

· 数据挖掘 ·

## 基于次生代谢产物和网络药理学探索黄连及黄连花茎 抗菌作用的物质基础及机制差异

杨慧, 朱红梅, 伍蕊嗣, 李彩虹, 贺英俊, 魏瑜, 徐玉玲\*  
(成都大学, 成都 610106)

**[摘要]** 目的:基于次生代谢产物与网络药理学探讨黄连及黄连花茎抗菌作用机制差异。方法:基于超高效液相色谱-质谱法(UPLC-MS/MS)检测平台,自建黄连及黄连花茎次生代谢产物数据库(MWDB),通过代谢物信息公共数据库以及多元统计分析相结合的手段研究了黄连花茎和黄连的次生代谢组差异,筛选含量相对较高的黄连花茎18个代谢产物和11个黄连代谢产物,借助BATMAN-TCM数据库获取成分作用靶点,于UniProt数据库中查询靶点对应的基因。通过GeneCards检索抗菌基因,使用Venny平台获得成分和抗菌的交集基因。通过DAVID进行基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,预测其作用机制,并通过GraphPad Prism软件和OmicShare数据库绘制柱状图及高级气泡图使结果可视化。通过STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,Cytoscape 3.7.2软件构建成分-靶标-通路网络,对网络药理学分析结果对比二者抗菌差异性。结果:通过网络药理学得到黄连发挥抗菌有效活性成分比黄连花茎少5个,抗菌靶点比黄连花茎多55个;预测黄连和黄连花茎对抗菌作用的共同成分为槲皮素和小檗碱;参与抗菌作用的不同关键基因有p38丝裂原活化蛋白激酶14(MAPK14),过氧化氢酶(CAT);涉及的不同关键通路有疟疾及Toll样受体信号通路。结论:黄连与黄连花茎主要通过多靶点、多通路的方式发挥抗菌作用,可为黄连和黄连花茎抗菌机制研究提供新的思路和线索,同时为黄连花茎资源的综合开发和合理应用提供了新的发展方向。

**[关键词]** 网络药理学;次生代谢产物;黄连;黄连花茎;抗菌;超高效液相色谱-质谱法(UPLC-MS/MS)

**[中图分类号]** R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)10-0133-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20210611

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210309.0947.001.html>

**[网络出版日期]** 2021-3-9 20:07

### Analysis on Material Basis and Mechanism Difference of Antibacterial Effect of *Coptis chinensis* and Its Flower Stalk Based on Secondary Metabolites and Network Pharmacology

YANG Hui, ZHU Hong-mei, WU Rui-si, LI Cai-hong, HE Ying-jun, WEI Yu, XU Yu-ling\*  
(Chengdu University, Chengdu 610106, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the difference in antibacterial mechanism between *Coptis chinensis* and its flower stalk based on secondary metabolites and network pharmacology. **Method:** Based on the ultraperformance liquid chromatography mass spectrometry (UPLC-MS/MS) detection platform, the secondary metabolites database of *C. chinensis* and its flower stalk (MWDB) was built. The common database of metabolites information and the multivariate statistical analysis were used to study the differences of secondary metabolites between *C. chinensis* and its flower stalk and screen out 18 metabolites of the flower stalk and 11 metabolites of *C. chinensis* with a high content. BATMAN-TCM database was used to obtain the targets of component action, and their corresponding genes were inquired in the UniProt database. GeneCards was retrieved

**[收稿日期]** 20200812(021)

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2017YFC1701900);四川省大学生创新创业训练计划项目(s202011079116x,S201911079012)

**[第一作者]** 杨慧,从事中成药再评价及中药资源综合利用研究,Tel:028-864616063,E-mail:2316359352@qq.com

**[通信作者]** \*徐玉玲,硕士,副教授,从事中成药新药及质量再评价研究,Tel:028-61302236,E-mail:xuyuling@edu.edu.cn

for antimicrobial genes, and the intersection genes of components and antimicrobials were obtained on Venny platform. Through DAVID gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis, the mechanism of its action was predicted, and the results were visualized through histogram and advanced bubble diagram drawn by GraphPad Prism software and OmicShare database. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed by STRING, database and the component-target-pathway network was constructed by Cytoscape 3.7.2 software. The antibacterial differences were compared based on the results of network pharmacology analysis. **Result:** Through network pharmacology, the antibacterial active components of *C. chinensis* were 5 fewer than that of the flower stalk, 55 more antibacterial targets than that of the flower stalk; quercetin and berberine were predicted to be the common components of the antagonistic action of *C. chinensis* and the flower stalk. Key genes involved in antimicrobial action were p38 Mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14), catalase (CAT); malaria and Toll-like receptor signaling pathway were different key pathways involved in antimicrobial activity. **Conclusion:** *C. chinensis* and the flower stalk mainly exert the antibacterial effect in a multi-target and multi-pathway manner, which can offer new ideas and clues for the study of antibacterial mechanism of *C. chinensis* and the flower stalk, and provide a new development direction for the comprehensive development and rational application of the flower stalk resources.

