

本文引用:敖慧豪,付梦雅,谢冬梅,朋汤义,吴德玲,韩燕全. 基于指纹图谱和网络药理学的苍耳子质量标志物预测分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(3): 483-492.

基于指纹图谱和网络药理学的苍耳子 质量标志物预测分析

敖慧豪^{1,2},付梦雅^{1,2},谢冬梅²,朋汤义¹,吴德玲¹,韩燕全^{1*}

1.安徽中医药大学第一附属医院/国家中医药管理局中药制剂三级实验室/中药复方安徽省重点实验室/
现代药物制剂安徽省工程技术中心,安徽 合肥 230601;2.安徽中医药大学,安徽 合肥 230031

[摘要] **目的** 基于指纹图谱和网络药理学预测苍耳子质量标志物,为其质量控制和药效研究提供依据。**方法** 选择10批不同产地苍耳子饮片,采用超高效液相色谱系统 Waters Acquity UPLC H-Class 建立其 UPLC 指纹图谱,通过对照品指认确定其共有峰并初步预测其候选 Q-Marker;运用网络药理学构建“核心成分-靶点-通路”网络,进一步预测苍耳子 Q-Marker 及核心靶点,再用分子对接方法预测分析苍耳子 Q-Marker 生物活性。**结果** 建立了10批苍耳子饮片的指纹图谱,确认了18个共有峰,通过苍耳子对照品指认了其中8个峰,分别为原儿茶醛、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸和4,5-二咖啡酰奎宁酸。经网络药理学分析,以上8种成分关联29个核心靶点与20条关键通路,与苍耳子抗炎、抗肿瘤等作用密切相关,可作为苍耳子药效活性成分。分子对接结果显示该8种成分与其对应的核心靶点之间均有较好的结合能力,表明苍耳子候选 Q-Marker 拥有较好的生物活性。**结论** 通过 UPLC 指纹图谱和网络药理学分析,预测出苍耳子的 Q-Marker,为其质量及药效学的进一步研究提供了参考。

[关键词] 苍耳子;质量标志物;指纹图谱;网络药理学;分子对接

[中图分类号]R284.1

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.03.017

Predictive analysis of Cangerzi (Fructus Xanthii) quality markers based on fingerprint and network pharmacology

AO Huihao^{1,2}, FU Mengya^{1,2}, XIE Dongmei², PENG Tangyi¹, WU Deling¹, HAN Yanquan^{1*}

1. The First Hospital of Anhui University of Chinese Medicine/The Third Class Laboratory of Chinese Medicine Preparation, National Administration of Chinese Medicine/Anhui Key Laboratory of Chinese Medicinal Formula/Anhui Engineering Technology Research Center of Modernized Pharmaceutics, Hefei, Anhui 230601, China; 2. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230031, China

[Abstract] **Objective** Based on the fingerprint and network pharmacology, the quality markers of Cangerzi (Fructus Xanthii) were predicted to provide the basis for its quality control and pharmacodynamics research. **Methods** Ten batches of Cangerzi (Fructus Xanthii) from different habitats were selected, and their UPLC fingerprints were established by Waters Acquity UPLC H-Class. Their common peaks were identified by reference materials and their candidate Q-Markers were preliminarily predicted; network pharmacology was used to construct a "core-component-target pathway" network to further predict the Q-Markers and core targets of Cangerzi (Fructus Xanthii), and molecular docking method was used to verify the biological

[收稿日期]2022-09-19

[基金项目]安徽省徽派炮制传承工作室项目(皖中医药发展秘[2021]10号);2019年度浙江省重点建设高校优势特色学科(中药学)开放基金资助项目(ZYAOXZD2019005)。

[第一作者]敖慧豪,男,硕士研究生,研究方向:中药炮制及质量控制研究。

[通信作者]*韩燕全,男,博士,主任药师,E-mail:hyquan2003@163.com。

activity of Cangerzi (Fructus Xanthii) Q-Markers. **Results** The fingerprints of 10 batches of Cangerzi (Fructus Xanthii) were established, and 18 common peaks were identified. Eight peaks were identified by the reference substance of Cangerzi (Fructus Xanthii), namely 3,4-Dihydroxybenzaldehyde, neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, caffeic acid, 3,4-Dihydroxybenzaldehyde, 3,5-dicaffeoylquinic acid and 4,5-dicaffeoylquinic acid. According to the network pharmacological analysis, the above 8 components are associated with 29 core targets and 20 key pathways, which are closely related to the anti-inflammatory and anti-tumor effects of Cangerzi (Fructus Xanthii), and they can be used as the active components of Cangerzi (Fructus Xanthii). Molecular docking results showed that the 8 components had good binding with their corresponding core targets, indicating that the candidate Q Markers of Cangerzi (Fructus Xanthii) had good biological activity. **Conclusion** Through UPLC fingerprint and network pharmacological analysis, the Q-Marker of Cangerzi (Fructus Xanthii) has been predicted, providing reference for further research on its quality and pharmacodynamics.

[**Keywords**] Cangerzi (Fructus Xanthii); quality marker; fingerprint; network pharmacology; molecular docking

苍耳子为菊科植物苍耳(*Xanthium sibiricum* Part.)的干燥成熟带总苞的果实,又名蓼耳实、老苍头等,其味苦、甘、辛,性温,有毒,归肺经^[1];其主要功效为散风寒、通鼻窍和祛风湿,用于治疗风寒头痛、鼻塞流涕、鼻鼾、鼻渊、风疹瘙痒、湿痹拘挛等。苍耳子含有多种化学成分,主要包括水溶性苷类、倍半萜内酯类、挥发油类、脂肪油类和酚酸类等^[2-7]。现代药理学研究表明,苍耳子具有降血糖、抗过敏、免疫抑制、抗菌、抗炎镇痛和抗肿瘤等作用^[2-9],临床上多用于治疗急性慢性鼻炎、鼻窦炎和感冒^[8-14]。苍耳子产地广泛,全国各地均有分布^[15],药材质量差异较大。因此,探索苍耳子相关质量控制技术对苍耳子的质量及药效等研究具有重要研究意义。

