

基于网络药理学和指纹图谱的一枝蒿抗 乙肝病毒质量标志物预测分析

毛艳¹,刘荣昌²,丁曼¹,贺金华^{1*}

¹新疆维吾尔自治区药物研究所,乌鲁木齐 830004;²新疆医科大学药学院,乌鲁木齐 830011

摘要:利用网络药理学和指纹图谱预测分析一枝蒿 *Artemisia rupestris* L. 抗乙肝病毒的潜在质量标志物(Q-Marker)。采用网络药理学方法构建“活性成分-靶点-通路”网络,筛选和分析一枝蒿的相关靶点和通路,采用高效液相色谱法建立一枝蒿药材指纹图谱,用正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)筛选组间差异性成分,综合预测一枝蒿 Q-Marker。结果表明,网络药理学分析得到潜在的 15 个活性成分,18 批一枝蒿 HPLC 指纹图谱共有 18 个共有峰,通过对照品比对指认了 8 个共有峰,分别为绿原酸、芦丁、蒙花苷、木犀草素、一枝蒿酮酸、芹菜素、葛荆子黄素和洋艾素,综合分析初步预测一枝蒿酮酸、蒙花苷、芹菜素和木犀草素为一枝蒿潜在的 Q-marker。一枝蒿 Q-Marker 预测分析为药材质量评价提供参考,为阐明其药效物质基础及作用机制奠定基础。

关键词:一枝蒿;质量标志物;指纹图谱;网络药理学

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)5-0864-10

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.5.016

Anti-HBV Q-Marker prediction analysis of *Artemisia rupestris* L. based on network pharmacology and fingerprint

MAO Yan¹, LIU Rong-chang², DING Man¹, HE Jin-hua^{1*}

¹Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China;

²College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Abstract: To predict and analyze potential anti-hepatitis B virus quality marker (Q-Marker) of *Artemisia rupestris* L. based on network pharmacology and fingerprint. Network pharmacology was used to construct a “compound-target-pathway” network to screen and analyze the relevant targets and pathways of *A. rupestris*. The fingerprints of 18 batches of *A. rupestris* were established by using HPLC method. OPLS-DA was used to screen out the main components that cause differences between groups, comprehensive prediction Q-Marker of *A. rupestris*. Fifteen potential active ingredients were obtained by network pharmacological analysis. Fingerprints of 18 batches of *A. rupestris* were established, 8 common peaks (chlorogenic acid, rutin, buddleioside, luteolin, rupestonic acid, apigenin, casticin, absinthin) were identified by standard substance. Finally, based on the concept of Q-Marker and multiple considerations, artemisinic acid, buddleioside, apigenin, and luteolin can be preliminarily potential Q-Markers of *A. rupestris*. The Q-Marker predictive analysis of *A. rupestris* provides a reference for the quality evaluation of medicinal materials and lays the foundation for clarifying the mechanism of action of its medicinal material basis.

Key words: *Artemisia rupestris* L.; quality marker (Q-Marker); fingerprint; network pharmacology

一枝蒿 (*Artemisia rupestris* L.) 为菊科蒿属植物,是新疆维吾尔族和哈萨克族民间传统常用药材,主要分布于新疆天山山脉、阿勒泰山脉等地草原、山

坡或林下。现收载于卫生部《药品标准》维吾尔药分册、《维吾尔药志》(上册)和《中华本草》(维吾尔药卷)。一枝蒿具有清热解毒、祛风凉血、抗 HBV、抗病毒、保肝降酶、调节免疫及健胃促消化等作用,临床主要用于病毒性感冒和肝炎等疗效显著,在民间特别是维吾尔医院中广为应用^[1],据新疆维吾尔医院处方调查显示,一枝蒿用量之大堪称维吾尔药成方制剂之最,且药物制剂品种多样。新冠肺炎疫情期

收稿日期:2021-11-18 接受日期:2022-03-25

基金项目:新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项(WJWY-201961);新疆维吾尔自治区自然科学基金-杰出青年(2021D01E25)

*通信作者 Tel:86-991-2326572;E-mail:hejh1216@163.com

间,新疆卫生健康委组织专家结合新疆地域特色,制定并印发了“新疆版”中医药防治方案,复方一枝蒿颗粒以首选药入选其中,用于抑制呼吸系统炎症和抗病毒。

本文建立了一枝蒿药材的指纹图谱,并对色谱峰进行对照品指认,同时运用网络药理学对一枝蒿中多种成分与乙型肝炎病毒(HBV)的相互作用关系进行研究,旨在为全面控制疆一枝蒿的质量提供依据,并从整体的角度探讨一枝蒿治疗 HBV 可能的药效物质基础及作用机制,为新疆一枝蒿的质量标志物的研究奠定基础,并为后期进一步开展细胞生物学实验和动物模型实验提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

Agilent 1260 series 快速高效液相色谱仪(美国 Waldbronn Agilent Technologies 公司);TDZ5-WS 多管架自动平衡离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);BP211D 电子天平(德国 Sartorius 公司);AS-

BDT 型超声波清洗器(频率 40 kHz,功率 240W,上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 材料

对照品一枝蒿酮酸(批号 20170710,含量测定按 99.9% 计),购自中国科学院新疆理化技术研究所;绿原酸(批号:110753-201415,含量:96.6%)、芦丁(批号:100080-201409,含量:92.6%)、芹菜素(批号:111901-201102,含量:99.6%)、蒙花苷(批号:1115283-201911,含量:98.5%)、洋艾素(批号:111879-2010011,含量:99.4%)均购自中国食品药品检定研究院;蔓荆子黄素(批号:Must-15092905,含量:99.09%)、木犀草素(批号:Must-16011015,含量:98.8%)购自成都曼斯特生物科技有限公司;甲醇为色谱纯(Fisher 公司);水为纯化水。