**[Key words]** network pharmacology; secondary metabolites; *Coptis chinensis*; *C. chinensis* flower stalk; antibacterial; ultra performance liquid chromatography mass spectrometry (UPLC-MS/MS)

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis*, 三角叶黄连 *C. deltoidea* 或云连 *C. teeta* 的干燥根茎, 分别习称为“味连”“雅连”“云连”, 具有清热燥湿、泻火解毒的功效, 主要用于治疗湿热痞满、呕吐吞酸、泻痢等<sup>[1]</sup>。其药理作用主要与其根茎所含的多种生物碱有关, 抗菌作用广泛, 涉及 45 种细菌菌种<sup>[2]</sup>, 有“中药抗生素”的美称, 含有多种异喹啉类生物碱, 小檗碱含量高。

黄连在移栽后第 2 年春季开花, 开花后会消耗植物大量养分, 而摘除花茎能使黄连根茎增产, 因此黄连生产基地除了会将少数黄连花茎留种外, 其余均摘除丢弃。但近年来研究发现, 黄连花茎具有降血脂、降血糖、降血压、抗氧化、促进排便和改善心肌缺血再灌注损伤等作用<sup>[3-4]</sup>, 部分地区将黄连花茎作为茶叶饮用, 以改善肠道菌群和促进排便。但是黄连花茎的化学成分还未得到充分研究, 与其根茎的物质基础和作用机制差别也不明确, 导致了生物量蕴藏丰富的黄连花茎被丢弃, 从而造成了中药材植物资源的浪费, 并对环境造成一定的影响。基于我国“绿色发展”及“资源综合利用”的发展理念, 结合产地食用历史, 为了综合利用黄连中药材资源, 本文对其花进行活性成分及抗菌作用机制进行研究, 并与黄连进行抗菌差异对比, 为深度开发黄连中药材资源以及为黄连花茎作为药食同源植物的进一步资源开发提供参考。

随着组学分析的发展, 通过网络药理学方法对

中药及中药方剂进行分析研究已经越来越受到研究者的重视<sup>[5]</sup>, 网络药理学在中药领域有着重要的作用, 提供了诸多便利, 但也存在着一些不足<sup>[6]</sup>, 如数据库还不完善, 网络药理学研究更多的是依靠公共的数据库, 因此数据的准确性, 可靠性以及完整性对预测结果有着极大的影响<sup>[7]</sup>, 相比于大多数中药材, 包含有民族药和区域用药化学成分信息可用的数据较少, 没有得到广泛的认识, 其数据信息还需进一步补充和验证。超高效液相色谱-质谱法 (UPLC-MS/MS) 具有专属性强, 灵敏度高及分析速度快的特点<sup>[8-10]</sup>, 在多种化合物检测中具有较强的优势。本研究采用 UPLC-MS/MS 检测黄连及黄连花次生代谢产物, 可弥补黄连及黄连花茎在网络药理学数据库不完善的缺陷。

中药的药用活性成分多来源于药用植物次生代谢产物, 是其发挥药效的物质基础<sup>[11]</sup>。次生代谢产物是生物体表型的基础, 能帮助更直观有效地了解生物学过程及其机制。在目前中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 数据库中, 黄连及黄连花茎成分收录数目分别为 48 条及 0 条, 鉴于目前数据库中黄连及黄连花茎成分收录不完整, 本文通过 UPLC-MS/MS 检测平台, 自建黄连及黄连花茎数据库迈维数据库 (MWDB), 代谢物信息公共数据库以及多元统计分析相结合的手段, 共得到黄连花茎主要次生代谢产物含有小檗碱, L-缬氨酸, 鹰嘴豆素, 6-氨基己酸, "3, 7-二氧-甲基槲皮素", 4-香豆酸, 松

脂醇,奎宁酸,植醇,腺嘌呤,异阿魏酸,槲皮素 3-O-芸香糖苷(芦丁),乙酰苯胺,槲皮素,金丝桃苷,腺苷,异槲皮苷及桑色素水合物。黄连主要次生代谢产物含有小檗碱,小檗红碱,盐酸表小檗碱,(R)-氢化小檗碱,氧化小檗碱,菊糖苷,厚朴内脂,巴马汀,槲皮素,黄连碱,甲基小檗碱。

本研究在前期研究次生代谢产物的基础上,基于网络药理学技术,寻找具有抗菌作用的活性成分及潜在作用靶点,探索黄连花萼和黄连的主要物质基础与靶点、抗菌的相互作用关系,以期系统、全面地阐述其药理作用机制,同时为黄连花萼资源的综合开发和合理应用提供方向。

## 1 材料

黄连、黄连花萼(批号分别为201803101, 20180310-3-1,产地重庆石柱县)。Shim-pack UFLC CBM30A型超高效液相色谱(日本岛津公司),4500 QTRAP型质谱(Applied Biosystems)。

TCMSP (<http://tcmssp.com/tcmssp.php>), PharmMapper 数据库 (<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/submitfile.html>),有机小分子生物活性数据(PubChem)数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Uniprot (<https://www.uniprot.org/>), GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>), Venny (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>), STRING 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>), DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>), OmicShare (<https://www.omicshare.com/>)。绘图软件为 GraphPad Prism 6, Cytoscape version 3.7.2, Analyst 1.6.1, MultiaQuant 3.0.3。

## 2 方法

### 2.1 黄连和黄连花萼化学成分采集

**2.1.1 样品成分提取** 取黄连及黄连花萼,真空冷冻干燥后,用研磨仪研磨(30 Hz, 1.5 min)至粉末状,称取粉末100 mg,精密称定,溶解于1.0 mL甲醇提取液中,冷藏24 h(4 °C,期间涡旋3次),离心(转速1万  $r \cdot \min^{-1}$ )10 min后,吸取上清液,用微孔滤膜(0.22  $\mu\text{m}$ )过滤样品,并保存于进样瓶中,待用。

**2.1.2 色谱质谱采集条件** 色谱条件为 ACQUITY UPLC HSS T3-C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ );流动相超纯水(A)-乙腈(B)(超纯水中加入0.04%的乙酸,乙腈中加入0.04%的乙酸);洗脱梯度(0~11 min, 95%A; 11~12 min, 95%~5%A; 12~12.1 min, 5%~95%A; 12.1~15 min, 95%A);柱温40 °C;进样量5  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI)设置温度550 °C,离子源电压5 500 V,气帘气压力(CUR)172.4 kPa,碰撞诱导电离(CAD)参数设置为高。在三重四级杆(QQQ)中,每个离子对是根据优化的去簇电压(DP)和碰撞能(CE)进行扫描检测。