近年来,刘昌孝院士提出了“中药质量标志物(Q-Marker)”的新概念^[16],其以“有效性、特有性、溯源性、可测性和中医药理论关联性”为原则,为促进中医药发展,完善中药质量控制体系提供了新的研究思路。目前,中药 Q-Marker 已广泛应用于中药及复方制剂研究中,成为中药质量控制研究的有效手段之一^[17-18]。本研究通过建立不同产地苍耳子饮片的 UPLC 指纹图谱,运用网络药理学进一步验证确定其质量标志物,并通过分子对接技术验证其活性,以期为进一步完善苍耳子质量控制和药效学提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Waters Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱系统,配有四元超高压溶剂系统、自动进样恒温样本管理器、柱温箱、PDA 检测器和 Empower 2 色谱工作站(美国 Waters 公司);KQ3200DB 型超声清洗器(江苏昆山超声仪器有限公司);XFB-200 型高速中药粉碎机(吉首市中州制药机械厂);BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司);YM-902 型高精度防

泼水 pH 计(姜堰市樱明仪器仪表有限公司)。

1.2 试剂

对照品:绿原酸(99.39%;批号:110753-200413)和咖啡酸(98.00%;批号:110885-200102)购自中国食品药品检定研究院;1,3-二咖啡酰奎宁酸(99.00%;批号:11042905)、原儿茶醛(99.50%;批号:1103006)、3,4-二咖啡酰奎宁酸(98.50%;批号:12041114)、3,5-二咖啡酰奎宁酸(99.20%;批号:12101101)、4,5-二咖啡酰奎宁酸(98.40%;批号:11081803)、隐绿原酸(99.00%,批号:11112203)和新绿原酸(99.00%;批号:11112202)均购自成都曼斯特化工有限公司,经 ¹H-NMR、¹³C-NMR、MS、IR 和 UV 等光谱检测确认其结构,按归一化法测得其纯度;乙腈和甲醇为色谱纯(德国 SIGMA 公司);磷酸等试剂均为分析纯(天津市富宇精细化工有限公司);水为屈臣氏蒸馏水。

1.3 材料

本研究所用 10 批苍耳子饮片来自不同产地(安徽六安、安徽岳西、福建厦门、合肥南郊、河北安国、河南洛阳、河南固阳、河南驻马店、四川达州、内蒙古包头。按顺序为 S1-S10),经安徽中医药大学第一附属医院韩燕全主任中药师鉴定均为菊科植物苍耳(*Xanthium sibiricum* Part.)的成熟带总苞的果实去刺后的饮片,用前粉碎过 40 目筛。

2 方法和结果

2.1 苍耳子 UPLC 指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱程序为:0~2 min,3%~5% A;2~8 min,5%~10% A;8~8.5 min,10%~15% A;8.5~14 min,15%~20% A;14~17 min,20%~24% A;17~20 min,24%~35% A;20~22 min,35%~50% A;

检测波长为 220 nm;流速 0.25 mL/min,柱温 30 ℃。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称定新绿原酸、原儿茶醛、绿原酸、咖啡酸、隐绿原酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸对照品适量,分别置于棕色量瓶中甲醇溶解,制得各对照品溶液。分别取对照品溶液各一定量逐次稀释,得到浓度分别为 10.120、4.573、44.400、2.680、3.093、2.507、29.333、3.613 和 9.480 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取苍耳子药材粉末 0.3 g,置于 10 mL 棕色量瓶中,甲醇定容至刻度,超声提取 30 min(150 W,40 kHz),放至室温,加甲醇补足损失体积,摇匀,再次静置,临用前用 0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.4 精密度试验 取 S1 号苍耳子供试品溶液,按照“2.1.1”项下的色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图,以 5 号峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.85%,相对峰面积 RSD 均小于 1.25%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取苍耳子药材 S1 号样品平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。以 5 号峰为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.32%,相对峰面积 RSD 均小于 1.64%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取苍耳子供试品溶液(编号 S1),于室温放置 0、2、4、8、12、24 h 时按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。以 5 号峰为参照峰,计

算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 0.89%,相对峰面积 RSD 均小于 1.14%,表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 指纹图谱的建立 将 10 批苍耳子药材色谱图依次导入国家药典委员会研制的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012.130723 版本)中,以 S1 为参照谱图,采用中位数法,时间窗宽度 0.1,得到 10 批苍耳子药材的叠加 UPLC 指纹图谱(图 1)和苍耳子对照指纹图谱(图 2),得到 18 个共有峰,以对照指纹图谱 R 为参照,其相似度分析结果见表 1,各批次苍耳子与对照指纹图谱相似度均 >0.900。

2.1.8 指纹图谱共有峰指认 对 10 批苍耳子药材进行指纹图谱分析,得到 18 个共有峰,通过与对照品指认,确认了 8 个共有峰,见图 2。

2.2 苍耳子网络药理学分析

苍耳子所含化学成分种类较多,其中酚酸类成分作为苍耳子的主要药效成分,具有多种药理作用^[19-20]。因此,基于中药质量标志物可测性和溯源性,将以上指认的 8 个酚酸类成分作为苍耳子 Q-Marker 候选成分。

2.2.1 苍耳子候选化合物靶点预测及成分-靶点网络的构建 将上述筛选出来的 8 个 Q-Marker 候选成分(新绿原酸、原儿茶醛、绿原酸、咖啡酸、隐绿原酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、3,4-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸)分别通过 TCMSP、SwissTargetPrediction 数据库查找 Q-Marker 的作用靶点,去除平台间的重复项,并使用 Uniprot 转化为基因名,得到了与候选成分相关的 118 个靶点,将所有成分