18 批一枝蒿药材由新疆维吾尔自治区药物研究所何江研究员鉴定为菊科植物新疆一枝蒿(*Artemisia rupestris* L., 简称 AR)的地上部分或全草。18 批一枝蒿药材具体产地信息见表 1。

表 1 一枝蒿药材信息
Table 1 Original information of AR

编号 No.	批号 Batch number	产地 Origin	编号 No.	批号 Batch number	产地 Origin
S1	20180620	新疆阜康	S10	20191109	新疆阜康
S2	20180724	新疆阜康	S11	20191005	新疆富蕴
S3	20200715	新疆阜康	S12	20201104	新疆富蕴
S4	20201106	新疆伊犁	S13	20201102	新疆伊犁
S5	20191101	新疆伊犁	S14	20201104	新疆阜康
S6	20191104	新疆伊犁	S15	20150710	新疆伊犁
S7	20191002	新疆伊犁	S16	20140615	新疆伊犁
S8	20191102	新疆富蕴	S17	20140715	新疆富蕴
S9	20201101	新疆伊犁	S18	910047	新疆阜康

1.3 基于网络药理学预测一枝蒿 Q-Marker

1.3.1 一枝蒿“活性成分-HBV 靶点”的构建与分析

以“新疆一枝蒿”、“*Artemisia rupestris* L.”为关键词在中国知网(<https://www.cnki.net/>)、万方(<https://www.wanfangdata.com.cn/index.html>)、维普(<http://www.cqvip.com/>)、PubMed(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库进行检索,根据文献收集药效化合物,建立成分数据库,并将化合物在 TCMSp 数据库进行口服生物利用度(oral bio-availability, OB)和类药性(drug likeness, DL)筛选,

筛选条件设置为 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 。在 Disgenet、GeneCards、HERB 数据库以“乙型肝炎病毒”或“Hepatitis B Virus(HBV)”进行搜索,收集疾病靶点。

1.3.2 “一枝蒿-潜在靶标-乙肝病毒”蛋白相互作用网络(PPI)的构建

在 GeneCards、HERB、DisGenet 数据库以“乙型肝炎病毒”“Hepatitis B”进行靶点搜索,获得化合物和疾病的交集靶点,上传交集靶点至 STRING 数据库,生物属性设置为“Homo sapiens”置信度设置为 High confidence(0.700)并删除游离的靶点,其余设置保持系统默认,并将得到的结果以 TSV 格式保

存。最后用安装 CytoNCA 插件的 Cytoscape 3.8.0 软件进行拓扑网络可视化分析,其中核心靶点筛选根据度中心性(degree centrality)和介数中心性(betweenness centrality)分别大于两倍中位数、接近中心性(closeness centrality)大于中位数确定。

1.3.3 GO 功能富集分析与通路分析

基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析主要用于描述基因靶点的功能,包括分子功能(molecular function, MF)、生物过程(biological process, BP)、和细胞组分(cellular component, CC)三个部分。京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析可以得到潜在靶点所富集的信号通路。通过安装有 org. Hs. eg. db, ggplot2, enrichplot 数据包的 Rstudio 软件进行 GO 功能富集分析、clusterProfiler 数据包进行 KEGG 通路富集分析,以 $P \leq 0.05$ 的条件收集结果,并利用 Cytoscape 进行可视化分析。

1.4 一枝蒿指纹图谱研究

1.4.1 供试品溶液的制备

取本品粉末(过 3 号筛)约 2.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别加入 50% 甲醇水 25 mL,超声处理 45 min(功率 250 W,频率 40 kHz),摇匀,滤过(0.45 μm),取续滤液,即得。

1.4.2 对照品溶液的制备

精密称取绿原酸、芦丁、蒙花苷、木犀草素、一枝蒿酮酸、芹菜素、蔓荆子黄素和洋艾素对照品适量,分别加甲醇溶解,制成每 1 mL 溶液含 39.9、70.2、49.2、27.8、70.0、47.1、49.3、53.5 μg 的混合对照品溶液。

1.4.3 指纹图谱色谱条件

色谱柱: Agilent TC C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相 A 为甲醇、B 为 0.1% 磷酸水溶液,梯度洗脱(0 ~ 10 min, 5% A \rightarrow 25% A; 10 ~ 25 min, 25% A \rightarrow 38% A; 25 ~ 40 min, 38% A; 40 ~ 100 min, 38% A \rightarrow 85% A; 100 ~ 105 min, 85% A \rightarrow 95% A; 105 ~ 110 min, 95% A \rightarrow 5% A; 110 ~ 120 min, 5% A);流速: 1.0 mL/min;柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$;检测波长: 250 nm;进样量: 10 μL 。

2 结果

2.1 基于网络药理学预测一枝蒿 Q-Marker

2.1.1 一枝蒿“活性成分-HBV 靶点”的构建与分析

去除缺少靶点信息的化合物并结合文献挖掘后,共筛选出 15 个具有生物活性的化合物,结果见表 2,“活性成分-HBV 靶点”网络图见图 1,共 407 个节点,745 条边,体现了新疆一枝蒿治疗乙肝的多成分、多靶点协同作用的特点。

