

复方仙鹤草肠炎胶囊的主要有效成分及其治疗肠炎靶点的筛选[△]

李俊*,王应仙,李家生,张祎,王睿睿[#](云南中医药大学中药学院,昆明 650500)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)08-0927-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.08.06

摘要 目的:筛选复方仙鹤草肠炎胶囊中的主要有效成分及其治疗肠炎靶点。方法:采用超高效液相色谱-串联质谱技术(UHPLC-MS/MS)、MWDB数据库和相关文献分析鉴定复方仙鹤草肠炎胶囊甲醇提取物中的主要化学成分。通过中药系统药理学分析平台(TCMSP)、PubChem、UniProt数据库预测和筛选该制剂的活性成分及其潜在靶点;借助GeneCards和OMIM数据库预测和筛选肠炎相关靶点;采用R语言4.0.2筛选两者共同靶点。将共同靶点对应的化学成分与该制剂甲醇提取物中的化学成分进行匹配,获取该制剂的主要有效成分。借助STRING数据库和Cytoscape 3.7.1软件构建共同靶点的蛋白质-蛋白质相互作用网络,以节点度值筛选该制剂的关键靶点。结果:共鉴定出化合物48个,包括酚酸类化合物13个、生物碱类化合物10个、黄酮类化合物8个、萜类化合物6个、其他类化合物6个、脂质类化合物3个、鞣质类化合物1个、有机酸类化合物1个;对比网络药理学数据,推测芹菜素、木犀草素、槲皮苷类(含3,7-二氧-甲基槲皮素、槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷、槲皮素-7-O-葡萄糖苷、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷)、掌叶防己碱、原儿茶酸-4-葡萄糖苷和3,4-二甲氧基肉桂酸等均为其主要有效成分,治疗肠炎的关键靶点包括转录因子p65(RELA)、淀粉样β/A4蛋白(APP)、G1/S特异性细胞周期蛋白D1(CCND1)、表皮生长因子受体(EGFR)、胰岛素(INS)、雌激素受体(ESR1)、白细胞介素6(IL6)、核受体共激活剂1(NCOA1)、胱天蛋白酶8(CASP8)、原癌基因c(FOS)等。结论:共挖掘出复方仙鹤草肠炎胶囊中的主要有效成分9个(包括芹菜素、木犀草素、槲皮苷类等)及其治疗肠炎的关键靶点10个(包括RELA、APP、CCND1等)。

关键词 复方仙鹤草肠炎胶囊;网络药理学;化学成分;肠炎;靶点

Screening of Main Effective Components of Compound *Agrimonia pilosula* Enteritis Capsules and Targets of Enteritis

LI Jun, WANG Yingxian, LI Jiasheng, ZHANG Yi, WANG Ruirui (College of Chinese Materia Medica, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To screen the main effective components of Compound *Agrimonia pilosula* enteritis capsules and targets of enteritis. METHODS: UHPLC-MS/MS, MWDB database and relevant literature analysis were used to identify main chemical components in methanol extract of Compound *A. pilosula* enteritis capsules. TCMSP, PubChem and UniProt database were adopted to predict and screen the active ingredients and their potential targets. GeneCards and OMIM database were used to predict and screen enteritis related targets; common targets were screened by R language 4.0.2. The chemical components corresponding to the common targets were matched with the chemical components in the methanol extract of the preparation to obtain the main effective components of the preparation. With the help of STRING database and Cytoscape 3.7.1 software, the protein-protein interaction network was constructed, and the key targets of the preparation were screened by degree. RESULTS: A total of 48 compounds were identified, including 13 phenolic acids, 10 alkaloids, 8 flavonoids, 6 terpenoids, 6 other compounds, 3 lipids, 1 tannin and 1 organic acid. Compared with the network pharmacology data, apigenin, luteolin, quercetin (3, 7-di-O-methylquercetin, Quercetin-3-O-β-D-galactoside, Quercetin-7-O-glucoside, Quercetin-3-O-β-D-glucoside), palmatine, protocatechuic acid-4-glucoside and 3, 4-dimethoxycinnamic acid were the main effective components. The key targets for the treatment of enteritis included RELA, APP, CCND1, EGFR, INS, ESR1, IL6, NCOA1, CASP8, FOS. CONCLUSIONS: A total of 9 main effective components (including apigenin, luteolin, quercetin, etc.) and 10 key targets for enteritis (including RELA, APP, CCND1, etc.) of Compound *A. pilosula* enteritis capsules are found.

KEYWORDS Compound *Agrimonia pilosula* enteritis capsules; Network pharmacology; Chemical components; Enteritis; Targets

仙鹤草来源于蔷薇科植物龙牙草 *Agrimonia pilosa* Ledeb.的干燥地上部分^[1]。《彝医植物药》等彝医药书

△基金项目:国家自然科学基金地区科学基金资助项目(No.816-60737);云南省科技计划中医联合重点项目[No.2017FF117(-003)]

*硕士研究生。研究方向:真菌感染免疫。E-mail:1639341806@qq.com

#通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:真菌感染免疫。E-mail:wangryucom@126.com