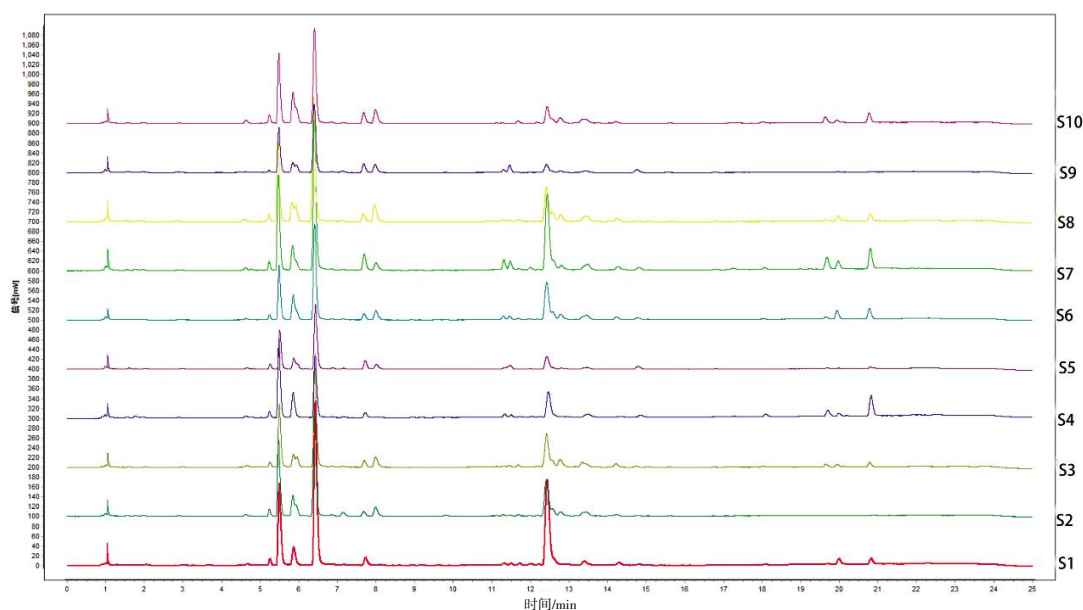


图 1 10 批苍耳子药材的叠加 UPLC 指纹图谱

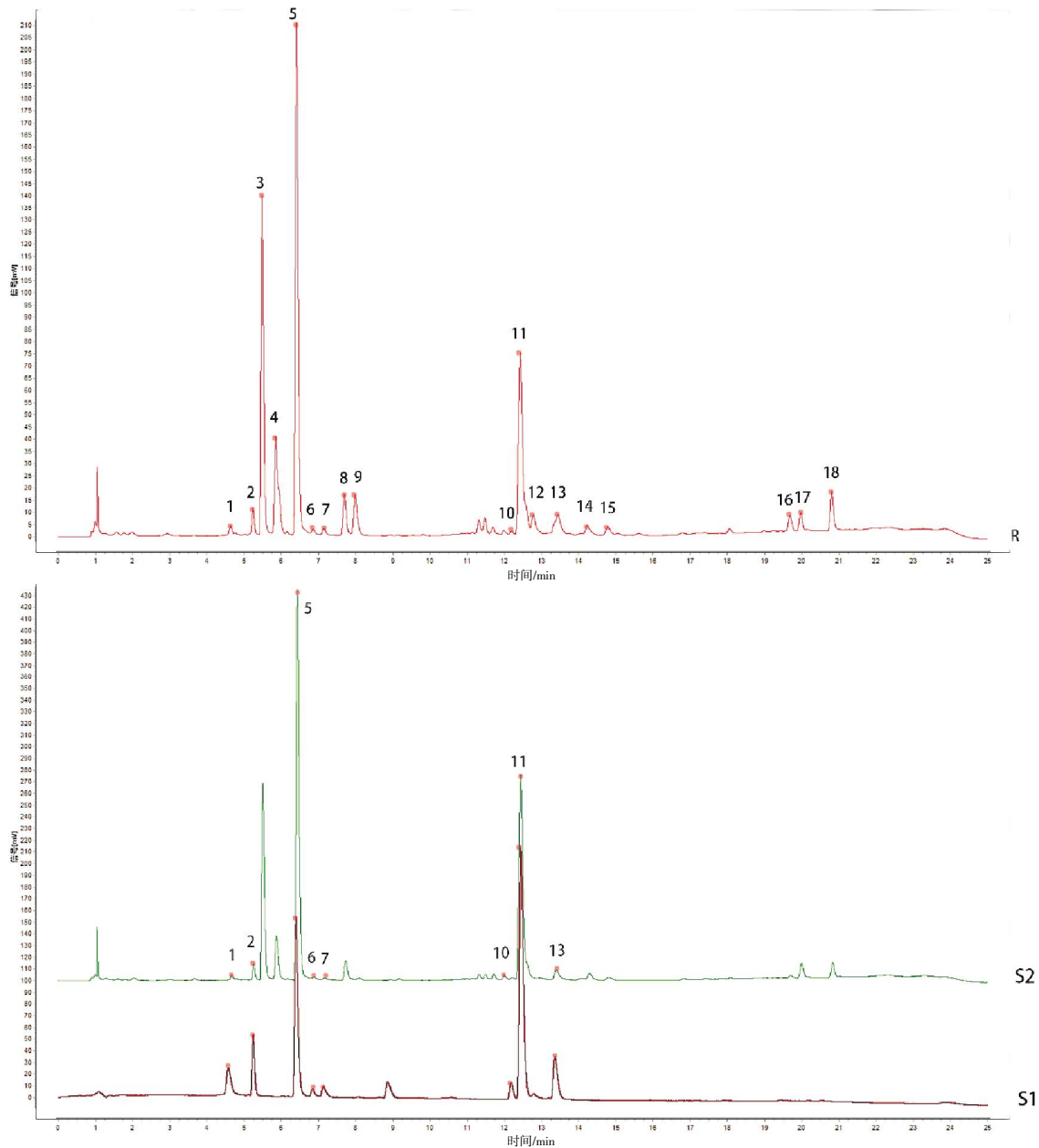


图2 苍耳子指纹图谱共有模式(S1)与混合对照品(S2)对比图

注:1号峰为原儿茶醛;2号峰为新绿原酸;5号峰为绿原酸;6号峰为隐绿原酸;7号峰为咖啡酸;10号峰为3,4-二咖啡酰奎宁酸;11号峰为3,5-二咖啡酰奎宁酸;13号峰为4,5-二咖啡酰奎宁酸。

表1 10批苍耳子样品相似度

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.972	S6	0.986
S2	0.991	S7	0.984
S3	0.981	S8	0.989
S4	0.946	S9	0.943
S5	0.973	S10	0.957

和靶点导入 Cytoscape 3.7.2 软件构建成分-靶点网络图。详见图 3。

2.2.2 靶点蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络分析 将选出的 118 个作用靶点,导入 STRING 数据库(<http://string-db.org/cgi/in->

put.pl)构建 PPI 网络,物种选择为智人(Homo Sapiens),去除无关联的靶点,其他设置不变,生成 PPI 网络图。随后对 PPI 网络图进行拓扑特征分析,筛选 degree 值大于两倍中位数的点作为核心靶点,经筛选后共得到 29 个重要核心靶点。详见表 2。

2.2.3 GO 与 KEGG 富集分析 将已候选 Q-Marker 相关的 29 个核心靶点导入 DAVID 数据库中,限定物种信息为智人(Homo sapiens)进行 GO 与 KEGG 通路富集分析。GO 富集分析共获得 295 条信号通路,其中生物进程(BP)205 个,细胞组分(CC)41 个,分子功能(MF)49 个;KEGG 富集分析共获得 114 个