表 2 具有活性化合物相关信息

Table 2 Information of active compounds

编号 No.	MOL ID	化合物名称 Compound name	CAS	OB(%)	DL	参考文献 Ref.
1	MOL005229	艾黄素 Artemetin	479-90-3	49.55	0.48	2
2	MOL000098	槲皮素 Quercetin	117-39-5	46.43	0.28	3
3	MOL004564	山奈素 Kaempferid	491-54-3	73.41	0.27	4
4	MOL000006	木犀草素 Luteolin	491-70-3	36.16	0.25	3
5	MOL003044	金圣草黄素 Chryseriol	491-71-4	35.85	0.27	5
6	MOL000449	豆甾醇 Stigmasterol	83-48-7	43.83	0.76	6
7	MOL001790	蒙花苷 Linarin	480-36-4	39.84	0.71	3
8	MOL001689	金合欢素 Acacetin	480-44-4	34.97	0.24	3
9	MOL013083	茵芋苷 Skimmin	93-39-0	38.35	0.32	7
10	MOL000359	β -谷甾醇 β -Sitosterol	83-46-5	36.91	0.75	7
11	MOL001525	胡萝卜苷 Daucosterol	474-58-8	36.91	0.75	7
12	MOL004576	花旗松素 Taxifolin	480-18-2	57.84	0.27	8
13	MOL008487	陆地棉苷 Hirsutine	7729-23-9	32.75	0.64	9
14	MOL006070	刺槐苷 Robinin	301-19-9	39.84	0.71	9
15	-	一枝蒿酮酸 Rupestonic acid	115473-63-7	-	-	1

注:“-”代表 TCMSMP 数据库暂无收录,但文献表明具有生物活性。

Note:“-” represents it is not yet included in the TCMSMP database, while the literature shows that it has biological activity.

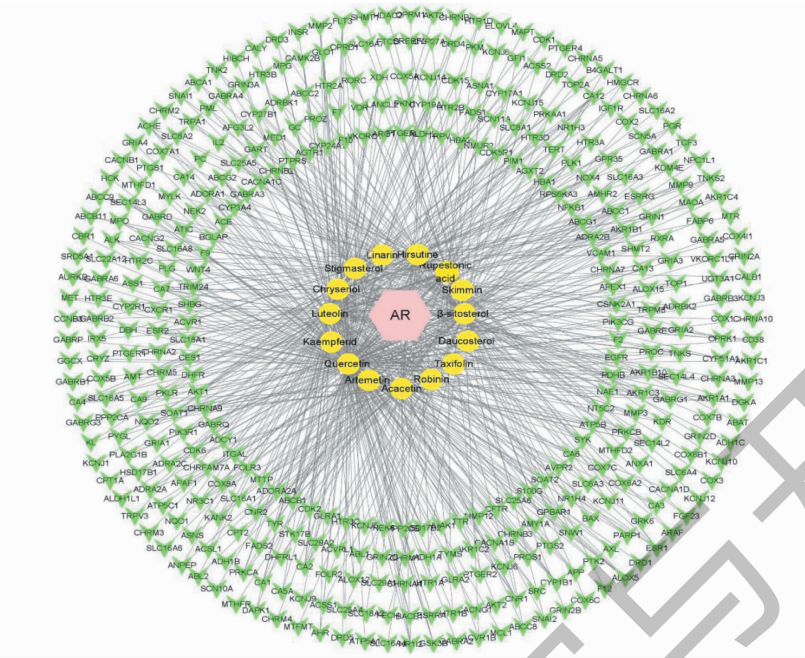


图1 活性成分-靶点网络关系

Fig. 1 Active compounds-target network relationship

注:黄色代表活性成分;绿色代表靶点;粉色代表一枝蒿。Note: Yellow represents active ingredients; Green represents targets; Pink represents AR.