籍载其味苦、涩,性寒,归肝、胃、肺、大肠经^[2];而2020年版《中国药典》(一部)载其苦、涩,平,归心、肝经^[3]。彝医常单用本品水煎剂以治疗腹泻、腹痛、膈食和痢疾^[2];后在长期行医用药过程中发现,当遇到病势沉重的患者和复杂多变的病情时,单味药治疗往往会出现药力难济和论治不全的情况,且大量使用单味药还易引发毒副作用^[4]。为此,云南著名民族老中医来春茂主任医师根据行医经验,加入黄连、木香、石菖蒲、桔梗和蝉蜕来增强

仙鹤草的药效并消减克制其毒副作用,制成复方。现该方已被研发成复方仙鹤草肠炎胶囊(国药准字Z53021633),由云南金碧制药有限公司生产上市。

中药复方成分复杂,其物质基础研究对质量控制、有效成分确定及药效机制探索等均具有重要意义。复方仙鹤草肠炎胶囊现收录于2020年版《中国药典》(一部)^[9]。其作为非处方药品在临床使用较为广泛,但是相关物质基础研究甚少,加之该复方涉及6味中药,其复杂的成分导致药效机制和有效成分不明确,进而在生产加工过程中对其质量也难以进行有效控制。基于此,本研究采用超高效液相色谱-串联质谱技术(UHPLC-MS/MS)对复方仙鹤草肠炎胶囊甲醇提取物中的化学成分进行分析,通过与MWDB数据库和文献对比来鉴定其活性成分及归属;借助网络药理学研究思路对鉴定出的活性成分进行信息挖掘,筛选出复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎的主要有效成分和相关靶点,旨在为深入研究该制剂的药理作用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括CBM30A型UHPLC仪(日本Shimadzu公司)、Applied Biosystems 6500 QTRAP型串联质谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)、AB265-S型电子分析天平(瑞士Mettler Toledo公司,精确度0.01 mg)、Sangon Biotech微型涡旋混合仪[生工生物工程(上海)股份有限公司]等。

1.2 主要药品与试剂

复方仙鹤草肠炎胶囊(批号171202,规格每粒0.4 g)购自云南金碧制药有限公司,甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)均购自德国Merck公司;其余试剂均为分析纯或实验室常用规格,水为超纯水。

2 方法

2.1 色谱条件

以Agilent SB-C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)为色谱柱,以0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相进行洗脱梯度(0~9.00 min, 5% B→95% B; 9.00~10.00 min, 95% B; 10.00~11.10 min, 95% B→5% B);流速为0.35 mL/min,柱温为40 ℃,进样量为2 μL。

2.2 质谱条件

离子源为电喷雾离子源(ESI),离子源温度为550 ℃;采用多反应监测(MRM)进行正负离子扫描;喷雾电压为5 500 V,气帘气压力为30 psi;碰撞诱导电离参数设置为高,且在三重四极杆质谱中,每个离子对均根据优化的去簇电压和碰撞能进行扫描检测。

2.3 复方仙鹤草肠炎胶囊甲醇提取物的化学成分分析

精密称取复方仙鹤草肠炎胶囊内容物100 mg,溶解于甲醇1.2 mL中,于4 ℃下静置过夜,并于期间涡旋30 s×6次,以提高提取率;然后以1 000×g离心10 min,吸取上清液,用0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试

品溶液。取供试品溶液适量,按“2.1”“2.2”项下条件进行UHPLC-MS/MS分析。利用Analyst 1.6.3软件对质谱数据进行处理。基于MWDB数据库(由武汉迈特维尔生物科技有限公司提供),根据各成分的二级质谱信息对其进行定性分析,去除同位素信号,含K⁺、Na⁺、NH₄⁺的重复信号,以及本身是其他更大分子量物质的碎片离子的重复信号,再对确认的化合物数据进行归一化处理 and 聚类分析。通过与相关文献比对,确认复方仙鹤草肠炎胶囊甲醇提取物中的化学成分及归属。

2.4 网络药理学分析

2.4.1 复方仙鹤草肠炎胶囊中活性成分及其潜在靶点的筛选 在中药系统药理学分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.cn/tcmsp.php>)中分别输入复方仙鹤草肠炎胶囊中的6味中药(仙鹤草、黄连、木香、石菖蒲、桔梗和蝉蜕)进行成分检索,以口服生物利用度(OB)>30%、类药性(DL)>0.18为标准,筛选复方仙鹤草肠炎胶囊中的活性成分^[5-6]。将筛选出的活性成分导入PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>),结合Perl代码和UniProt数据库(<http://www.uniprot.org/uniprot/>)获取上述活性成分的潜在靶点。

2.4.2 肠炎相关靶点的获取 以“Enteritis”为检索词,在GeneCard数据库(<http://www.genecards.org/>)和OMIM数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中进行搜索,合并结果、去除重复后,获取肠炎的相关靶点。

2.4.3 复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎的主要有效成分的确定 使用R语言4.0.2将“2.4.1”项下活性成分的潜在靶点和肠炎相关靶点进行匹配,获得两者的共同靶点。使用Cytoscape 3.7.1软件构建“成分-靶点-疾病”网络。该网络中以节点(Node)分别代表药物、成分、靶点与疾病,用边线(Edge)表示上述节点的关联。同时,将共同靶点的对应成分与“2.3”项下复方仙鹤草肠炎胶囊甲醇提取物中的化学成分进行匹配,获取该制剂治疗肠炎的主要有效成分。

