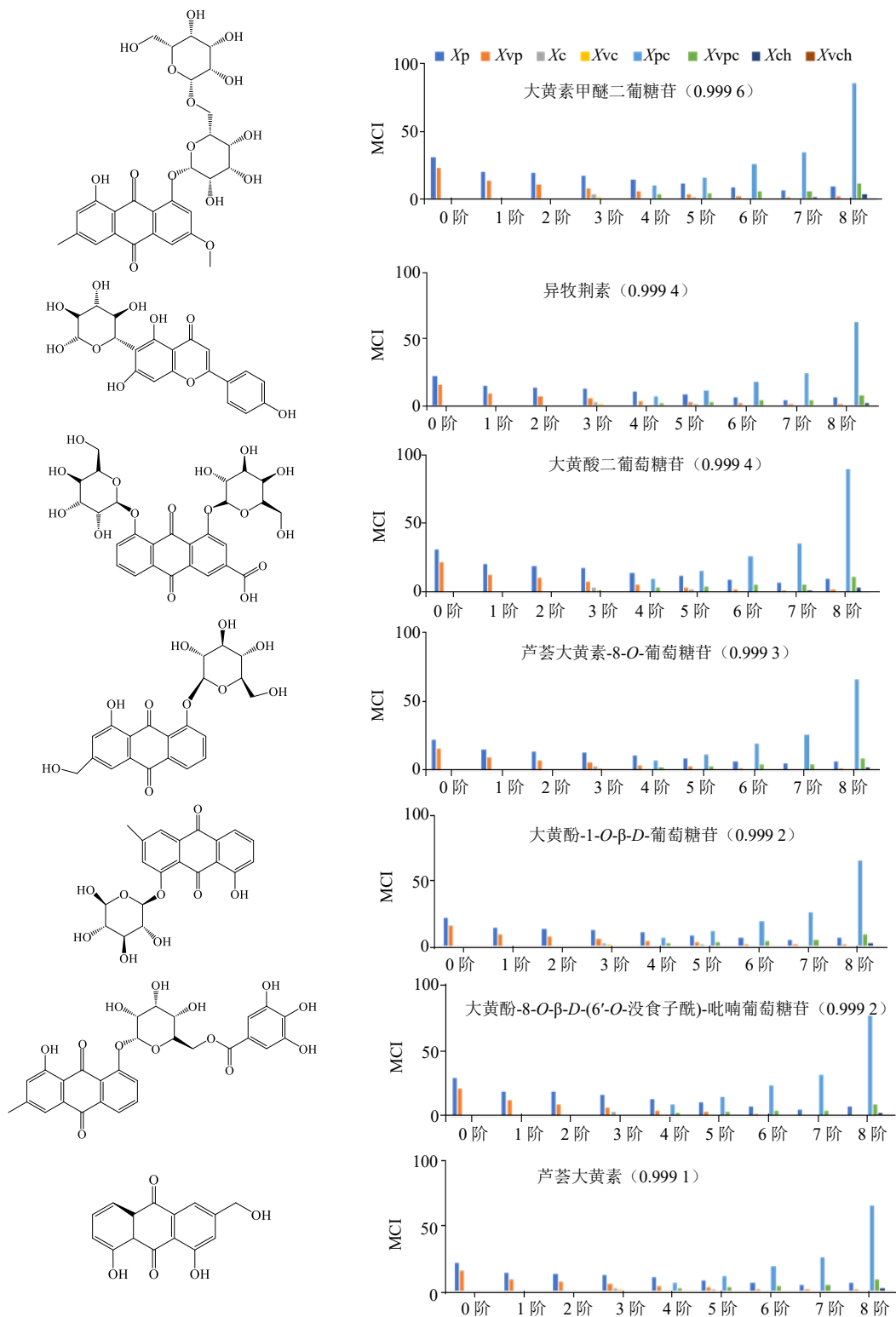
Xc、Xvc、Xpc、Xvp、Xch、Xvch 表示, 见图2。

4 实验验证

4.1 9味药材的HPLC指纹图谱的总量统计矩参数

对番泻叶、诃子、金沸草、皂荚、紫苏子、苦杏仁、罗汉果、胖大海、石榴皮9味归肺和大肠经

的中药(因马兜铃为管制中药, 松子仁在《中国药典》中无收载, 二者未采用)按照“2.3.2”项方法制备供试品溶液, 按照“2.3.4”项下色谱条件进样测定, HPLC图谱如图3所示。再运用中药指纹图谱总量统计矩(相似度)法分析, 获得总量零、一阶、