2.1.1.2 PPI 网络分析

PPI 可视化网络图和核心靶点分析结果分别如

图2、表3所示,其中节点的形状越大、颜色越深,表明该节点可能和HBV的关系越紧密。

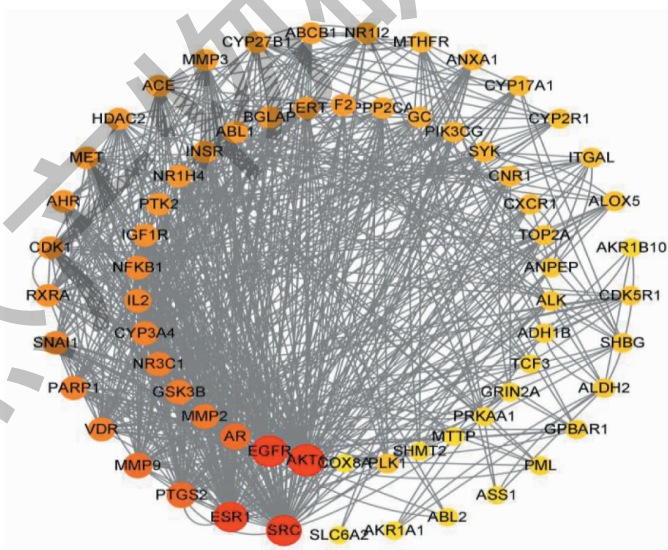


图2 新疆一枝蒿和乙肝蛋白相互作用网络

Fig. 2 Interaction network between AR and hepatitis B proteins

2.1.1.3 GO 功能富集分析与通路分析

经过GO富集分析(见图3)共得到1725条富集结果,其中生物过程1592个,主要涉及对细胞对氧化应激的作用、细胞对化学应激的反应、对药物的

反应;细胞组分25个,主要涉及膜筏、蛋白激酶复合物、转移酶复合物,转移含磷基团等过程;分子功能108个,主要涉及类固醇结合、核受体活性、配体激活转录因子活性等。

表 3 PPI 拓扑分析靶点信息

Table 3 PPI topology analysis of target information

编号 No.	蛋白名称 Protein name	度中心性 Degree centrality	介数中心性 Betweenness centrality	接近中心性 Closeness centrality
1	AKT1	78.00	569.42	0.65
2	EGFR	74.00	652.33	0.63
3	SRC	72.00	434.64	0.63
4	ESR1	68.00	400.27	0.62
5	AR	44.00	106.28	0.55
6	PTGS2	44.00	87.25	0.55
7	MMP9	42.00	67.49	0.54

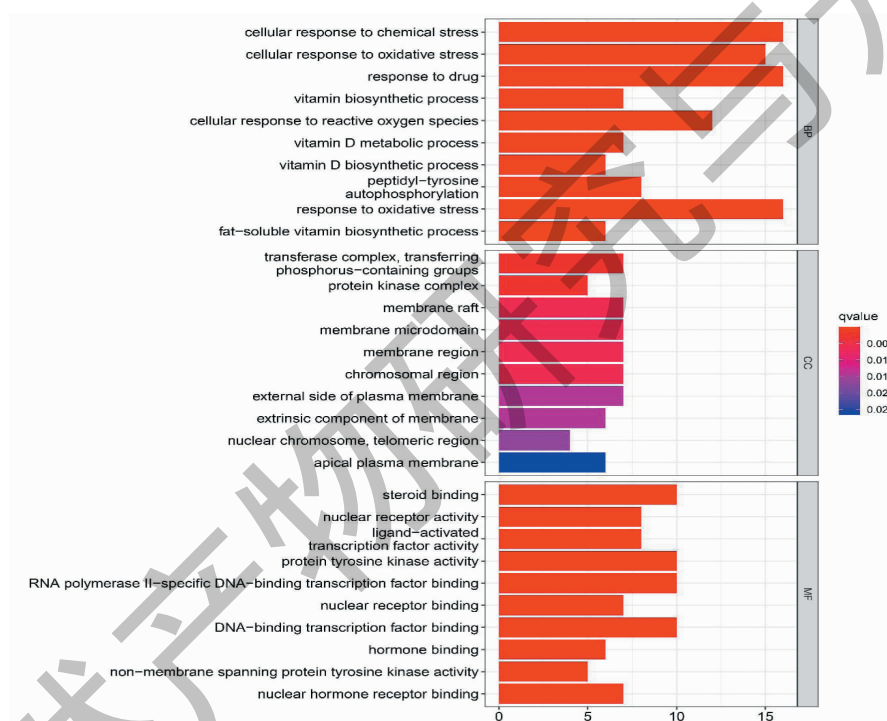


图 3 GO 生物富集分析柱状图

Fig. 3 GO enrichment analysis of potential target

KEGG 富集 TOP 20 作用通路($P < 0.05$)如图 4 所示,结果显示:关键通路 7 条,其中前 20 条主要信号通路包含 PI3K-AKT 信号通路、Rap1 信号通路、Ras 信号通路等。

2.1.4 活性成分-靶点-通路分析

经过 KEGG 通路分析结果,将通路中的靶点映射到化合物中,并利用 Cytoscape 构建“活性成分-靶点-通路”网络图(见图 5)。结果显示:该网络由 76 节点和 260 个边组成,包括 11 个活性化合物、44 个靶点和 20 个信号通路。其中表明,一枝蒿可以通过

多种化合物、多个靶点作用于多种途径,从而达到治疗乙型肝炎病毒的效果。

2.2 一枝蒿指纹图谱研究

2.2.1 精密度

取同一供试品溶液(S3),按“1.4.3”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图。结果,各共有峰相对保留时间的 RSD $< 0.10\%$ ($n = 6$),相对峰面积的 RSD $< 3.44\%$ ($n = 6$),表明仪器精密度高。