2.4.4 复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎的关键靶点的确定 将“2.4.3”项下的共同靶点导入STRING数据库(<https://string-db.org/>),物种定义为“Homo sapiens”,使用Cytoscape 3.7.1软件构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,以综合得分评价相关性,获取相关性排序前30位的蛋白,统计其节点度值(Degree),度值越大表示对应蛋白的贡献度越大^[7]。以度值进行排序,获取前10位的靶点作为复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎的关键靶点。

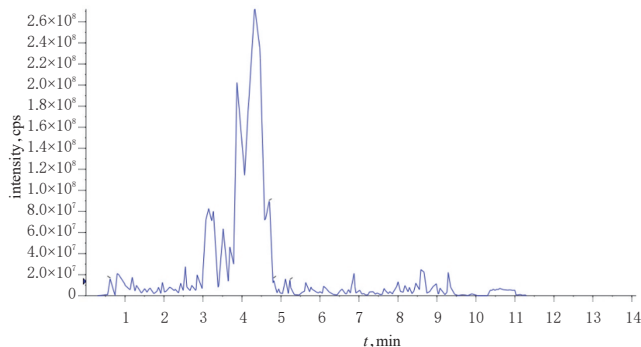
3 结果

3.1 复方仙鹤草肠炎胶囊甲醇提取物中的化学成分

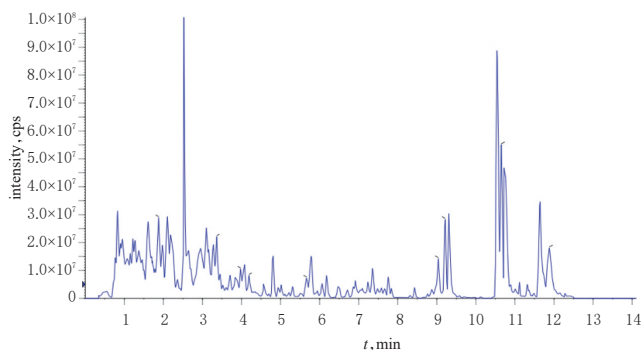
复方仙鹤草肠炎胶囊的总离子流图(TIC)和典型MRM图见图1。

图1C、1D展示了供试品中能够被检测到的物质,通过与MWDB数据库比对,共初筛出化合物252个,包括

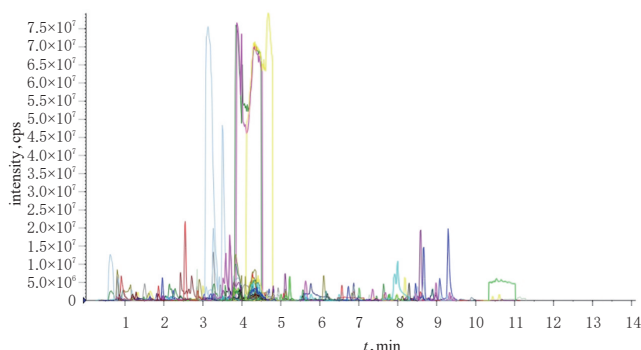
酚酸类化合物 45 个(主要有原儿茶酸-4-葡萄糖苷、对羟基苯甲酸、阿魏酸、仙鹤草内酯、肉桂酸、绿原酸、新绿原酸等)、脂质类化合物 41 个(主要有十六烷酸、 α -亚麻酸、亚油酸等)、黄酮类化合物 26 个(主要有木犀草素、染料木素、芹菜素、金合欢素、樱黄素、5-羟基黄酮、芫花



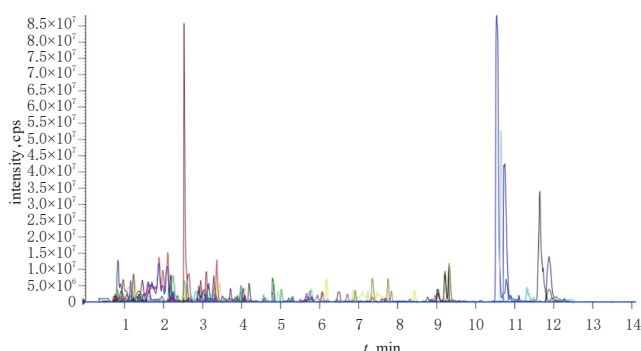
A.正离子模式下的TIC图



B.负离子模式下的TIC图



C.正离子模式下的典型MRM图



D.负离子模式下的典型MRM图

图1 复方仙鹤草肠炎胶囊的TIC图和典型MRM图

Fig 1 TIC diagrams and typical MRM graphs of Compound *A. pilosula enteritis capsules*

素、杜鹃素等)、生物碱化合物 26 个(主要有非洲防己碱、阿魏酰酪胺、8-氧黄连碱、去亚基小檗碱甜菜碱、巴马亭红碱、菖蒲碱甲等)、有机酸类化合物 25 个(主要有延胡索酸、马来酸、辛二酸等)、萜类化合物 24 个(主要有去氢木香内酯、木香烯内酯、科罗素酸、地榆皂苷B等)、木质素类和香豆素类化合物 9 个(主要有秦皮乙素、瑞香素、二甲氧基瑞香素等)、鞣质类化合物 5 个(主要有没食子酸等),以及其他类化合物 51 个(主要有异土木香内酯、 α -木香酸、伪绵马素、远志酸等)。通过与文献[8-17]对比,最终确认了化合物 48 个,包括酚酸类化合物 13 个,主要来源于仙鹤草和黄连;生物碱类化合物 10 个,主要来源于黄连;黄酮类化合物 8 个,主要来源于仙鹤草;鞣质类化合物 1 个,来源于仙鹤草;萜类化合物 6 个,主要来源于仙鹤草和木香;脂质类化合物 3 个,主要来源于木香和石菖蒲;有机酸类化合物 1 个,来源于石菖蒲;其他类化合物 6 个,主要来源于仙鹤草和木香,其主要成分分析结果见表1。