表 2 苍耳子核心靶点名称及度值

序号	靶点名称	度值(degree)	序号	靶点名称	度值(degree)
1	EGFR	88	16	FYN	34
2	CASP3	82	17	SELP	34
3	PTGS2	74	18	PRKCD	34
4	MMP9	70	19	SYK	32
5	STAT3	70	20	PRKCA	32
6	ESR1	64	21	CA9	30
7	TLR4	54	22	CASP1	30
8	ERBB2	50	23	PTPN1	30
9	CASP8	44	24	COMT	30
10	ITGB1	44	25	ABCB1	30
11	MAPK1	44	26	SELE	28
12	APP	44	27	NFE2L2	28
13	MMP2	44	28	MMP1	28
14	KDR	44	29	CYP3A4	28
15	PIK3CA	42			

信号通路。以 $P < 0.01$ 和 $FDR < 0.01$ 为条件,对 GO 条目和 KEGG 通路进行筛选,选取前 20 个进行可视化分析。详见图 5—6。

结果显示,GO 富集分析主要参与的生物过程(BP)包括细胞迁移的正向调节,血管生成、肽基酪氨酸磷酸化、对脂多糖的反应、蛋白质磷酸化、凋亡过程的正向调控等。涉及膜筏、质膜、细胞质核周区等细胞组分(CC),具有酶结合、蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、ATP 结合、蛋白质结合等分子功能(MF)。KEGG 富集到癌症中的蛋白聚糖、脂质和动脉粥样硬化、癌症的途径、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、冠状病毒感染-COVID-19、癌症中的微小 RNA、乙型肝炎、黏着斑、人类巨细胞病毒感染、PI3K-Akt 信号通路等。

2.2.4 “关键成分-核心靶点-通路”网络构建和分析 本研究根据筛选得到 8 个关键成分,29 个主要靶点,81 个主要信号通路导入 Cytoscape 3.7.2 软件构成分-靶点-通路网络图(见图 7)。靶点 MAPK1 (degree 73)、PIK3CA(degree 69)、CASP8(degree 29)、EGFR(degree 37)、PRKCA(degree 47)、CASP3(degree 36)、TLR4 (degree 25)、STAT3 (degree 24)、ERBB2