2.2.2 重复性

取同一供试品(S3)6 份,按“1.4.1”项下方法

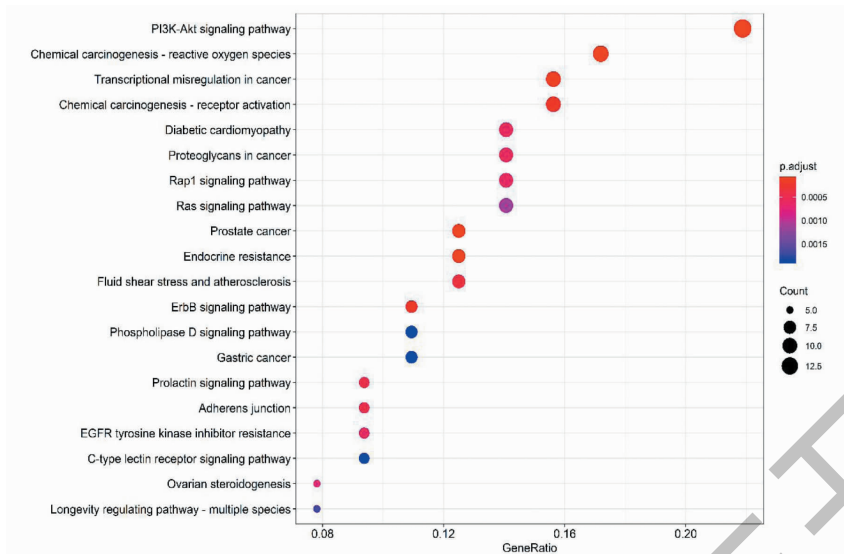


图 4 KEGG 富集分析气泡图

Fig. 4 Bubble diagram of KEGG enrichment analysis

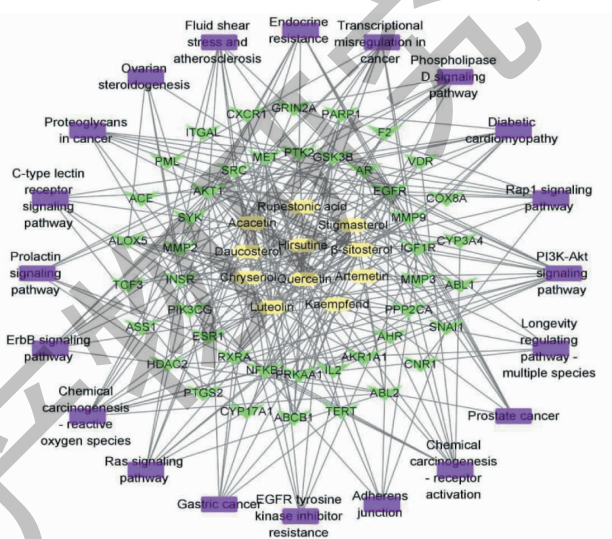


图 5 成分-靶点-通路网络图

Fig. 5 Compound-target-pathway network

注:黄色代表化合物;绿色代表靶点;紫色代表通路。Note: Red represents compounds; Green represents targets; Purple represents pathways.

平行制备供试品溶液,再按“1.4.3”项下色谱条件下进行测定,记录色谱图。结果,各共有峰相对保留时间的 RSD < 0.10% (n = 6),相对峰面积的 RSD < 4.93% (n = 6)。表明重复性良好,符合指纹图谱研究技术的要求 (RSD ≤ 5%)。

2.2.3 稳定性考察

取同一供试品溶液 (S3),按“1.4.3”项下色谱条件,分别在 0、2、4、6、8、10、24、48 h 进样测定,记录色谱图。结果,在 48 h 内各共有峰相对保留时间

RSD < 0.47% (n = 6),相对峰面积的 RSD < 4.58% (n = 6)。表明供试品溶液室温放置在 48 h 内稳定。

2.2.4 指纹图谱的建立

按“1.4.1”项下方法制成 18 批一枝蒿药材供试品溶液,按“1.4.3”项下色谱条件进样,记录色谱图,确定共有峰 18 个,将色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2012A 版中,以 S3 为参照图谱,采用中位数法,设定时间窗宽度为 0.2,生成对照图谱 (R),多点校正法建立指纹图谱^[10] (见图 6)。

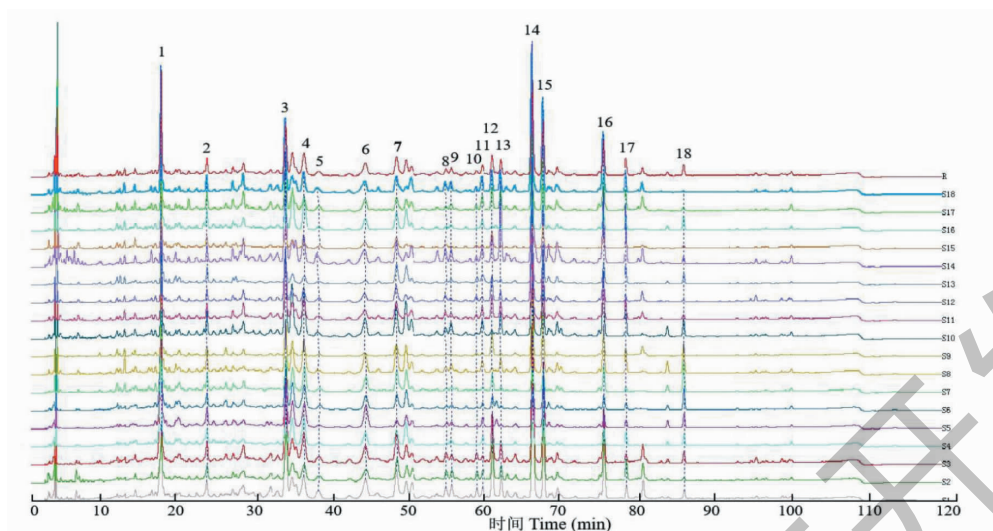


图6 一枝蒿药材的指纹图谱

Fig. 6 HPLC fingerprint of AR

2.2.5 指纹图谱共有峰的标定及相似度评价

采用对照品比对,指认其中8个共有峰,分别为绿原酸(1号峰)、芦丁(5号峰)、蒙花苷(11号峰)、木犀草素(12号峰)、一枝蒿酮酸(14号峰)、芹菜素(15号峰)、蔓荆子黄素(16号峰)、洋艾素(18号

峰)。一枝蒿药材及混合对照品溶液的HPLC图见图7,以对照指纹图谱为参照,进行共有峰相似度分析,结果见表4, S2、S4、S14 三批药材相似度在0.868~0.883,相似度较低。