3.2 复方仙鹤草肠炎胶囊中治疗肠炎的有效成分

共获得复方仙鹤草肠炎胶囊中6味中药的活性成分672个,潜在靶点4876个;肠炎的相关靶点有2762个;成分与肠炎的共同靶点有42个。复方仙鹤草肠炎胶囊的“成分-靶点-疾病”网络见图2(图中,黄色正方形代表疾病,紫色长方形代表复方仙鹤草肠炎胶囊,绿色三角形代表疾病与药物共同靶点,天蓝色椭圆代表复方仙鹤草的活性成分,连线代表活性成分和靶点之间的关系)。

通过与“3.1”项下成分进行匹配,推测芹菜素、木犀草素、槲皮苷类(含3,7-二氧-甲基槲皮素、槲皮素-3-O- β -D-半乳糖苷、槲皮素-7-O-葡萄糖苷、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷)、掌叶防己碱、原儿茶酸-4-葡萄糖苷和3,4-二甲氧基肉桂酸等均是复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎的主要有效成分。

3.3 复方仙鹤草肠炎胶囊中治疗肠炎的关键靶点

通过网络药理学分析推测,得转录因子p65(RELA)、淀粉样 β /A4蛋白(APP)、G1/S特异性细胞周期蛋白D1(CCND1)、表皮生长因子受体(EGFR)、胰岛素(INS)、雌激素受体(ESR1)、白细胞介素6(IL6)、核受体共激活剂1(NCOA1)、胱天蛋白酶8(CASP8)、原癌基因c(FOS)等10个靶点是复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎的关键靶点,其度值分别为20、16、15、15、15、14、14、14、13、13。PPI网络见图3,关键靶点及其度值统计见图4(图中,丝裂原激活的蛋白激酶8(MAPK8)、载脂蛋白B(APOB)、蛋白激酶C ζ 类型(PRKCZ)、胱天蛋白酶3(CASP3)、糖原合酶激酶3 β (GSK3B)、血管内皮生长因子A(VEGFA)、视网膜母细胞瘤相关蛋白(RB1)、雄激素受体(AR)、核因子 κ B激酶亚基 β 的抑制剂(IKKBK);核因子 κ B必须调节剂(IKKBG)、核因子 κ B105亚基(NF κ B1A)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、26S蛋白酶体非ATP酶调节亚基3(PSMD3)、蛋白酶体激活物亚基3