**2.1.3 代谢物定性定量分析** 目前国内外已有研究者采用MWDB及代谢物信息公共数据库进行相关研究<sup>[12-13]</sup>。黄连花萼中代谢物定量是利用三重四级杆质谱的多反应监测模式(MRM)分析完成,根据二级谱信息进行物质定性,分析时去除了同位素信号,含K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>离子的重复信号,以及本身是其他更大分子量物质的碎片离子的重复信号,数据采集仪器系统主要包括超高效液相色谱和串联质谱,最后利用软件Analyst 1.6.1处理质谱数据,得到黄连花萼和黄连的主要次生代谢产物。

**2.2 成分基因及相关疾病基因的获得** 借助 PubChem 数据库下载成分2D, 3D结构,登录 PharmMapper 数据库上传成分结构,获得成分蛋白靶标。再借助 UniProt 数据库,以蛋白靶标的 UniProt ID 进行检索,并得到靶标蛋白所对应的基因。借助 GeneCards 数据库,以“Anti-bacterial”为关键词检索,筛选出与抗菌有关的基因。借助 Venny 2.1.0 平台获得成分与疾病的交集基因。

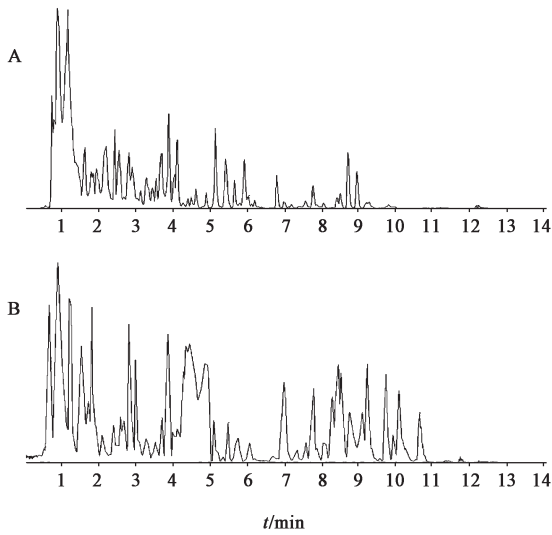
**2.3 基因本体(GO)富集分析,京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析及其可视化** 借助 STRING 数据库进行 GO 富集分析得到生物过程(BP),细胞组成(CC)及分子功能(MF)3类分析的结果。分别选取前20个分析结果,用绘图软件 GraphPad Prism 作柱形图,实现 GO 富集分析可视化。借助 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析 OmicShare 绘图网站绘制高级气泡图,完成分析结果可视化。

**2.4 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络、成分-靶标-通路网络** 借助 STRING 平台,设定 minimum required interaction score 值为0.9,构建 PPI 网络, Cytoscape 3.7.2 软件构建成分-靶标-通路网络。

## 3 结果

**3.1 成分分析** 利用软件 Analyst 1.6.1 处理质谱数据。混样质控 QC 样本的总离子流图(TIC)及 MRM 代谢物检测多峰图(XIC)。见图1,2,表1。

基于自建代谢数据库,对样本的代谢物进行了质谱定性定量分析。图中多反应监测模式 MRM 代谢物检测多峰图展示了样本中能够检测到的物质,每个不同颜色的质谱峰代表检测到的一个代谢物。



A. 黄连; B. 黄连花茎(图2~7同)

图1 样品质谱分析总离子流

Fig. 1 Analysis of total ion flow by quality spectroscopy

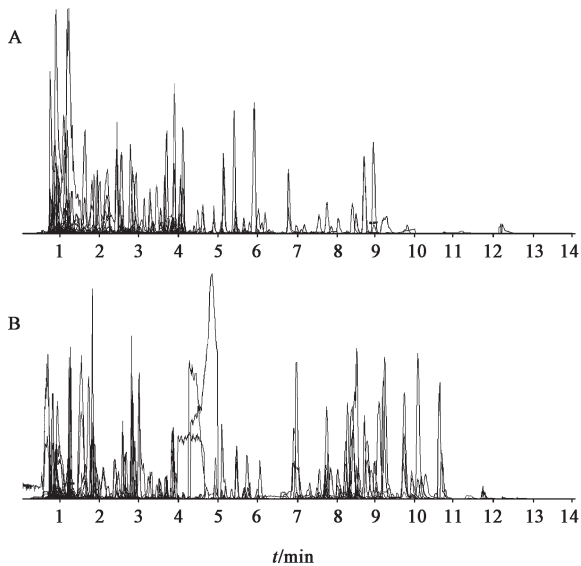


图2 MRM代谢物检测多峰

Fig. 2 MRM multi-peak diagram for metabolite detection

通过三重四级杆筛选出每个物质的特征离子,在检测器中获得特征离子的信号强度(CPS),用MultiQuant软件打开样本下机质谱文件,进行色谱峰的积分和校正工作,每个色谱峰的峰面积代表对应物质的相对含量。

通过对黄连花茎和黄连次生代谢产物定性定量分析,得到黄连次生代谢产物809个,黄连花茎次生代谢产物725个,共有代谢产物有538个。主要共有代谢产物为黄酮类、脂质、生物碱、有机酸及衍生物、核苷酸及衍生物。

由次生代谢产物含量高低进行排序,通过数据库可以得到靶标的黄连花茎成分有18个,224个靶

表1 UPLC-MS/MS测得黄连和黄连花茎样品中的化学成分

Table 1 Chemical composition of *Coptis chinensis* and its flower stalk samples measured by UPLC-MS/MS