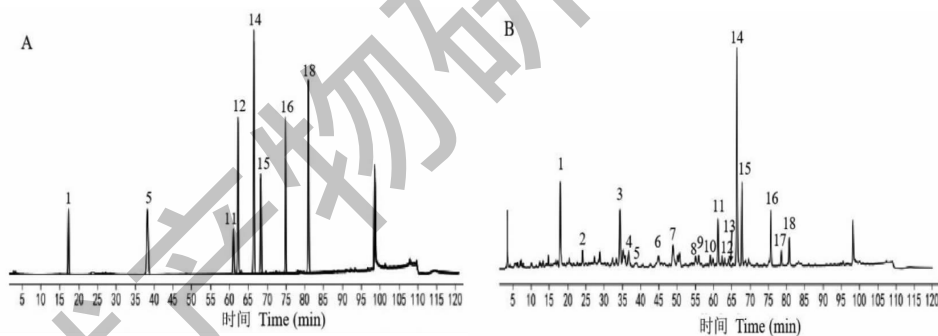


图7 混合对照色谱图(A)及样品色谱图(B)

Fig. 7 HPLC chromatograms of reference substances (A) and sample (B)

表4 18批一枝蒿的相似度评价结果

Table 4 Similarity evaluation results of 18 batches of AR

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
S1	0.929	S7	0.922	S13	0.958
S2	0.883	S8	0.982	S14	0.868
S3	0.955	S9	0.910	S15	0.967
S4	0.877	S10	0.958	S16	0.947
S5	0.906	S11	0.984	S17	0.958
S6	0.879	S12	0.890	S18	0.955

2.2.6 聚类分析(HCA)

以 18 批一枝蒿药材的 18 个共有峰面积导入 SPSS 23.0 软件对样品进行聚类分析,聚类方式选择离差平方和、样品的测量区间选择欧式距离的平方^[11],结果见图 8。由图可知,当欧式距离的平方大于 10 时,一枝蒿药材 S1 ~ S3、S8、S10 ~ S12、S14、S17、S18 聚为 1 类,S4 ~ S7、S9、S13、S15、S16 聚为 2 类。系统聚类分析大致可将不同产地分开,产地为新疆伊犁的一枝蒿药材聚类趋势较一致,

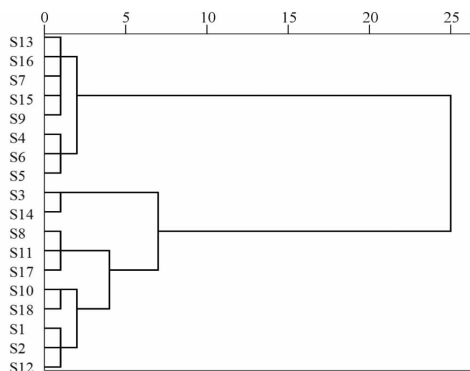


图 8 一枝蒿药材聚类分析

Fig. 8 Cluster analysis of AR

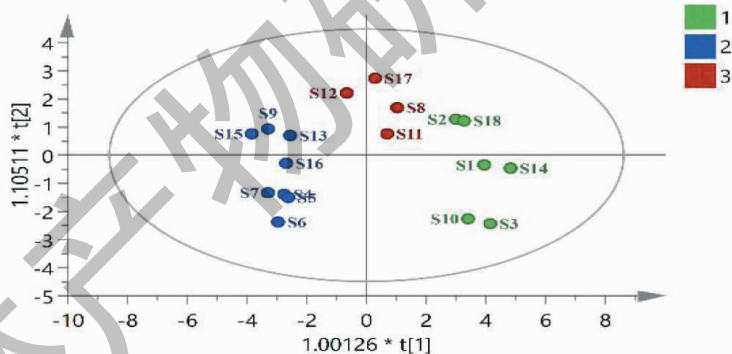


图 9 OPLS-DA 得分图

Fig. 9 OPLS-DA score plot of AR

3 讨论与结论

本研究以刘昌孝院士提出的质量标志物(Q-Marker)为基础,通过网络药理学和指纹图谱对一枝蒿的质量标志物进行预测分析。采用网络药理学与指纹图谱技术相结合评价中药的质量优劣,有效避免以某单一成分含量来评价中药优劣的弊端。研究中对 18 批不同产地、批次的一枝蒿样品构建了指纹图谱,然后运用相似度评价、HCA 与 OPLS-DA 分析对其进行综合评价,得分情况说明不同产地一枝蒿药材的综合质量存在差异,有明显的地域性区分,这

但产地为新疆富蕴和新疆阜康的样品未按产地归类,说明产地只是一枝蒿药材质量的影响因素之一,不能完全用产地来评价药材质量。

2.2.7 正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)

为更好地观察组间差异,本实验将 18 批一枝蒿药材共有峰面积作为变量,导入 SIMCA-P 14.1 软件,采用有监督模式的 OPLS-DA 进一步分析不同产地一枝蒿的差异性。模型拟合参数结果为 $R^2X = 0.678$, $R^2Y = 0.714$,模型预测参数 $Q^2 = 0.599$,均大于 0.5,表明建立模型的预测能力和解释能力均较好。OPLS-DA 得分图见图 9,可看出 18 批样品可以按照产地聚为 3 类,即 3 个产地的一枝蒿明显归为 3 类,进一步说明不同产地的一枝蒿在成分上存在着差异。为明确一枝蒿组间差异性成分,结合变量重要性投影(VIP)正态分布图(见图 10),筛选出贡献较大的 10 个变量(VIP > 1),VIP 由大到小依次为:峰 3 > 峰 16(蔓荆子黄素) > 峰 13 > 峰 14(一枝蒿酮酸) > 峰 8 > 峰 9 > 峰 5(芦丁) > 峰 18(洋艾素) > 峰 4 > 峰 15(芹菜素)。结果表明这 10 个成分在区分不同产地、批次的一枝蒿药材时可以起到重要作用,是引起 3 个产地差异的主要标志性成分。