表1 复方仙鹤草肠炎胶囊的主要成分分析结果

Tab 1 Analysis of main components of Compound A. pilosula enteritis capsules

序号	理论值 m/z	实测值 m/z	误差, 10 ⁻³	分子式	离子模式	化合物		特征碎片 离子m/z	一级分类	二级分类	归属
						中文名称	英文名称				
1	270.05	271.06	3.72	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	[M+H] ⁺	芹菜素	Apigenin	153.01	黄酮	黄酮	仙鹤草 ^[8-10] , 桔梗 ^[11]
2	284.07	285.08	3.55	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	汉黄芩素	Wogonin	270.10	黄酮	黄酮	仙鹤草 ^[9] , 黄连 ^[12]
3	286.05	285.04	-3.54	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	木犀草素	Luteolin	151.00	黄酮	黄酮	仙鹤草 ^[8-10] , 桔梗 ^[11]
4	330.07	329.07	-3.05	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	[M-H] ⁻	3,7-二氧-甲基槲皮素	3,7-di-O-methylquercetin	229.10	黄酮	黄酮醇	仙鹤草 ^[9]
5	464.10	463.09	-2.17	C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷	Quercetin-3-O-β-D-galactoside	300.00	黄酮	黄酮醇	仙鹤草 ^[8,10]
6	464.10	463.09	-2.17	C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	槲皮素-7-O-葡萄糖苷	Quercetin-7-O-glucoside	300.70	黄酮	黄酮醇	仙鹤草 ^[9]
7	464.10	463.09	-2.17	C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷	Quercetin-3-O-β-D-glucoside	300.03	黄酮	黄酮醇	仙鹤草 ^[8-10]
8	594.14	593.13	-1.70	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	银犀苷	Tiliroside	285.00	黄酮	黄酮醇	仙鹤草 ^[8-10]
9	313.13	314.14	3.21	C ₁₈ H ₁₆ NO ₄	[M+H] ⁺	N-顺式阿魏酰酪胺	N-cis-feruloyltyramine	177.05	生物碱	酰胺	黄连 ^[12]
10	313.13	314.14	3.21	C ₁₈ H ₁₆ NO ₄	[M+H] ⁺	N-反式阿魏酰酪胺	N-trans-feruloyltyramine	177.05	生物碱	酰胺	黄连 ^[12]
11	321.10	322.11	3.14	C ₁₉ H ₁₈ NO ₄	[M+H] ⁺	格兰地新	Groenlandicine	307.09	生物碱	生物碱	黄连 ^[12]
12	323.12	324.12	3.10	C ₁₉ H ₁₇ NO ₄	[M+H] ⁺	去亚甲基小檗碱	Demethyleneberberine	309.10	生物碱	生物碱	黄连 ^[12]
13	335.08	336.09	3.01	C ₁₉ H ₁₇ NO ₃	[M+H] ⁺	8-氧黄连碱	8-oxocoptisine	308.09	生物碱	生物碱	黄连 ^[12]
14	338.14	337.13	-3.00	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	[M-H] ⁻	非洲防己碱	Columbamine	237.11	生物碱	生物碱	黄连 ^[12]
15	342.17	342.17	<0.01	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	[M]	木兰花碱	Magnoflorine	282.10	生物碱	生物碱	黄连 ^[12]
16	351.11	352.12	2.87	C ₂₀ H ₁₇ NO ₃	[M+H] ⁺	5-(基)小檗碱	Berberastine	337.10	生物碱	异喹啉类生物碱	黄连 ^[12]
17	351.15	352.15	2.85	C ₂₁ H ₂₁ NO ₄	[M+H] ⁺	掌叶防己碱	Palmatine	337.10	生物碱	异喹啉类生物碱	黄连 ^[12]
18	279.29	280.10	2.89	C ₁₇ H ₁₅ NO ₃	[M+H] ⁺	菖蒲碱甲	Tatarine A	236.07	生物碱	生物碱	石菖蒲 ^[13]
19	170.02	169.01	-5.98	C ₉ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	没食子酸	Gallic acid	125.00	鞣质	鞣质	仙鹤草 ^[9]
20	230.13	231.14	4.37	C ₁₆ H ₁₆ O ₂	[M+H] ⁺	去氢木香内酯	Dehydrocostuslactone	185.30	萜类	倍半萜	木香 ^[14]
21	232.15	233.15	4.31	C ₁₆ H ₁₆ O ₂	[M+H] ⁺	木香羟内酯	Costunolide	131.08	萜类	倍半萜	木香 ^[14]
22	472.36	471.35	-2.13	C ₃₀ H ₄₀ O ₄	[M-H] ⁻	科罗素酸	Corosolic acid	471.35	萜类	萜类	仙鹤草 ^[9]
24	588.40	589.41	-2.05	C ₃₃ H ₃₆ O ₇	[M+H] ⁺	地榆皂苷B	Sanguisorbin B	411.36	萜类	三萜皂苷	仙鹤草 ^[9]
25	636.39	635.38	1.71	C ₃₃ H ₃₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	桔梗素B	Platycondonoids B	473.30	萜类	三萜皂苷	桔梗 ^[15]
26	650.40	649.36	-1.58	C ₃₃ H ₃₆ O ₁₀	[M-H] ⁻	野蔷薇苷	Rosamultin	439.28	萜类	三萜	仙鹤草 ^[9]
27	256.24	255.23	-1.61	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	十六烷酸	Hexadecanoic acid	255.23	脂质	游离脂肪酸	仙鹤草 ^[9]
28	278.23	277.22	-3.96	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	[M-H] ⁻	α-亚麻酸	α-linolenic acid	241.20	脂质	游离脂肪酸	木香 ^[14]
29	280.24	279.23	-3.63	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	亚油酸	Linoleic acid	279.20	脂质	游离脂肪酸	木香 ^[14] , 石菖蒲 ^[13]
30	116.01	115.00	-3.62	C ₄ H ₄ O ₄	[M-H] ⁻	富马酸	Fumaric acid	71.00	有机酸	有机酸	石菖蒲 ^[13]
23	488.35	487.35	-8.79	C ₃₀ H ₄₀ O ₅	[M-H] ⁻	委陵菜酸	Tommentic acid	469.33	酚酸类	酚酸类	仙鹤草 ^[8-10]
31	138.03	137.02	-7.39	C ₇ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	对羟基苯甲酸	4-hydroxybenzoic acid	93.00	酚酸类	酚酸类	石菖蒲 ^[13]
32	154.03	153.02	-6.58	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	2,5-二羟基苯甲酸	2,5-dihydroxybenzoic acid	108.00	酚酸类	酚酸类	黄连 ^[12]
33	194.06	193.05	-5.22	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	反式阿魏酸	Trans-ferulic acid	133.80	酚酸类	酚酸类	黄连 ^[12]
34	194.06	193.05	-5.22	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	阿魏酸	Ferulic acid	134.01	酚酸类	酚酸类	黄连 ^[12]
35	208.07	207.07	-4.85	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	3,4-二甲氧基肉桂酸	3,4-dimethoxycinnamic acid	133.10	酚酸类	酚酸类	黄连 ^[12]
36	314.11	313.11	-3.21	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	[M-H] ⁻	仙鹤草内酯	Agrimoniolide	298.08	酚酸类	酚酸类	仙鹤草 ^[8,10]
37	316.08	315.07	-3.20	C ₁₈ H ₁₆ O ₅	[M-H] ⁻	原儿茶酸-4-葡萄糖苷	Protocatechuic acid-4-glucoside	153.02	酚酸类	酚酸类	仙鹤草 ^[9]
38	354.10	353.09	-2.85	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	[M-H] ⁻	绿原酸	Chlorogenic acid	191.01	酚酸类	酚酸类	黄连 ^[12]
39	354.10	353.09	-2.85	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	[M-H] ⁻	新绿原酸	Neochlorogenic acid	191.00	酚酸类	酚酸类	仙鹤草 ^[9]
40	354.10	353.09	-2.85	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	[M-H] ⁻	隐绿原酸	Cryptochlorogenic acid	135.10	酚酸类	酚酸类	仙鹤草 ^[8,10] , 石菖蒲 ^[13]
41	462.15	461.15	-2.17	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	去甲基仙鹤草内酯-6-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	Desmethyलगrimoniolide-6-O-β-D-glucopyranoside	299.09	酚酸类	酚酸类	仙鹤草 ^[8,10]
42	476.15	475.16	-2.07	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	仙鹤草内酯-6-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	Agrimoniolide-6-O-β-D-glucopyranoside	313.10	酚酸类	酚酸类	仙鹤草 ^[8,10]
43	232.15	233.15	4.28	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	[M+H] ⁺	异土木香内酯	Isolantalactone	145.10	其他类	其他	木香 ^[14]
44	234.16	235.17	4.29	C ₁₅ H ₁₂ O ₂	[M+H] ⁺	α-木香酸	α-costic acid	161.13	其他类	其他	木香 ^[14]
45	460.21	461.21	2.17	C ₂₃ H ₃₂ O ₈	[M+H] ⁺	伪绵马素	Pseudoaspidin	237.11	其他类	其他	仙鹤草 ^[8]
46	504.35	503.30	-2.08	C ₃₀ H ₄₀ O ₆	[M-H] ⁻	远志酸	Polygalic acid	459.31	其他类	其他	桔梗 ^[15]
47	548.28	547.28	-1.83	C ₂₈ H ₄₄ O ₁₂	[M-H] ⁻	菖蒲糖苷	Tararoside	367.21	其他类	其他	石菖蒲 ^[13]
48	576.13	577.18	1.81	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₂	[M+H] ⁺	去氢双儿茶素A	Dehydrodicocatechin A	313.11	其他类	其他	仙鹤草 ^[8,10]