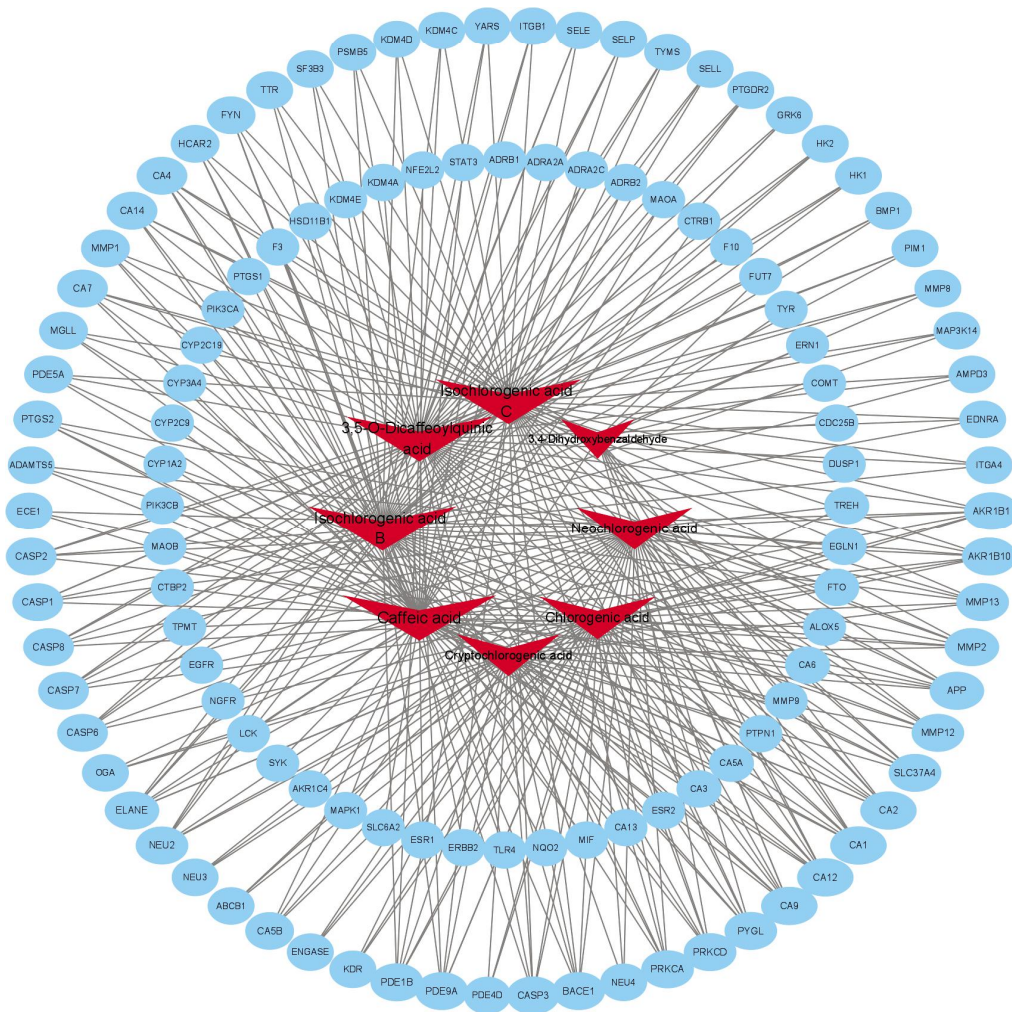


图 3 苍耳子 Q-Marker 候选成分-靶点网络图

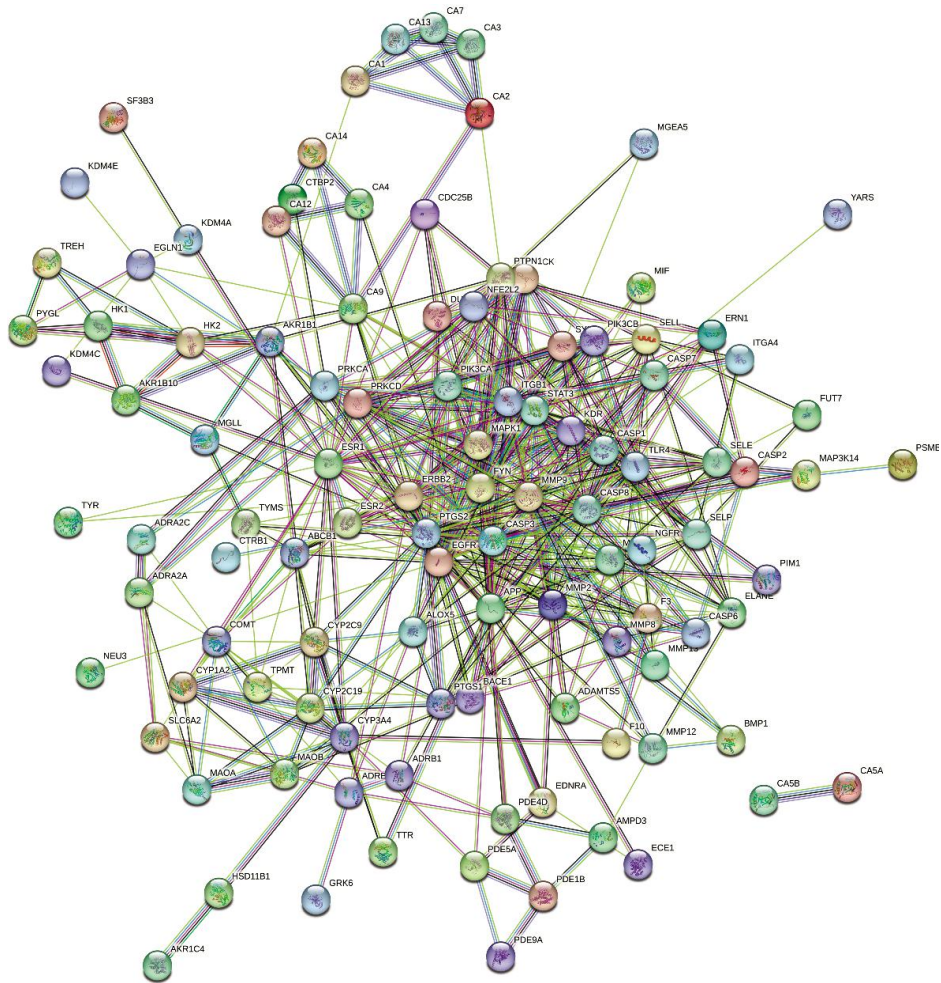


图 4 苍耳子靶点 PPI 网络图

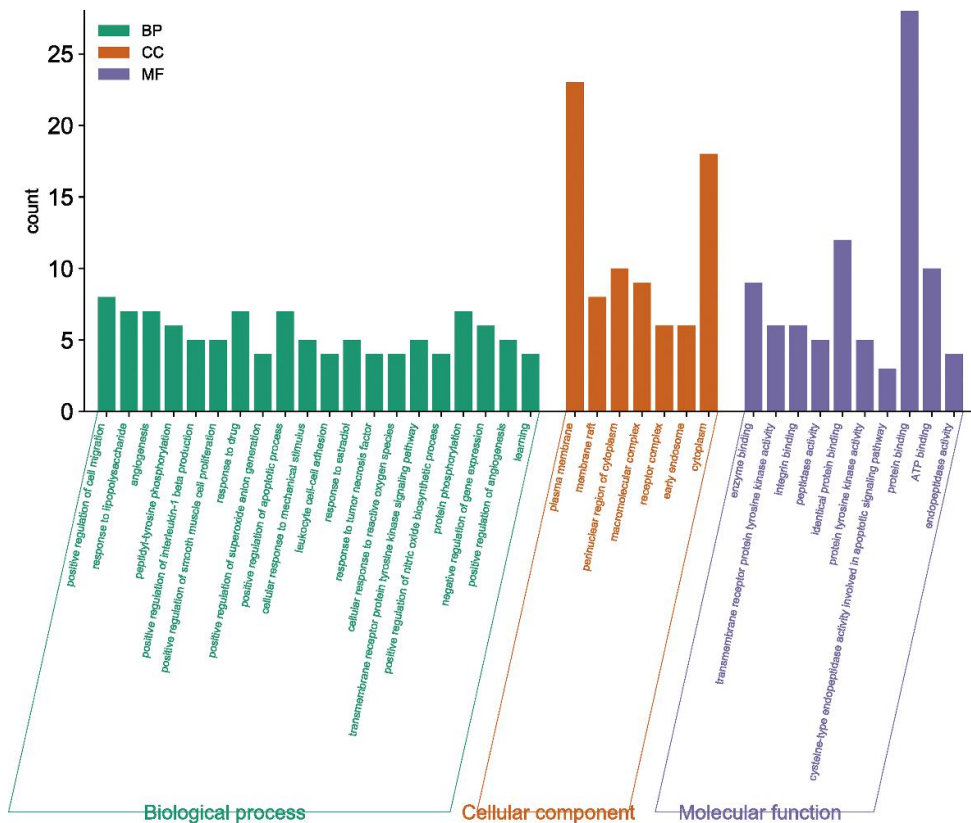


图 5 GO 富集分析

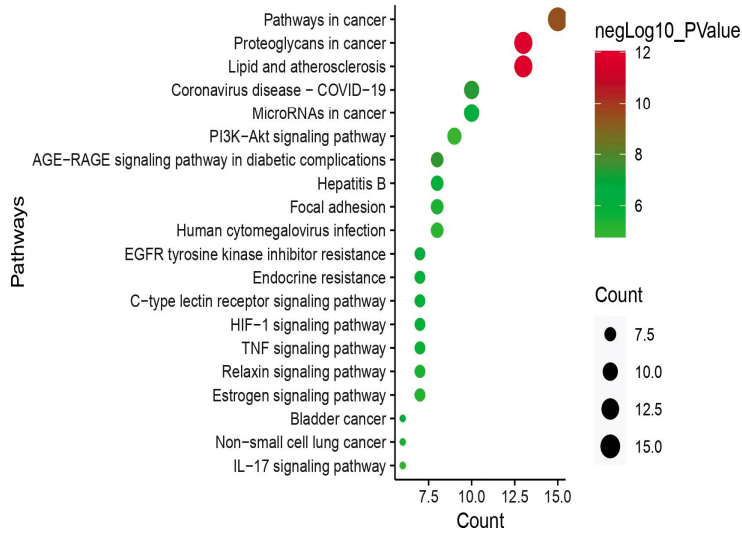


图6 KEGG通路富集分析

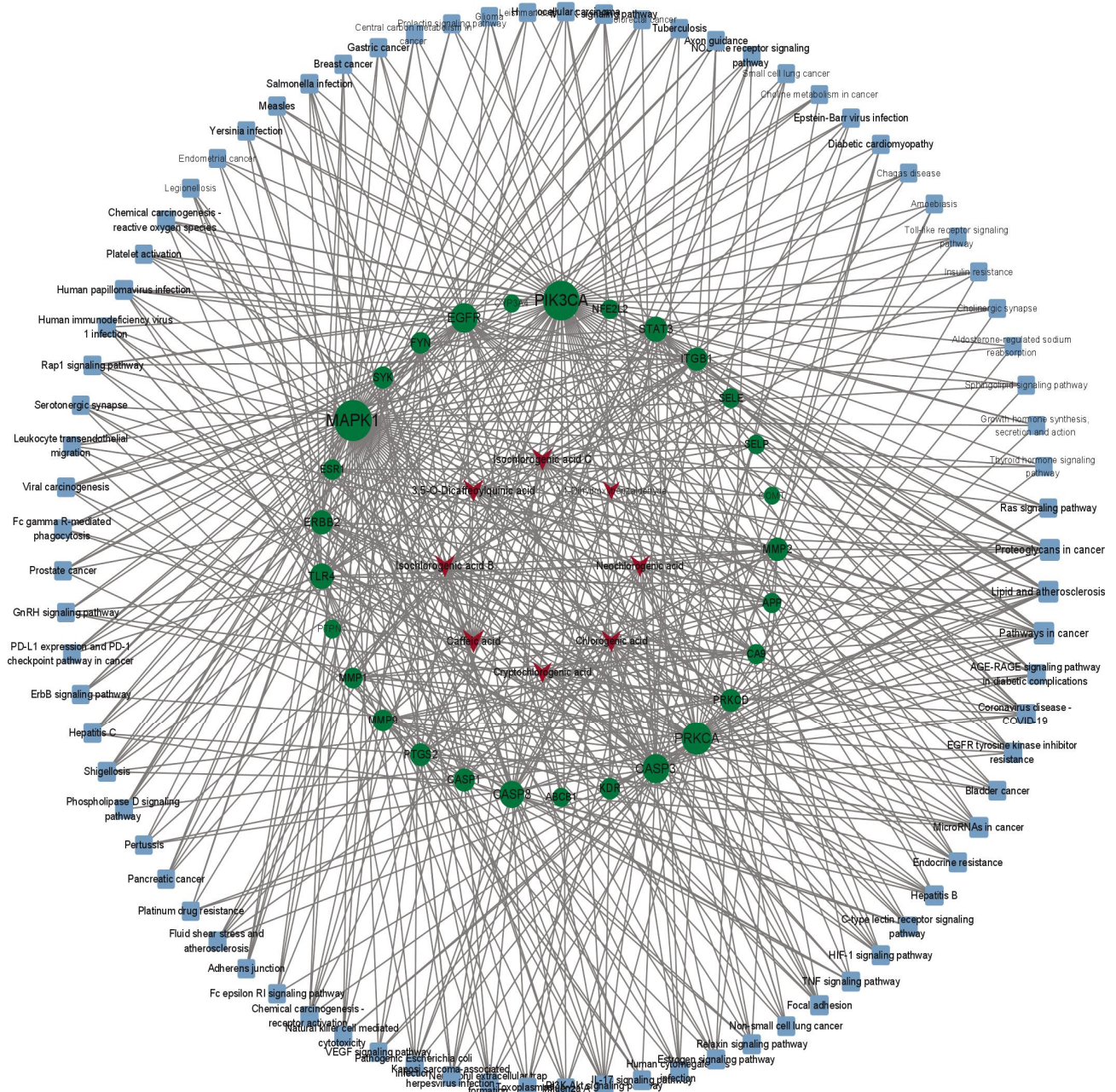


图7 苍耳子成分-靶点-通路网络图

表3 苍耳子候选 Q-Marker 与其核心靶点对接结合能(kJ·mol⁻¹)

关键活性成分	PIK3CA	CASP8	EGFR	PRKCA	CASP3	TLR4	STAT3	ERBB2	MMP2	MAPK1
Caffeic acid(咖啡酸)	-6.2	-	-4.0	-	-	-4.9	-5.0	-5.9	-7.2	-5
Neochlorogenic acid(新绿原酸)	-	-6.0	-	-6.9	-7.6	-	-	-	-8.8	-
Chlorogenic acid(绿原酸)	-	-5.4	-	-6.7	-7.8	-	-	-	-8.6	-