进一步说明该方法可以简便快捷较可靠地应用于一枝蒿的质量控制。

通过对网络药理学构建的“活性成分-靶点”“成分-靶点-通路”网络图分析,可以得出一枝蒿治疗乙型肝炎病毒可以通过多成分调控 PPI 网络中的 AKT1、EGFR、SRC 和 ESR1 等关键靶点,作用于 PI3K-AKT 信号通路、Rap1 信号通路和 Ras 信号通路等关键信号通路发挥药效作用。EGFR 是一种受体酪氨酸激酶,可触发对细胞过程至关重要的信号事件,包括 Ras-丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、

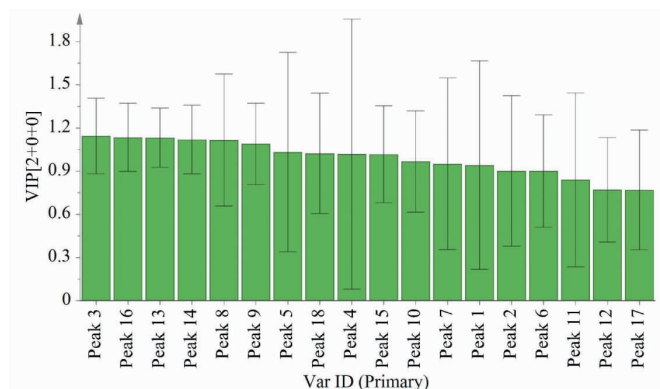


图 10 差异性标志物 VIP 图

Fig. 10 VIP map of different makers

PI3K-Akt 和 JAK-STAT 通路。在用其配体表表皮生长因子(EGF)刺激后,EGFR 会自动磷酸化以激活这些信号通路^[12]。迄今为止,据报道 EGFR 在不同类型病毒的进入机制中发挥关键作用,例如人类巨细胞病毒、丙型肝炎病毒(HCV)和呼吸道合胞病毒。Chen 等^[13]研究表明 IFN- α 可能通过调控 PI3K/AKT 通路抑制 mTOR、p70S6K 的磷酸化水平,从而缓解 HBV 引起的纤维化和肝功能损伤。Liu 等^[14]报道乙肝病毒 X 蛋白结合蛋白在肝癌细胞中高表达,可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进肝癌细胞增殖和迁移。

在筛选活性成分的过程中,degree 值排名靠前有槲皮素(degree = 187)、 β -谷甾醇(degree = 109)、木犀草素(degree = 100)、甾甾醇(degree = 86)、陆地棉苷(degree = 53)、一枝蒿酮酸(degree = 51)、金圣草黄素(degree = 49)、金合欢素(degree = 37)、山柰素(degree = 28)、艾黄素(degree = 20)连接度均大于 10 倍中位数,由于槲皮素、 β -谷甾醇、胡萝卜苷和甾甾醇这些成分广泛存在于多种中药材中,具有多种生物活性,因此不能作为辨别药材质量的质量标志性成分。

本文根据刘昌孝院士提出的质量标志物五大原则:可测性、特有性、有效性、中医药理论的关联性、溯源性来筛选作为中药安全性和有效性的标志性物质,而化学成分可测性是中药 Q-Marker 确定要素之一。新疆一枝蒿中黄酮及倍半萜类化学成分含量较为丰富,本课题组前期开展大量的一枝蒿成分含量测定研究,包括针对不同产地、不同的采收期一枝蒿药材及其复方一枝蒿胶囊、苓蒿滴鼻剂中共有成分的定量检测^[15-17],其中可测成分为一枝蒿酮酸、绿

原酸、木犀草素、蔓荆子黄素、芹菜素、6-去甲氧基-4'-O-甲基茵陈色原酮和洋艾素。基于此,一枝蒿中的黄酮类及倍半萜类成分符合 Q-Marker“可测性”的内涵,可作为候选 Q-Marker。而网络药理学筛选得到的艾黄素、金圣草黄素、陆地棉苷、金合欢素在一枝蒿药材中含量较低,基于成分可测性角度,不适合作为评价一枝蒿药材质量的标志性成分。

为进一步明确一枝蒿的质量标志物,本研究采用 HPLC 对 18 批不同产地、批次的一枝蒿进行研究,确定 18 个共有峰,通过对照品比对指认了 8 个共有峰,分别为绿原酸、芦丁、蒙花苷、木犀草素、一枝蒿酮酸、芹菜素、蔓荆子黄素和洋艾素;相似度在 0.868 ~ 0.984,表明不同产地、批次一枝蒿化学成分相似度较高,但存在一定差异;通过 OPLS-DA 分析发现共有峰芦丁、蔓荆子黄素、一枝蒿酮酸、洋艾素和芹菜素是不同批次一枝蒿药材的重要差异性成分。