No.	$t_R$ /min	化合物	分类	相对分子质量/Da
1	4.64	小檗碱	生物碱	336
2	0.85	L-缬氨酸	氨基酸及其衍生物	117
3	7.12	鹰嘴豆素	异黄酮	284
4	0.85	6-氨基己酸	有机酸及其衍生物	131
5	5.84	"3,7-二氧-甲基槲皮素"	黄酮醇	330
6	3.84	4-香豆酸	苯丙素类	164
7	5.34	松脂醇	苯丙素类	358
8	0.82	奎宁酸	有机酸及衍生物	192
9	8.89	植醇	萜烯	296
10	1.16	腺嘌呤	核苷酸和衍生物	135
11	4.04	异阿魏酸	苯丙素类	194
12	3.64	槲皮素 3-O-芸香糖苷(芦丁)	黄酮醇	610
13	1.81	乙酰苯胺	其他	135
14	5.08	槲皮素	黄酮类	302
15	3.79	金丝桃苷	黄酮类	464
16	1.8	腺苷	核苷酸和衍生物	267
17	3.9	异槲皮苷	黄酮类	464
18	5.08	桑色素水合物	黄酮醇	302

点,183个不重复基因;黄连代谢产物11个,对应靶点270个,175个不重复基因。基于网络药理学研究其抗菌作用的主要次生代谢产物见表1,2。通过分析黄连花茎和黄连成分,理论研究结果发现槲皮素和小檗碱为共有抗菌作用的活性成分有2个。

**3.2 成分靶点与疾病靶点筛选** 通过UniProt数据库筛选得黄连含175个基因,黄连花茎含有183个基因 GeneCards数据库筛选得到300个疾病基因,借助Venny 2.1.0平台得到59个共有基因。

**3.3 靶标的通路分析** 抗菌交集靶点借助STRING数据库进行GO富集分析,共得到黄连1554个条目(BP条目1361个,CC条目75个,MF条目118个),共得到黄连花茎1626个条目(BP条目1425个,CC条目81个,MF条目120个)。分别选取前20个分析结果用Prism软件绘制柱形图,见图3~5。

表 2 黄连和黄连花茎主要次生代谢产物

Table 2 Main secondary metabolites of *Coptis chinensis* and its flower stalk

分类	代谢产物
黄连花茎	小檗碱 berberine
	<i>L</i> -缬氨酸 <i>L</i> -valine
	鹰嘴豆素 biochanin A
	6-氨基己酸 6-aminocaproic acid
	3,7-二氧-甲基槲皮素 di- <i>O</i> -methylquercetin
	4-香豆酸 <i>p</i> -coumaric acid
	松脂醇 pinoresinol
	奎宁酸 quinic acid
	植醇 phytol
	腺嘌呤 adenine
	异阿魏酸 3-hydroxy-4-methoxycinnamic acid
	槲皮素 3- <i>O</i> -芸香糖苷 quercetin 3- <i>O</i> -rutinoside
	乙酰苯胺 aminopurine
	槲皮素 quercetin
	金丝桃苷 hyperoside
	腺苷 adenosine
	异槲皮苷 isoquercitroside
	桑色素水合物 morin
黄连	小檗碱 berberine
	小檗红碱 berberrubine
	盐酸表小檗碱 epiberberine
	( <i>R</i> )-氢化小檗碱( <i>R</i> )-canadine
	氧化小檗碱 berlambine
	菊糖苷 corchoroside A <sub>qt</sub>
	厚朴内脂 magnograndiolide
	巴马汀 palmatine
	槲皮素 quercetin
	黄连碱 coptisine
	甲基小檗碱 worenine

KEGG 通路富集分析黄连得到 218 条通路, 黄连花茎得到 232 条通路。选取 KEGG 分析前 20 个分析结果, 借助 OmicShare 网站绘制高级气泡图, 见图 6。

**3.4 PPI 网络的构建** 借助 STRING 平台, 上传黄连 KEGG 结果中前 20 条通路的 43 个基因, 黄连花茎前 20 个通路的 45 个基因构建 PPI 网络。黄连网络图共包含 43 个节点, 661 条边, 黄连花茎网络图共包含 45 个节点, 731 条边, 见图 7, 靶点间边数越多代表其联系越紧密。

**3.5 成分-靶标-通路的构建** 借助 Cytoscape 3.7.2

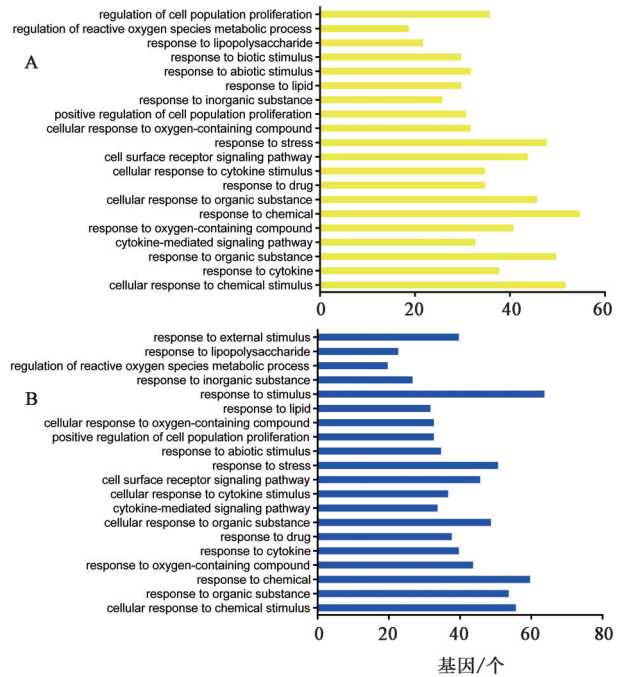


图 3 GO 富集分析黄连及黄连花茎生物过程

Fig. 3 GO enrichment analysis of biological processes of *Coptis chinensis* and its flower stalk