Isochlorogenic acid B(3,4-二咖啡酰奎宁酸)	-	-6.0	-	-7.5	-5.2	-	-	-	-9.4	-
3,5-O-Dicaffeoylquinic acid(3,5-二咖啡酰奎宁酸)	-	-6.4	-	-7.3	-8.7	-	-	-	-8.6	-
Isochlorogenic acid C(4,5-二咖啡酰奎宁酸)	-	-6.0	-	-7.2	-8.3	-	-	-	-9.2	-
Cryptochlorogenic acid(隐绿原酸)	-	-	-	-6.4	-	-	-	-	-8.8	-
3,4-Dihydroxybenzaldehyde(原儿茶醛)	-5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-4.7

(degree 21)、MMP2(degree 18)具有较大 degree 值,可作为核心靶点。通路中的癌症蛋白聚糖(degree 13)、癌症中的微小RNA(degree 10)、脂质和动脉粥样硬化(degree 13)、癌症的途径(degree 15)、冠状病毒感染-COVID-19(degree 10)的 degree 值为两倍中位数及以上,为重要通路。

2.3 分子对接验证分析

为进一步明确核心成分和核心靶点的相关性和验证其结合活性,使用 AutoDock Vina 1.5.7 软件将以上 8 个核心成分和 10 个核心靶点分别进行对接。