综上所述,根据网络药理学结果,木犀草素和一枝蒿酮酸度值排名靠前,可将这 2 种成分作为一枝蒿的 Q-Marker;根据指纹图谱共有峰及含量结果分析,绿原酸、一枝蒿酮酸、芹菜素、蒙花苷、芦丁含量较高,但绿原酸和芦丁在多数中药材中广泛存在,不可作为质量标志性成分。一枝蒿酮酸在一枝蒿药材中含量较高,且有研究报道一枝蒿酮酸具有保肝^[18],抗病毒^[19],抗乙肝病毒等作用,可作为一枝蒿的 Q-Marker。Chiang 等^[20]研究表明芹菜素对单纯疱疹病毒、腺病毒、乙型肝炎病毒等具有良好的抗病毒活性,可以考虑作为一枝蒿潜在的 Q-Marker。Li 等^[21]发现木犀草素对粪肠球菌有抑制作用,且其能干扰病毒的复制、抑制病毒引起的细胞凋亡,适合

作为一枝蒿潜在的 Q-Marker。基于化学成分有效性及指纹图谱及化学计量结果分析,初步预测一枝蒿黄酮、芹菜素、木犀草素和蒙花苷为一枝蒿中潜在的 Q-Marker,其质量标志物的确定,为全面控制和评价新疆一枝蒿质量提供了科学依据,为新疆一枝蒿药材的进一步开发应用提供理论参考。但考虑到本研究使用的五个数据库更新情况和预测靶点的机制的差异,仍然具有一定的局限性,后续仍需通过药效实验对通路和靶点进行验证,以进一步确定本研究预测结果的准确性。

参考文献

- 1 Wang YJ, Xia JX, Tang L. Chemical constituents, biological activities and clinical applications of *Artemisia rupestris* L. [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2017,42:4565-4573.
- 2 Rong XJ, Gu ZY, He JH, et al. Preparation and identification of main ingredients in effective parts of Xinjiang *Artemisia rupestris* L. [J]. China Pharm(中国药房),2017,28:2227-2230.
- 3 Yan YH, Wu T, Chen J, et al. Identification and attribution of chemical constituents in Naizilai granules by UHPLC-Q-Orbitrap-MS[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2021,27(21):156-166.
- 4 Qin ZR, He JH, Gu ZY, et al. Study on the spectrum-effect relationship of anti-virus effect of *Artemisia rupestris* L. extracts from different solvents[J]. China Pharm(中国药房),2015,26:889-893.
- 5 Cui FX, Zhang C, Jiang Y, et al. Chemical constituents from ethyl acetate extract of *Artemisia rupestris* L. [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2013,38:1757-1759.
- 6 Zhang SW, Yang L, Gu ZY. Studies on chemical constituents of *Artemisia rupestris* L. [J]. J Xinjiang Med Univ(新疆医科大学学报),2016,39:408-410.
- 7 Wang H, Du HB, Zhu FY, et al. Chemical constituents from *Artemisia rupestris* L. [J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报)2011,42:310-313.
- 8 Xie B, Zhou Z, Zhang C, et al. A multi-dimensional study on biomarkers of geographical origins of *Artemisia rupestris* L. based on plant metabolomics[J]. Chin J Anal Chem(分析化学),2020,48:733-743.
- 9 Ji TF, Yang JB, Song WX, et al. Studies on chemical constituents of *Artemisia rupestris* L. (II) [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2007,32:1187-1189.
- 10 Mao Y, He JH, Cai XC, et al. Study on the spectrum-effect relationship of anti-inflammation effect *in vitro* of extracts from Uygur medicine *Hyssopus cuspidatus* [J]. China Pharm(中国药房),2017,28:1364-1367.
- 11 Xu B. Study on the establishment of quality standard and pattern recognition of Wannianhao[D]. Changchun:Changchun University of Chinese Medicine(长春中医药大学),2019.
- 12 Zhang XL. Expression of EGFR, p-EGFR and E-cadherin in nasopharyngeal carcinoma and its relationship with tumor invasion and metastases[D]. Changsha:Central South University(中南大学),2011.
- 13 Chen J. Effect of IFN- α on liver function and p-mTOR and p-70S6K proteins in animal models of hepatitis B virus infection via regulating the PI3K/Akt pathway[J]. Chin Rem Clin(中国药物与临床),2021,21:381-385.
- 14 Liu Y, Wei J, Xiao B, et al. Effect of hepatitis B X-interacting protein on proliferation and migration of hepatoma cells by regulating PI3K/Akt signaling pathway[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志),2020,36:837-841.
- 15 Zhang SW, Li CY, Yang L, et al. Determination of three constituents in *Artemisia rupestris* L. by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志),2016,36:1977-1980.
- 16 Cai XC, He JH, Gu ZY, et al. Simultaneous determination of 5 constituents in *Artemisia rupestris* L. by HPLC -MS/MS [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志),2013,33:1672-1676.
- 17 Mao Y, Chen ZD, GU ZY, et al. Optimization of extraction technology for Qin hao nasal drops by multi-index comprehensive evaluation method[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med(中国中医药信息杂志),2018,25(4):82-86.
- 18 Meng FL, Li ZJ, Silafu AB, et al. Protective effect of *Artemisia rupestris* L. extract on CCl₄-induced acute liver injury in mice [J]. Herald Med(医药导报),2010,29:1266-1268.
- 19 Yong JP, Aisa HA, Nie LF. Synthesis of rupestonic acid benzyl ester derivatives and *in vitro* anti-influenza virus and herpes simplex type I and II viruses [J]. Chin J Org Chem(有机化学),2009,29:1640-1644.
- 20 Chiang LC, Ng LT, Cheng PW, et al. Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum* [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol,2010,32:811-816.
- 21 Li X, Xu Y, Zhao B. The effects of luteolin on the virulence factor of *Enterococcus faecalis* [J]. Chin J Microecol(中国微生态学杂志),2016,28(1):34-37.