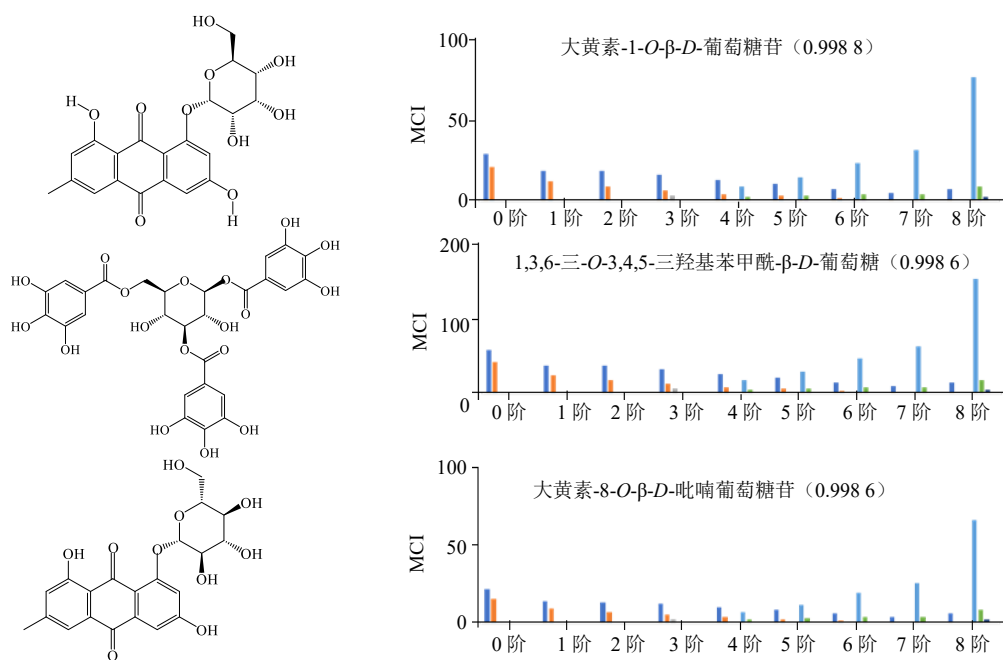
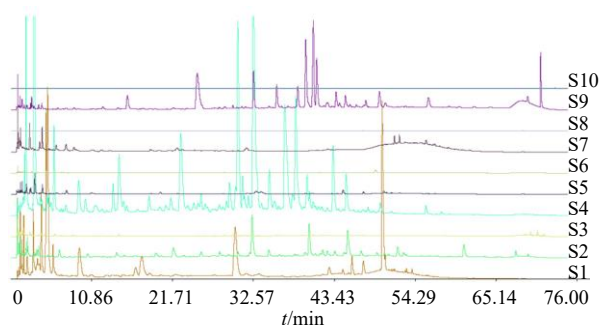


图 2 黄酮、蒽醌、鞣质类成分平均 MCI 相似度排名前 10 位成分

Fig. 2 Average MCI similarity ranked top 10 components in flavonoids, anthraquinone and tannins



S1-番泻叶 S2-诃子 S3-金沸草 S4-苦杏仁 S5-罗汉果 S6-胖大海 S7-石榴皮 S8-皂荚 S9-紫苏子 S10-空白溶剂
 S1-Sennae Folium S2-Chebulae Fructus S3-Inulae Herba S4-Armeniacae Semen Amarum S5-Siraitiae Fructus S6-Sterculiae Lychnophorae Semen S7-Granati Pericarpium S8-Gleditsiae Spina S9-Perillae Fructus S10-slovent