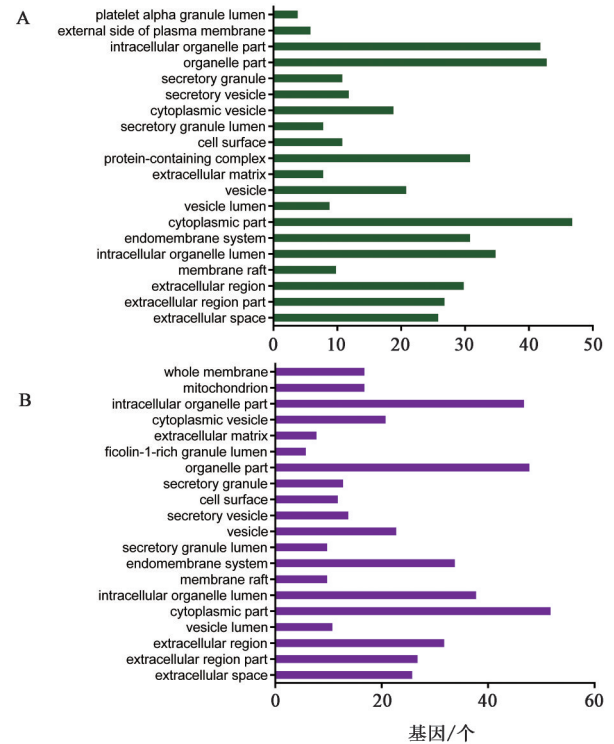


图 4 GO 富集分析黄连及黄连花茎细胞组成

Fig. 4 GO enrichment analysis of cellular component of *Coptis chinensis* and its flower stalk

软件构建成分-靶标-通路网络。黄连网络中共有 72 个节点, 504 条边, 黄连花茎网络中共有 79 个节点, 529 条边。结果表明 quercetin(槲皮素), palmatine(巴马汀), berberine(小檗碱)为黄连发挥抗菌作用

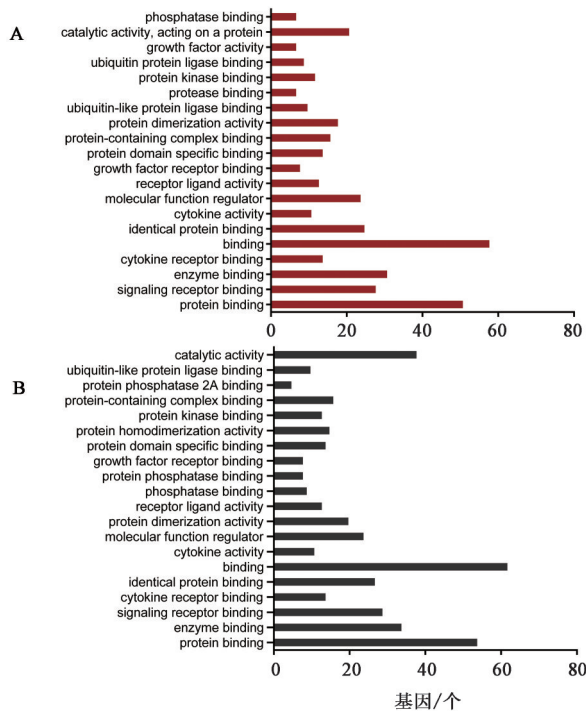


图 5 GO 富集分析黄连及黄连花茎分子功能  
Fig. 5 GO enrichment analysis of molecular function of *Coptis chinensis* and its flower stalk

的重要化合物; biochanin A (鹰嘴豆素), berberine (小檗碱), quercetin 3-O-rutinoside (槲皮素 3-O-芸香糖苷, 芦丁), quercetin (槲皮素) 为黄连花茎发挥抗菌作用的重要化合物。蛋白激酶 B $\alpha$  (AKT1), 丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1), 肿瘤坏死因子 (TNF), TP53 为黄连发挥抗菌作用的重要靶点; AKT1, MAPK1, TP53, TNF, JUN 为黄连花茎发挥抗菌作用的重要靶点。成分、靶点及通路的网络拓扑参数详见表 3 (重要节点按拓扑参数数值大于中位数值降序排列)。成分-靶标-通路网络图见图 8, 9。

#### 4 黄连花茎和黄连对抗菌作用机制异同比较

通过分析对比黄连花茎和黄连的拓扑参数结果差异性, 见表 4, 5。

#### 5 讨论

经过研究, 以前的传统的非药用部位, 如人参叶及杜仲叶等也具有一定的药用价值, 已被收入药典作为药用<sup>[14]</sup>。一些非药用部位具有与传统的药用部位可能具有相似的化学成分和药效, 但其作用机制可能不同, 本文对黄连及黄连花茎的抗菌作用机制异同进行研究, 为黄连花茎的综合利用提供参考。研究表明黄连和黄连花茎对抗菌作用的共同成分为槲皮素和小檗碱, 通过拓扑参数分析得到其共同参与抗菌作用的关键基因有 AKT1, MAPK1, TP53, TNF, JUN, IL6, PTGS2, MYC,