(PSME3)、Toll样受体4(TLR4)、有丝分裂特异性细胞周期蛋白B1(CCNB1); CD36-血小板糖蛋白4、受体酪氨酸蛋白激酶erbB-2(ERBB2)、缺氧诱导因子1α(HIF1α)]。

4 讨论

复方仙鹤草肠炎胶囊是云南著名民族老中医来春

茂主任医师的秘方,主要由仙鹤草、黄连、木香、石菖蒲、桔梗、蝉蜕等中药组成,方中仙鹤草既能收涩止泻止血,又能消积止痢、补虚健脾,对血痢及久病泻痢尤为适宜;黄连清热利湿,去病因以治本,共为君药。木香行气止痛,石菖蒲化湿和胃,共为臣药。蝉蜕疏风清热止痒,桔梗以利升清降浊,共为佐药。全方配伍,共奏清热燥湿、

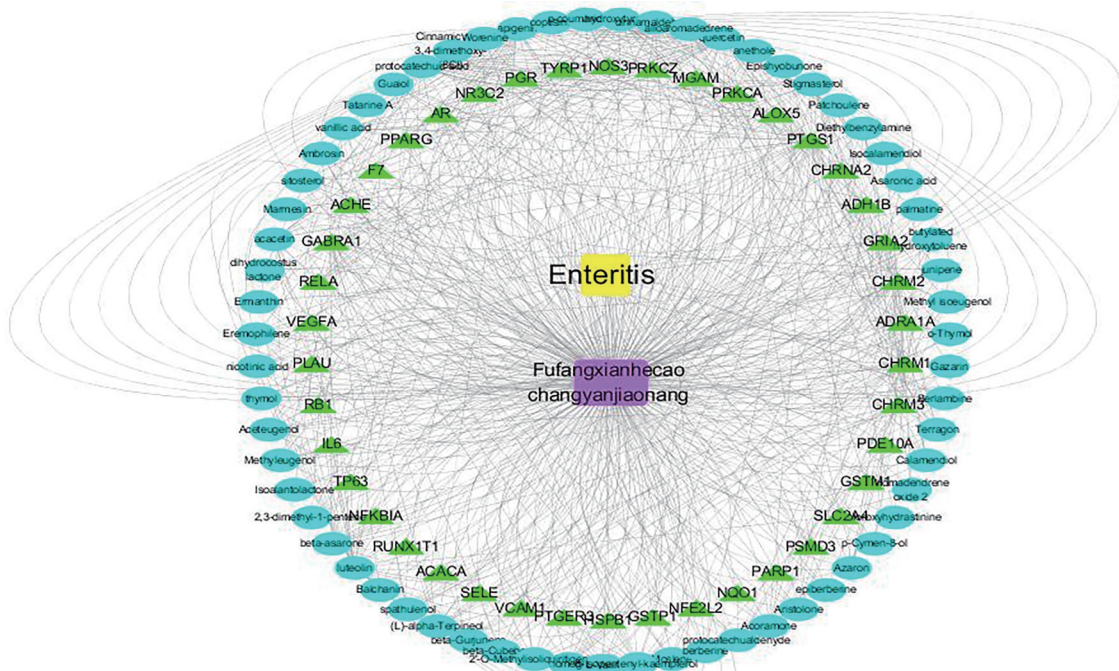


图2 复方仙鹤草肠炎胶囊的“成分-靶点-疾病”网络

Fig 2 “Compound-target-disease” network of Compound *A. pilosula* enteritis capsules