图 3 9 味归肺和大肠经中药的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC fingerprint of nine traditional Chinese medicines attributed to lung and large intestine meridian

二阶矩参数, 结果见表 2。

4.2 7 个对照品的 HPLC 图谱

为准确建立结构与保留时间的关系, 从而推导出归肺与大肠经的“印迹模板”特征。故在筛选验证的成分时相似度不能太近, 选取排在前 50% 的成分, 建立相似度与保留时间的线性关系。从黄酮、蒽醌、鞣质类成分中选取排名依次为 5、8、10、16、40、44、49 的大黄素-1-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、

3,3'-二甲基萘花酸-4'-*O*-葡萄糖苷、山柰苷、芦丁、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷。按照“2.3.3”项下方法制备对照品溶液, 按照“2.3.4”项下色谱条件测定其 HPLC 指纹图谱, 如图 4 所示。图 4 中大黄酚-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷和大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷的保留时间重叠。大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷保留时间与 MCI 相似度的相关性为 0.867 3, 回归方程为 $S=0.988 4+1.797 \times 10^{-4} t_R$, $R=0.866 2$ ($P<0.01$), 见表 3。提示归肺和大肠经成分的“印迹模板”特征性可用 HPLC 的保留时间测定。

4.3 7 个对照品和 9 味药材总量统计矩比较

按总量统计矩的加合性计算公式获得 7 个对照品与 9 味药材的整体总量统计矩参数, 如表 4 所示。二者的一阶矩接近, 说明 7 个成分的整体“印迹模板”印迹作用与 9 味归肺与大肠经的成分簇“印迹模板”印迹作用相近, 但零阶矩、二阶矩相差很大, 说明二者的成分簇的种类和数目不同, 但 7 个成分基本上能表征归肺和大肠经成分簇的“印迹模板”总体特征。

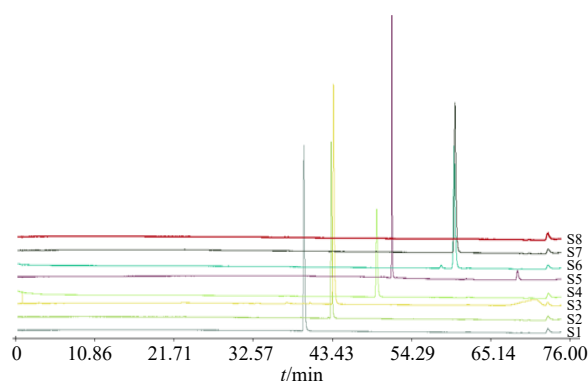
5 结论

本研究筛选出番泻叶、诃子等 11 味归肺和大肠经的中药, 计算出已报道成分的 MCI, 包括了萜类、黄酮类、苯丙素类、鞣质类、甾体类、有机酸类、糖苷类、生物碱类、醌类、其他类 886 个成分, 再根据各部位、成分与平均 MCI 的相似性确定了前 10

表 2 9 味归肺和大肠经中药的总量统计矩参数

Table 2 Total statistical moment parameters of nine traditional Chinese medicines attributed to lung and large intestine meridian

样品	峰数/个	零阶矩/($\mu\text{A}\cdot\text{s}$)	一阶矩/min	二阶矩/ min^2
番泻叶	143	1.030×10^4	43.61	332.8
诃子	145	1.059×10^4	45.71	337.2
金沸草	142	1.015×10^4	42.12	318.2
皂荚	143	1.030×10^4	47.55	412.0
紫苏子	94	4.470×10^3	37.76	467.2
苦杏仁	93	4.370×10^3	38.01	313.0
罗汉果	116	6.790×10^3	43.04	306.9
胖大海	8	40	50.49	265.0
石榴皮	124	7.750×10^3	45.35	245.3
合计	1008	6.743×10^4	43.39	348.8