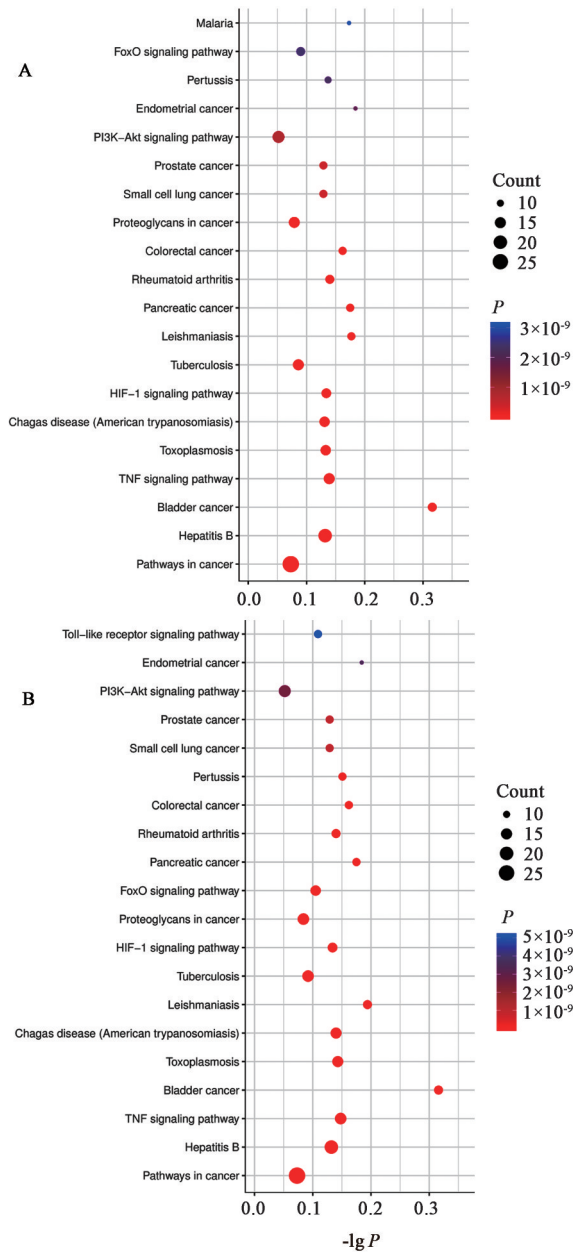


图 6 黄连及黄连花茎作用机制靶点的 KEGG 通路富集分析的 20 条通路高级气泡

Fig. 6 High-level bubble diagrams of 20 pathways in KEGG pathway enrichment analysis of targets of *Coptis chinensis* and its flower stalk

EGFR, FOS, VEGFA, CCND1, TGFB1, STAT1, CXCL8, NOS2, CDKN1A, BCL2。细菌感染是致病菌侵入血液循环系统中进行生长繁殖, 产生毒素和其他代谢产物所引起的急性全身性感染<sup>[15]</sup>。而 IL-6, TNF- $\alpha$  是细胞因子中比较重要的指标, 在细菌感染诊断中具有重要价值<sup>[16]</sup>。本研究涉及关键基因便包括 TNF 和 IL 进一步证实了关键基因发挥抗菌作用的可靠性。AKT1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 具有抑制细胞凋亡和调节代谢作用<sup>[17-18]</sup>, 在

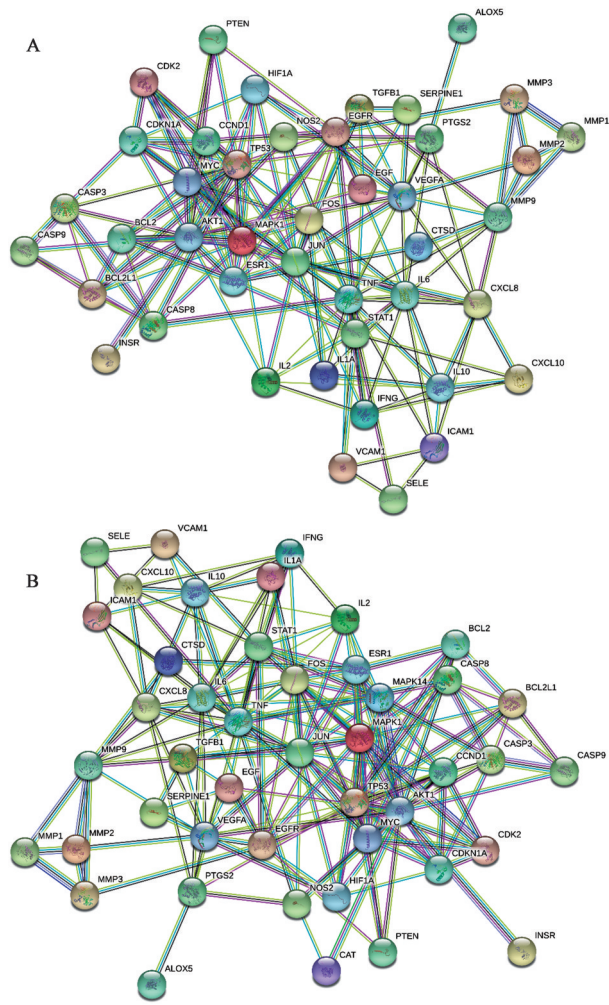


图7 黄连与黄连花茎成分与疾病PPI网络

Fig. 7 Component and disease PPI network of *Coptis chinensis* and its flower stalk

蛋白互作网络中 AKT1 的节点度最高,说明其在抗菌过程中起到重要作用。CCND1 是细胞周期蛋白 D1,主要功能是调节细胞周期从 DNA 的预合成阶段到合成阶段<sup>[19]</sup>,CCND1 的异常表达极大地影响细胞周期进程从而发挥抗菌作用。TP53 是细胞内关键的感应因子,是调节应激反应的重要因素,与先天性抗病毒免疫、细胞凋亡及病毒的复制与转录都有关系<sup>[20]</sup>。黄连和黄连花茎正是通过这些基因发挥抗菌作用。