以候选的 8 个核心成分为配体,在 PubChem 数据库中下载其 3D 结构 sdf 格式文件,以核心靶点 MAPK1、PIK3CA、CASP8、EGFR、PRKCA、CASP3、TLR4、STAT3、ERBB2、MMP2 为受体,在 RSCB PDB 数据库中物种选择“人”,下载其 3D 结构的 pdb 格式文件^[21]。使用 pymol 和 Auto Dock Tools 1.5.7 软件分别对受体和配体进行去水、加氢、加电荷处理,Auto Dockvina 进行分子对接,得到受体配体结合能(见表 3)。结合能表明受体配体的相互作用强度,结合能越低,表明两者结合越稳定。一般认为,结合能 <-4.0 kcal·mol⁻¹时,受体与配体之间有较强的结合能力^[22]。分子对接结果表明 8 个核心成分与核心靶点结合能均 ≤ -4.0 kcal·mol⁻¹,这表明本研究中候选 Q-Marker 与核心靶点之间均有较强的亲和能力,初步验证了指纹图谱和网络药理学的筛选结果。核心靶点 CASP8、PRKCA、CASP3、MMP2 与较多核心成分有关联,根据受体配体结合能的大小,选取其中结合活性较好的进行可视化分析。详见图 8。

3 讨论

中药指纹图谱技术是一种综合、可量化的检测手段,具有整体性和模糊性的特点。指纹图谱具有硬件条件简单,对中药成分的反应较高、稳定性、重

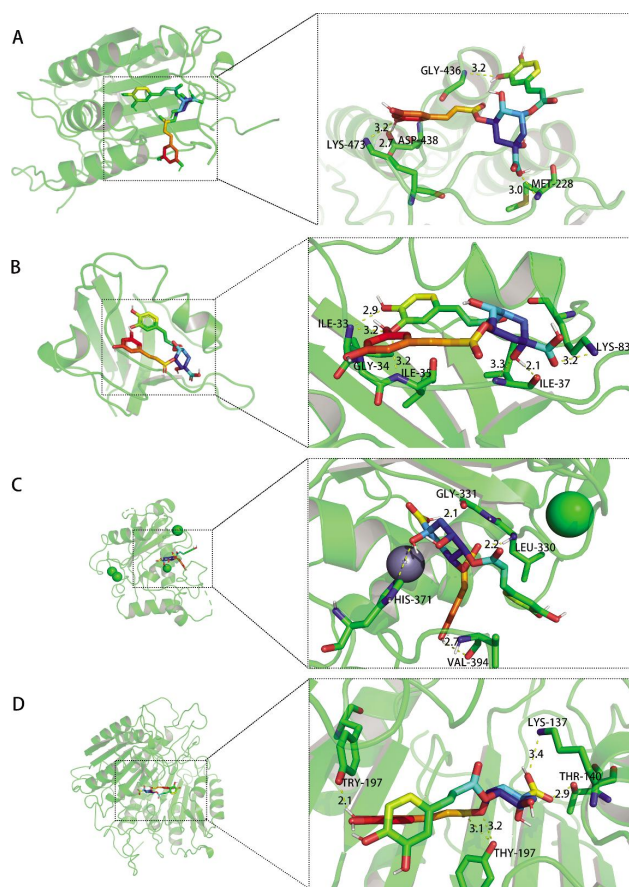


图8 分子对接可视化结果

注:A.3,5-二咖啡酰奎宁酸-CASP8;B.3,5-二咖啡酰奎宁酸-PRKCA;C.3,4-二咖啡酰奎宁酸-CASP3;D.4,5-二咖啡酰奎宁酸-MMP2。

复性好及指标成分易检测等优势,TOF/MS 等质谱法虽可以检测到较多成分,但是多数成分含量较低,实际应用于中药质量控制在硬件和软件上均有较大难度。网络药理学是基于系统生物学的理论,着重于生物系统的网络分析,在多组分、多靶点和多途径的中药研究中,网络药理学强调整体性和系统性的研究方式与中医药理论高度相似。因此,本研究通过 UPLC 指纹图谱与网络药理学,筛选得到了苍耳子中 8 个候选 Q-Marker,分别为新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、原儿茶醛、3,4-二咖啡酰奎宁

酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸。网络药理学分析得此8个成分主要与苍耳子抗炎、抗病毒和抗肿瘤等作用相关。分子对接展现了此8个成分与关键靶点之间的分子结合力,表明其具有良好的生物活性。初步确定了以上8种成分可以作为苍耳子的Q-Marker。

文献研究发现,酚酸类成分如原儿茶醛、新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸具有抗炎、抗癌、抗血栓和抗氧化活性等^[23-27];咖啡酸在体内外均有显著抗氧化、抗菌活性,并具有调节肠炎的作用^[28-30];1,3-二咖啡酰奎宁酸可通过刺激海马 nNOS-NO 活性来缓解抑郁样表型,具有抗抑郁作用^[31];3,4-二咖啡酰奎宁酸对非酒精性脂肪性肝炎具有较好的保护作用^[32];3,5-二咖啡酰奎宁酸可通过调节 HMGB1/TLR4/NF- κ B 通路减轻肝纤维化,并对急性肺损伤具有较好的治疗作用^[33-34];4,5-二咖啡酰奎宁酸可保护肝脏、抗乙肝,并对乳腺癌具有潜在的治疗作用^[35]。核心靶点 PIK3CA、CASP8、EGFR、PRKCA、CASP3、TLR4、STAT3、ERBB2、MMP2 具有较高 degree 值,可能与苍耳子抗炎、抗菌、抗肿瘤等相关。KEGG 富集的主要通路中发现其与新型冠状病毒感染具有较高的关联,其对新型冠状病毒感染的相关药效作用值得进一步研究。苍耳子 GO 富集分析中生物进程 BP 主要涉及细胞迁移、蛋白质磷酸化;细胞组分 CC 主要为质膜、胞质核周区等;分子功能 MF 主要涉及蛋白质结合、ATP 结合等。分子对接验证了其 Q-Marker 与核心靶点有较好的结合能力,理论上证实了 Q-Marker 具有较好的生物活性。