S1-芦丁 S2-山柰苷 S3-山柰酚-3-O-芸香糖苷 S4-大黄素-1-O- β -D-葡萄糖苷 S5-3,3'-二甲基鞣花酸-4'-O-葡萄糖苷 S6-大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷 S7-大黄素-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 S8-空白溶剂

S1-rutin S2-kaempferol S3-kaempferol-3-O-rutinoside S4-emodin-1-O- β -D-glucoside S5-3,3'-dimethyl ellagic acid-4'-O-glucoside S6-chrysophanol-8-O- β -D-glucoside S7-emodin-8-O- β -D-glucoside S8-solvent

图 4 7 个对照品的 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC fingerprints of seven reference substances

表 3 7 个对照品的 HPLC 保留时间与 MCI 相似度的相关性及其平均峰面积

Table 3 Correlation between HPLC retention time and MCI similarity and average peak area of seven reference substances

对照品名称	t_R/min	MCI 相似度 (S)	平均峰面积/($\mu\text{A}\cdot\text{s}$)
芦丁	39.630	0.995 724	1 622.00
山柰苷	43.240	0.996 048	1 731.00
山柰酚-3-O-芸香糖苷	43.629	0.995 080	387.90
大黄素-1-O- β -D-葡萄糖苷	49.420	0.998 809	409.10
3,3'-二甲基鞣花酸-4'-O-葡萄糖苷	51.688	0.998 172	1 815.00
大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷	60.140	0.999 200	41.41
大黄素-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	60.140	0.998 607	41.41
回归方程	$S=0.988\ 4+1.797\times 10^{-4}t_R$, $R=0.866\ 2$ ($P<0.01$)		

位成分，多为萜类、苯丙素或生物碱类，其对照品难以获得，考虑到黄酮、蒽醌、鞣质类成分平均 MCI 相似度均在 0.95 以上，且在番泻叶、诃子、石榴皮中集中分布，故以黄酮、蒽醌、鞣质类成分为代表，根据相似度排序选取芦丁、山柰苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、大黄素-1-O- β -D-葡萄糖苷、3,3'-二甲基鞣花酸-4'-O-葡萄糖苷、大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 7 个成分作为对照品，其保留时间对 MCI 相似度进行回归，二者相关系数为 0.866 2 ($P<0.01$)，说明 MCI 能很好预测其印迹行为，各成分与色谱印迹作用存在较好的 QSRR 性。7 个对照品按指纹图谱峰面积得到的总量一、二阶统计矩分别为 45.48 min、26.39 min^2 ，其 15% 的区间为 [44.46 min, 46.50 min]。利用总量统计矩法分析 9 味药材的 HPLC 图谱，测得 1008 个峰，与查阅到的成分数相近。按指纹峰数目算得总量统计一、二阶矩分别为 43.39 min、348.80 min^2 ，其 15% 的区间为 [39.70 min, 47.08 min]，与 7 个对照品的总量

表 4 7 个对照品和 9 味药材总量统计矩比较

Table 4 Statistical moment comparison of total amount of seven reference substances and nine herbs

名称	零阶矩/($\mu\text{A}\cdot\text{s}$)	一阶矩/min	二阶矩/ min^2
9 味归肺和大肠经药材	6.743×10^4	43.39	348.80
7 个对照品	6.047×10^3	45.48	26.39

统计矩的 15% 区间相互重叠,也就是有 15% (正常是 95%) 把握认为二者不是一类归经物质,反之就有 85% (正常是 5%) 把握认为是相同的归经物质,即 7 个成分化学结构能 85% 把握表征归肺和大肠经中药成分“印记模板”的特征。由于 7 个成分的母核分别为蒽醌、黄酮、鞣酸类,因此可以初步判断归肺和大肠经的物质基础可用蒽醌类、黄酮类、鞣酸类为“印记模板”的中药成分群进行表征。