鉴于黄连花茎的活性成分报道较少,本研究未采用传统网络药理学通过数据库筛选活性成分的方法,而是采用 UPLC-MS/MS 对黄连花茎的次生代谢产物的种类和含量进行筛选,在一定程度上弥补了数据库中只重视成分“有无”,而忽略了量的“多少”对活性影响的不足。通过 UPLC-MS/MS 分别测定了黄连花茎中 725 种和黄连 809 种次生代谢产物的种类和含量,远高于传统网络药理学数据库中所收

表3 网络中成分-靶点-通路的拓扑参数分析

Table 3 Topological parameter analysis of components, targets and pathways in network

No.	黄连	黄连花茎
1	槲皮素	槲皮素
2	巴马汀	鹰嘴豆素
3	小檗碱	小檗碱
4	AKT1	芦丁
5	MAPK1	AKT1
6	TNF	MAPK1
7	TP53	TP53
8	白细胞介素(IL)6	TNF
9	JUN	JUN
10	血管内皮生长因子 A (VEGFA)	IL6
11	MYC	PTGS2
12	表皮生长因子受体 (EGFR)	MYC
13	细胞周期蛋白 D1 (CCND1)	EGFR
14	环氧合酶基因 (PTGS2)	FOS
15	诱导型一氧化氮合酶 (NOS2)	VEGFA
16	转化生长因子 $\beta_1$ (TGFB1)	CCND1
17	低聚果糖 (FOS)	MAPK14
18	雌激素受体 1 (ESR1)	TGFB1
19	STAT1	STAT1
20	B 淋巴细胞瘤 2 (BCL2)	CXCL8
21	CXCL8	NOS2
22	周期素依赖性激酶抑制因子 1A (CDKN1A)	CDKN1A
23	IL10	BCL2
24	pathways in cancer	CASP3
25	乙型肝炎病毒 (hepatitis B)	pathways in cancer
26	磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) - 蛋白激酶 $\beta$ (Akt) 信号通路	hepatitis B
27	proteoglycans in cancer	PI3K-Akt 信号通路
28	tuberculosis	TNF 信号通路
29	TNF 信号通路	tuberculosis
30	chagasdisease (American trypanosomiasis)	proteoglycans in cancer

录的数量。结果表明黄连花茎中次生黄连和黄连花茎发挥抗菌作用的重要物质为槲皮素和小檗碱。通过 GO 和 KEGG 通路富集分析,表明黄连和黄连花茎可通过各通路协同发挥作用。研究结果揭示

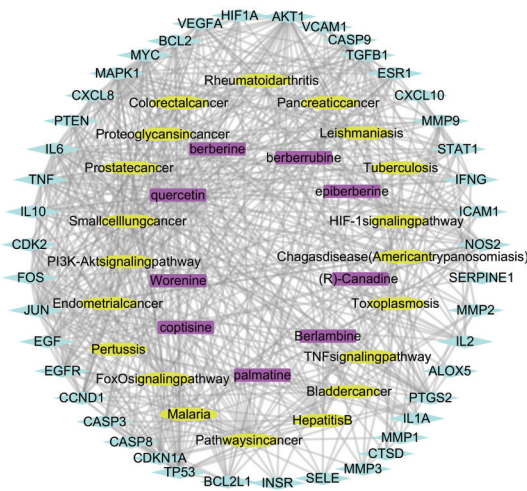


图 8 黄连成分-靶标-通路网络  
Fig. 8 Component-target-pathway network of *Coptis chinensis*

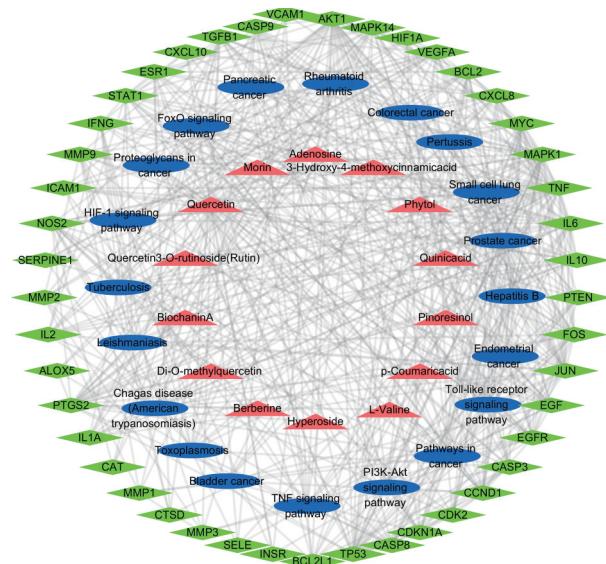


图 9 黄连花茎成分-靶标-通路网络  
Fig. 9 Component-target-pathway network of *Coptis chinensis* flower stalk

了黄连和黄连花茎抗菌的多成分、多靶点的协同抗菌作用特点,为黄连花茎的进一步开发利用提供了参考。

网络药理学在中医药研究过程中能够解决一些问题<sup>[21]</sup>,但也存在一定的缺陷,比如主要通过数据库进行检索,通过参数(OB,DL值)的设定来对成分进行筛选,但这些数据库并不一定完善,而参数值的确定目前也尚有争论;本论文虽然采用UPLC-MS/MS对药材中的成分进行了测定,避免了单独采用数据库收录数据可能不完全的缺点,但是在确定网络药理学成分时,面对700多种化学成分,本课题组以其含量高低进行筛选,这对实验结果可能有一定的影响;通过网络药理学得到的抗菌基因中,部

表 4 黄连和黄连花茎抗菌机制相同点

Table 4 Similarities of antibacterial mechanism between *Coptis chinensis* and *Coptis flower*