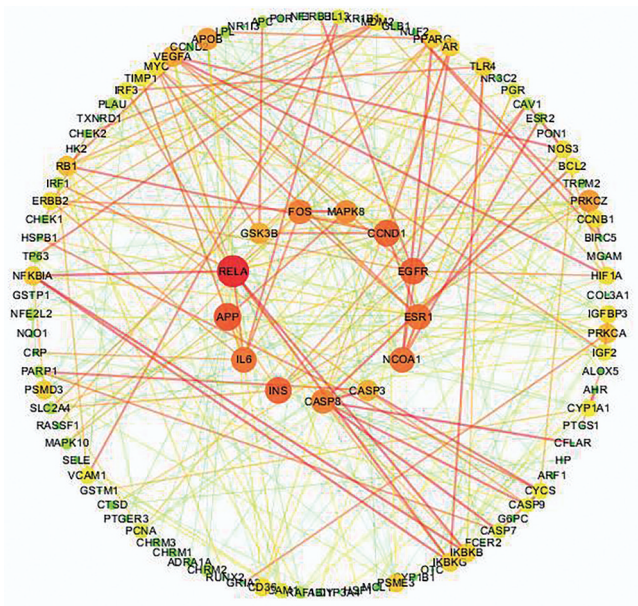


图3 复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎相关靶点蛋白的PPI网络

Fig 3 PPI network of target protein related to the treatment of enteritis with Compound *A. pilosula* enteritis capsules

健脾止泻之功。该方可用于临床治疗脾虚湿热内蕴所致的泄泻急迫、泻而不爽,或大便溏泻、食少倦怠、腹胀腹痛等症以及有上述证候的急、慢性肠炎患者^[18]。经过临床实践发现,复方仙鹤草肠炎胶囊能够有效治疗慢性肠炎,但物质基础研究尚未明确^[19]。

本研究采用UHPLC-MS/MS技术对复方仙鹤草肠炎胶囊的化学成分进行了分析,结合特征碎片离子等质

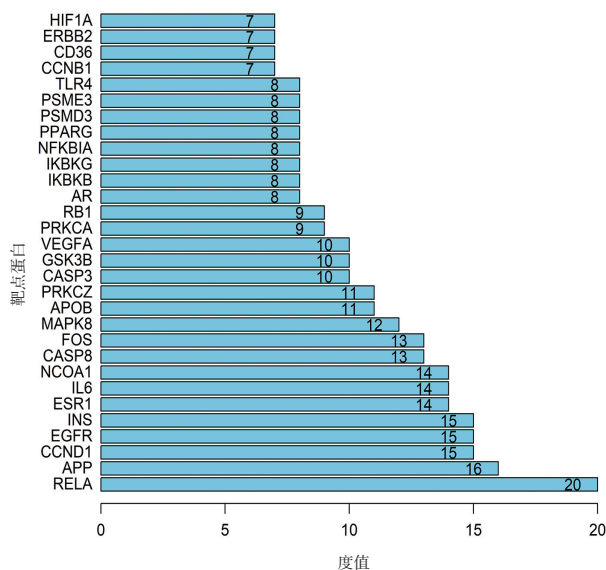


图4 复方仙鹤草肠炎胶囊治疗肠炎相关靶点蛋白的度值统计图(前30位)

Fig 4 Degree value statistics chart of the target protein related to the treatment of enteritis by Compound *A. pilosula* enteritis capsules (Top 30)

谱信息,与MWDB数据库进行比对,对各个质谱峰进行了归属,鉴定出252个化学成分;通过与文献进行比对,最终确认了48个化合物。再与网络药理学分析结果进行匹配,推测芹菜素、木犀草素、槲皮苷类(含3,7-二氧-甲基槲皮素、槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷、槲皮素-7-O-葡萄糖苷、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷)、掌叶防己碱、原儿茶酸-4-葡萄糖苷、3,4-二甲氧基肉桂酸等均是复方仙鹤

草肠炎胶囊治疗肠炎的主要有效成分。现有文献报道,48个主要成分中的汉黄芩素、槲皮素对肠炎也有一定的治疗作用,可作为后续研究的对象之一^[20-21]。通过UHPLC-MS/MS技术和对比MWDB数据库,鉴定出复方仙鹤草肠炎胶囊中的252个化学成分,但是对比文献仅确认了其中48个化合物,考虑可能是其制备工艺为在传统水煎煮基础上增加了醇沉工艺,在煎煮和醇沉的过程中,方中药材的化学成分发生了反应,转化成其他化合物,比如仙鹤草中鞣质类没食子酸转化成了没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、2-O-没食子酰-β-D-葡萄糖苷和3-O-没食子酰基-β-D-葡萄糖。另外,复方仙鹤草肠炎胶囊中的仙鹤草、木香和石菖蒲均具有挥发性成分,且2020年版《中国药典》(一部)中规定其提取工艺需将木香和石菖蒲中挥发油提取出来并喷加到内容颗粒上^[3]。因此,后续可以采用气质联用技术对该制剂中挥发性成分进行更深一步的研究,使其化学成分更明确。