上述研究表明, MCI 能够定量描述分子的结构信息,越接近者分子结构越相似,理化性质越相近,药理作用越相似,并可利用 QSRR 原理分析色谱印迹行为,并通过色谱学总量统计矩参数表征出来,相互进行验证,这样可将中药成分体内归经的复杂问题转变成体外可测的色谱学印迹行为进行研究,极大地降低了中药药性的研究难度。如 7 个成分按中药化学母核归属为蒽醌类、黄酮类、鞣酸类,其母核结构类型迥异,但保留时间却接近,特别是 3,3'-二甲基鞣花酸-4'-O-葡萄糖苷和大黄素-1-O- β -D-葡萄糖苷的化学结构完全不同,但其保留时间却相差不大,因此 MCI 是表征中药成分化学结构、关联其化学性质、描述其生理药理和药剂学性质的重要方法,若与 QSPR/QSRR 结合,将构建起中药复方物质基础、药性、药理研究的重用研究方法与工具。

前期本团队创立了中医药超分子“气析”理论,以中药归经的物质基础研究为重要内容,若结合 MCI,从中药物质结构定量表征入手,先系统描述所归经成分的分子结构拓扑特征,寻找到基本成分结构,再与各类成分平均 MCI 比较其相似性,从 QSPR/QSRR 计算的角度获得中药归经信息,再进行色谱印迹行为验证,就可初步确定中药归经的客体分子特征,再运用超分子的结构分析技术,最终可揭示中药归经的主客体分子结构全貌,实现中医药现代化。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李功营, 宋金带. 中药归经与组方配伍的相关性探索 [J]. 中医临床研究, 2011, 3(16): 65-66.
- [2] 秦庆广, 赵吉平, 朱兵, 等. “肺与大肠相表里”: 肺与大肠功能之间的交互作用 [J]. 针刺研究, 2013, 38(6): 453-458.
- [3] 李海英, 贺琪琚, 邓凯文, 等. 基于超分子“气析”理论构建中药质量标志物的印迹性新评价体系 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 4771-4778.
- [4] 周晋, 刘惠, 肖美凤, 等. 基于超分子“印迹模板”的中药成药性及制剂修饰研究策略 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4205-4211.
- [5] 李鹏霞, 陈晶, 周喜斌, 等. 定量结构-性质/活性关系在分析和环境化学中的进展及应用 [J]. 分析科学学报, 2011, 27(2): 241-245.
- [6] 纪彩虹. 定量构效关系的原理、方法及其研究进展 [J]. 甘肃联合大学学报: 自然科学版, 2011, 25(2): 58-62.
- [7] He M, Zhou Y. How to identify “material basis-quality markers” more accurately in Chinese herbal medicines from modern chromatography-mass spectrometry datasets: Opportunities and challenges of chemometric tools [J]. *Chin Herb Med*, 2021, 13(1): 2-16.
- [8] Sagandykova G, Buszewski B. Perspectives and recent advances in quantitative structure-retention relationships for high performance liquid chromatography. How far are we? [J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2021, 141: 116294.
- [9] 张玉超, 钟鹏英, 夏凡, 等. 基于拓扑指数的 QSAR 法探讨脑泰方中抗脑血栓关键活性成分簇 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 877-885.
- [10] 范诗琪, 李森, 刘金玲, 等. 基于分子连接性指数探归肝经中药成分“印记模板”的特征 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(2): 390-395.
- [11] 张玉林. 一个新的分子连接性指数 (mZ^h) 用于取代芳烃的定量构效关系研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(8): 109-115.
- [12] 张晶, 赫敏, 杨林. 拓扑指数法在 QSPR 研究中的应用 [J]. 江汉大学学报: 自然科学版, 2012, 40(6): 38-41.
- [13] 王尔华, 相秉仁. 分子连接性及其在定量构效关系中的应用 [J]. 国外医学 药学分册, 1979, 6(3): 129-137.
- [14] 刘惠, 杨姣, 朱志飞, 等. 基于总量统计矩分析法的金银花、山银花 HPLC 指纹图谱评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(21): 132-139.

[责任编辑 潘明佳]