相同靶点	蛋白名称	通路名称
AKT1	RAC- $\alpha$ 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (Akt/PKB)	利什曼病
MMP9	基质金属蛋白酶9(MMP-9)	胰腺癌
ESR1	雌激素受体(ER)	前列腺癌
BCL2	凋亡调节剂 Bcl-2(Bcl-2)	小细胞肺癌
PTGS2	前列腺素 G/H 合酶 2(prostaglandin G/H synthase 2)	膀胱癌
CCND1	细胞周期蛋白 D1	类风湿性关节炎
MMP2	基质金属蛋白酶2(MMP-2)	叉头框蛋白 O (FoxO)信号通路
MMP1	基质金属蛋白酶1(MMP-1)	低氧诱导因子 1 信号通路
MAP2K1	双重特异性促分裂原活化蛋白激酶 1(MEK1)	弓形虫病
IL10	细胞白介素-10(IL-10)	美洲锥虫病
IL2	IL-2	TNF 信号通路
IL6	IL-6	
TNF	TNF	PI3K/Akt 信号通路
STAT1	活化转录因子 1	乙型肝炎
VEGFA	血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor A)	结核病
EGFR	表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor)	百日咳
CASP8	Caspase-8	利什曼病
CASP3	Caspase-3	
CASP9	Caspase-9	
MAPK1	丝裂原激活的蛋白激酶 1(mitogen-activated protein kinase 1)	

注:相同靶点中 ALOX5, IFNG, CDKN1A, FOS, CDK2, PTEN, BCL2L1, CXCL8, TGFB1, NOS2, HIF1A, IL1A, ICAM1, MYC, VCAM1, JUN, SELE, SERPINE1, TP53, CXCL10, INSR, CTSD, EGF 均未检索到蛋白及相应通路信息。

表 5 黄连和黄连花茎抗菌机制不同点

Table 5 Difference of antibacterial mechanism between *Coptis chinensis* and its flower stalk

不同靶点	蛋白名称	不同通路	通路名称
MAPK14	丝裂原激活的蛋白激酶 14	malaria	疟疾
CAT	过氧化氢酶	Toll-like receptor signaling pathway	Toll 样受体信号通路

分和抗菌有关,部分基因是否有抗菌作用缺乏文献支持,有待进一步研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[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, 2015:303-305.
- [2] 王琳, 杨阳, 张一颖, 等. 中药抗菌作用文献研究现状[J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(12):1663-1665, 1763.
- [3] 魏华波, 董洋, 谭兵, 等. 黄连花萼化学成分和药理作用的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(27):5342-5344.
- [4] 伍利华, 杨慧, 杨俊莉, 等. 反相高效液相色谱法及紫外可见分光光度法测定黄连花萼的含量[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(6):1330-1332.
- [5] 许海玉, 刘振明, 付岩, 等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18):3633-3688.
- [6] 董培良, 李慧, 韩华. 中药网络药理学的应用与思考[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(17):204-211.
- [7] CHEN M, ZHU J, KANG J, et al. Exploration in the mechanism of action of licorice by network pharmacology[J]. *Molecules*, 2019, 24(16):2959.
- [8] 王伟姣, 龙凌云, 姜成君, 等. UPLC-MS/MS法测定减肥类保健食品中非法添加17种化学药的研究[J]. 中南药学, 2019, 17(8):1255-1260.
- [9] 杨庆懿, 杨柳, 王凯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定保健食品中15种非法添加降糖化学药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7):2038-2042.
- [10] 张雯霞, 冯敏, 苗雨露, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的还贝止咳方化学成分分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14):3022-3034.
- [11] 马莹, 蔡媛, 马晓晶, 等. 药用植物活性成分生物合成中P450的研究进展[J]. 药学学报, 2020, 55(7):1573-1589.
- [12] LAU W, SATTELY E S. Six enzymes from mayapple that complete the biosynthetic pathway to the etoposide aglycone[J]. *Science*, 2015, 349(6253):1224-1228.
- [13] CHEN W, GAO Y, XIE W, et al. Genome-wide association analyses provide genetic and biochemical insights into natural variation in rice metabolism[J]. *Nature Genetics*, 2014, 46:714-721.
- [14] 欧水平, 沈必江, 王森, 等. 中药“一体多用性”及新药用部位开发的探析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(5):685-686, 716.
- [15] 赵祥. 炎症标志物CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6、PCT与白细胞计数分析在肺部细菌感染中诊断价值分析[C]//中国中西医结合学会. 第一次全国中西医结合检验医学学术会议暨中国中西医结合学会检验医学专业委员会成立大会论文汇编:2014年卷. 北京:中国中西医结合学会, 2014:5.
- [16] 问亚锋, 金恂, 金宝生, 等. CD64指数、血清降钙素原、IL-6及TNF- $\alpha$ 鉴别细菌感染的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(9):1183-1184.
- [17] MATSUBARA A, WASSON J C, DONELAN S S, et al. Isolation and characterization of the human AKT1 gene, identification of 13 single nucleotide polymorphisms (SNPs), and their lack of association with Type II diabetes[J]. *Diabetologia*, 2001, 44(7):910-913.
- [18] ALWHAIBI A, VERMA A, ADIL M S, et al. The unconventional role of Akt1 in the advanced cancers and in diabetes-promoted carcinogenesis [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 145:104270.
- [19] 陈桐莹, 高丰禾, 汪悦东, 等. 基于生物信息学探讨骨质疏松症和膝骨关节炎的关系[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, doi:11.3701.R.20200728.1542.004.
- [20] 段海婧, 龙晓宙, 杜丽东, 等. 清肺排毒汤对三种冠状病毒感染的SARS、MERS和COVID-19的潜在共性作用及机制探讨[J]. 中药药理与临床, 2020, doi:10.13412/j.cnki.zyyl.20200706.001.
- [21] 刘涛, 赵灵丽, 钟林江, 等. 基于网络药理学的复方当归注射液作用机制研究[J]. 成都大学学报:自然科学版, 2020, 39(3):225-229.

[责任编辑 顾雪竹]