PPI网络图显示,RELA、APP、CCND1、EGFR、INS、ESR1、IL6、NCOA1、CASP8、FOS等靶点处于网络核心位置。其中,通过STRING数据库检索可知,RELA为核因子κB转录因子p65,与炎症相关;IL6为成纤维细胞与活化的T细胞产生的炎症因子,表达上升时表示机体产生了炎症反应^[22];EGFR的表达增加,可以使其与表皮生长因子大量结合,促进DNA的合成,从而促进肠黏膜的生长和增殖,恢复正常肠黏膜屏障功能^[23];激活ESR通路则可以上调髓系来源抑制性细胞分泌I型精氨酸酶,进而通过提高IL17A的水平来促进肠黏膜修复相关因子的表达,从而缓解肠炎症状^[24];此外,临床通过检测血清中的APP水平来评估肠炎患者轻重程度、合理用药、预后判断等提供客观依据^[25]。以上内容均提示,复方仙鹤草肠炎胶囊的有效成分可能通过上述靶点来实现对肠炎病理进程的多相调控。

综上所述,本研究共挖掘出复方仙鹤草肠炎胶囊中的主要有效成分6个(包括芹菜素、木犀草素、槲皮素等)及治疗肠炎的关键靶点10个(包括RELA、APP、CCND1等),为进一步阐释其药效物质基础提供了参考。

参考文献

[1] 王建,王诗源.中药学[M].2版.北京:中国医药科技出版社,2018:182.

[2] 李耕冬,贺延超.彝医植物药[M].成都:四川民族出版社,1990:230.

[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:106、1315.

[4] 陆英,张洁.仙鹤草水提物急性毒性和遗传毒性实验研究[J].长春中医药大学学报,2011,27(5):709-711.

[5] YU G, LUO Z, ZHOU Y, et al. Uncovering the pharmacological mechanism of *Carthamus tinctorius* L. on cardiovascular disease by a systems pharmacology approach[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117: 109094.

[6] WANG W, LIU T, YANG L, et al. Study on the multi-tar-

gets mechanism of triphala on cardio-cerebral vascular diseases based on network pharmacology[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 116: 108994.

[7] 李弼仁,莫雨晴,黄英杰,等.基于网络药理学研究黄连解毒汤调控巨噬细胞极化的作用机制[J].中国药房,2021,32(5):552-558.

[8] 李君,杨杰.仙鹤草主要化学成分与药理作用研究进展[J].中国野生植物资源,2020,39(4):54-60.

[9] 黄兴,王哲,王保和.仙鹤草药理作用及临床应用研究进展[J].山东中医杂志,2017,36(2):172-176.

[10] 刘位杰,梁敬钰,孙建博,等.仙鹤草化学成分及药理作用研究进展[J].海峡药学,2016,28(2):1-7.

[11] 韦金玉,梁洁,黄冬芳,等.桔梗的质量控制状况及质量标志物预测分析[J/OL].中华中医药学刊,2020[2021-01-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20201019.1840.034.html>.

[12] 周瑞,项昌培,张晶晶,等.黄连化学成分及小檗碱药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(19):4561-4573.

[13] 胡小玲,唐怡,袁金斌.石菖蒲中生物碱成分的分离与鉴定[J].中国药房,2019,30(5):642-645.

[14] 孟凡恒,李佳佳,董兴童,等.仙鹤草中鞣质类成分的提取分离鉴定实验[J].山东化工,2019,48(13):10-13.

[15] 杨娟,全健,余中莲,等.云木香研究进展[J].亚太传统医药,2019,15(6):181-184.

[16] 谢雄雄,张迟,曾金祥,等.中药桔梗的化学成分和药理活性研究进展[J].中医药通报,2018,17(5):66-72.

[17] 邵福平,田蕾,田妹,等.中药石菖蒲的研究进展[J].中医药导报,2018,24(22):65-69.

[18] 国家药典委员会.中华人民共和国药典临床用药须知:中药成方制剂卷[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:233-234.

[19] 叶天利,张四代.复方仙鹤草肠炎胶囊治疗慢性肠炎的疗效观察[J].吉林医学,2012,33(18):3875-3876.

[20] 尹敏.汉黄芩素调节Teff/Treg细胞活性对DSS诱导小鼠肠炎的影响及机制[D].扬州:扬州大学,2017.

[21] 程滢瑞.黄葵总黄酮对克罗恩病小鼠模型作用的实验研究[D].南京:南京中医药大学,2015.

[22] 梁剑侠.不同药物联合治疗对轮状病毒肠炎患儿血清IL-6、CRP水平的影响[J].深圳中西医结合杂志,2019,29(22):23-24.

[23] 董光龙,贾同文,王为忠,等.表皮生长因子增强TPN对放射性肠炎大鼠EGFR及其基因表达的影响[J].肠外与肠内营养,1997,4(4):205-208、241.

[24] 马占川. MDSC分泌的Arg-1对肠炎小鼠Th17细胞的影响及橡胶素治疗机制的研究[D].长春:吉林大学,2020.

[25] 陈小剑,蔡艳群,陈益平,等.急性时相蛋白测定在感染性腹泻诊断中的临床意义[J].浙江临床医学,2006,8(3):318.

(收稿日期:2020-11-09 修回日期:2021-03-17)

(编辑:邹丽娟)