中药进入机体发挥作用是个相对复杂的过程,需经炮制、胃肠吸收、肝药酶代谢等多个途径入血发挥药效作用,其中化学成分经各级影响最后才能形成药效分子。从中药指纹图谱与网络药理学分析筛选中药质量标志物具有一定的科学性,其均具有整体性的特点。综上所述,本研究采用指纹图谱结合网络药理学的方式,初步筛选预测出新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸、原儿茶醛、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸为苍耳子的候选 Q-Marker,实验为苍耳子质量控制及其作用机制研究提供了一定的参考,也为后续进一步预测和验证苍耳子质量标志物提供了基础。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:169.
- [2] SHI Y S, LIU Y B, MA S G, et al. Bioactive sesquiterpenes and lignans from the fruits of *Xanthium sibiricum*[J]. *Journal of Natural Products*, 2015, 78(7): 1526-1535.
- [3] JIANG H, YANG L, MA G X, et al. New phenylpropanoid derivatives from the fruits of *Xanthium sibiricum* and their anti-inflammatory activity[J]. *Fitoterapia*, 2017, 117: 11-15.
- [4] 姜海,杨柳,邢绪东,等.苍耳子中木脂素类化学成分研究[J]. *中国中药杂志*,2018,43(10):2097-2103.
- [5] 汪洋.中药苍耳子的毒性物质基础及中毒机制研究[D].上海:第二军医大学,2010.
- [6] 王虹,何桂霞,沈谦,等.超临界 CO₂ 萃取和水蒸气蒸馏法提取苍耳子挥发油的比较研究[J]. *湖南中医药大学学报*,2009,29(1): 44-46.
- [7] 韩婷.苍耳子的生物活性成分及品质评价[D].上海:第二军医大学,2006.
- [8] 延光海,金光玉,李光昭,等.苍耳子提取物抑制大鼠肥大细胞活化的机制研究[J]. *解剖科学进展*,2010,16(2):164-166,170.
- [9] TAO L, FAN F T, LIU Y P, et al. Concerted suppression of STAT3 and GSK3 β is involved in growth inhibition of non-small cell lung cancer by Xanthatin[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e81945.
- [10] TAO L, CAO Y, WEI Z, et al. Xanthatin triggers Chk1-mediated DNA damage response and destabilizes Cdc25C via lysosomal degradation in lung cancer cells[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2017, 337: 85-94.
- [11] JU A, CHO Y C, CHO S. Methanol extracts of *Xanthium sibiricum* roots inhibit inflammatory responses via the inhibition of nuclear factor- κ B (NF- κ B) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in murine macrophages [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 174: 74-81.
- [12] YEOM M, KIM J H, MIN J H, et al. *Xanthium fructus* inhibits inflammatory responses in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages through suppressing NF- κ B and JNK/p38 MAPK[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 176: 394-401.
- [13] SHARIFI-RAD J, HOSEINI-ALFATEMI S M, SHARIFI-RAD M, et al. Phytochemical compositions and biological activities of essential oil from *Xanthium strumarium* L [J]. *Molecules*, 2015, 20(4): 7034-7047.
- [14] WANG H Z, LI Y, REN Z H, et al. Optimization of the microwave-assisted enzymatic extraction of *Rosa roxburghii* Tratt. polysaccharides using response surface methodology and its antioxidant and α -D-glucosidase inhibitory activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 112: 473-482.
- [15] 谢清,朱晓奕,汤建,等.苍耳子的本草考证[J]. *中国野生植物*

- 资源,2018,37(2):55-59.
- [16] 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.
- [17] 李 晴,朱香梅,石雨荷,等.基于指纹图谱和网络药理学的白术质量标志物预测分析[J].中国药事,2022,36(4):404-416.
- [18] 范先平,汪 波,聂 晶,等.基于中药血清化学与网络药理学筛选玄参质量标志物[J].中国医院药学杂志,2022,42(13):1305-1310.
- [19] HUANG M H, WANG B S, CHIU C S, et al. Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of *Xanthii Fructus* extract[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 135(2): 545-552.
- [20] RUAN Z, LIU S Q, ZHOU Y, et al. Chlorogenic acid decreases intestinal permeability and increases expression of intestinal tight junction proteins in weaned rats challenged with LPS[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e97815.
- [21] YANG X H, LIU H H, LIU J N, et al. Rational selection of the 3D structure of biomacromolecules for molecular docking studies on the mechanism of endocrine disruptor action [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2016, 29(9): 1565-1570.
- [22] 陈 佳,李 伟,刘 征,等.基于 GEO 数据库的 DPN 相关靶点挖掘及与芍药苷分子对接研究[J].广东药科大学学报,2020,36(4): 514-518.
- [23] KIM M, CHOI S Y, LEE P, et al. Neochlorogenic acid inhibits lipopolysaccharide-induced activation and pro-inflammatory responses in BV2 microglial cells[J]. *Neurochemical Research*, 2015, 40(9): 1792-1798.
- [24] CHE J H, ZHAO T X, LIU W, et al. Neochlorogenic acid enhances the antitumor effects of pingyangmycin via regulating TOP2A[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2021, 23(2): 158.
- [25] PARK SY, JIN ML, YI EH, et al. Neochlorogenic acid inhibits against LPS-activated inflammatory responses through up-regulation of Nrf2/HO-1 and involving AMPK pathway[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2018, 62: 1-10.
- [26] LI J, WANG S P, WANG Y Q, et al. Comparative metabolism study on chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid and neochlorogenic acid using UHPLC-Q-TOF MS coupled with network pharmacology[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2021, 19(3): 212-224.
- [27] ZHOU Y. The protective effects of cryptochlorogenic acid on β -cells function in diabetes in vivo and vitro via inhibition of ferroptosis[J]. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2020, 13: 1921-1931.
- [28] SATO Y, ITAGAKI S, KUROKAWA T, et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, 403(1/2): 136-138.
- [29] AGUNLOYE O M, OBOH G. Caffeic acid and chlorogenic acid: Evaluation of antioxidant effect and inhibition of key enzymes linked with hypertension[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2018, 42(4): e12541.
- [30] ZIELIŃSKA D, ZIELIŃSKI H, LAPARRA-LLOPIS J M, et al. Caffeic acid modulates processes associated with intestinal inflammation[J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 554.
- [31] LIM D W, KIM M, YOON M, et al. 1, 3-dicaffeoylquinic acid as an active compound of *Arcium lappa* root extract ameliorates depressive-like behavior by regulating hippocampal nitric oxide synthesis in ovariectomized mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(8): 1281.
- [32] LIU X, HUANG K, NIU Z R, et al. Protective effect of isochlorogenic acid B on liver fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis of mice[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2019, 124(2): 144-153.
- [33] LIU X, HUANG K, ZHANG R J, et al. Isochlorogenic acid A attenuates the progression of liver fibrosis through regulating HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 582.
- [34] WANG Q, XIAO L. Isochlorogenic acid A attenuates acute lung injury induced by LPS via Nf- κ B/NLRP3 signaling pathway[J]. *American Journal of Translational Research*, 2019, 11(11): 7018-7026.
- [35] YU J K, YUE C H, PAN Y R, et al. Isochlorogenic acid C reverses epithelial-mesenchymal transition via down-regulation of EGFR pathway in MDA-MB-231 cells[J]. *Anticancer Research*, 2018, 38(4): 2127-2135.

(本文编辑 苏 维)