

# 基于网络药理学和分子对接研究平贝母中生物碱的抗炎作用

金 鑫<sup>1</sup>, 吕经纬<sup>1</sup>, 边学峰<sup>1</sup>, 杨小倩<sup>1</sup>, 张 辉<sup>1\*</sup>  
(长春中医药大学, 吉林省人参科学研究院, 吉林 长春 130117)

**摘要:** **目的** 通过网络药理学和分子对接等技术, 探究平贝母中生物碱的抗炎作用及其机制。**方法** 通过 TC MSP 数据库和 UniProt KB 数据库, 筛选出平贝母活性成分及其对应靶点; 在 GeneCards、OMIM、数据库中获取抗炎的相关靶点; 采用 Cytoscape 软件构建成分-靶点-通路网络; 运用 String 数据库构建蛋白质相互作用网络图 (PPI); 通过 R 语言进行 GO 和 KEGG 富集分析; 并使用 AutoDock vina 4.2 软件进行分子对接。**结果** 与平贝母抗炎作用相关的化合物共有 14 种, 对应靶点共 32 个; PPI 结果显示核心靶点主要包括 CASP3、IL-6、JUN、TNF、NR3C1 和 IL-1 $\beta$  等; GO 功能分析表明平贝母生物碱可能通过调节细胞核受体活性、激活转录因子活性、调节 G 蛋白偶联的神经递质受体活性、调节乙酰胆碱受体活性和类固醇激素受体活性等发挥作用; KEGG 通路分析显示平贝母生物碱可能通过 TNF 信号通路、IL-17 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、MAPK 信号通路等通路发挥作用。分子对接结果显示, 平贝母生物碱与抗炎蛋白具有较低的结合能。**结论** 通过网络药理学和分子对接技术初步探究了平贝母生物碱中抗炎作用的化学成分和作用机制, 为今后的研究提供了一定的科学依据。

**关键词:** 平贝母; 抗炎; 网络药理学; 分子对接

**中图分类号:** R966      **文献标志码:** B      **文章编号:** 1001-1528(2022)02-0647-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.02.058

炎症是机体对致病因素及其损害作用产生的一种反应<sup>[1]</sup>, 能导致细胞变性、坏死, 代谢功能的异常。目前, 临床上常使用抗菌药和抗病毒药进行治疗, 但这类药物长期使用容易产生耐药性<sup>[2]</sup>。因此, 迫切需要筛选出新的抗炎药。

平贝母 *Fritillariae ussuriensis* Bulbus 为百合科植物平贝母 *Fritillaria ussuriensis* Maxim 的干燥鳞茎<sup>[3]</sup>, 主要用于清热润肺、化痰止咳<sup>[4]</sup>。研究还发现平贝母具有抗炎<sup>[5]</sup>、抗高血压<sup>[6]</sup>、抗溃疡<sup>[7]</sup>、抗平滑肌收缩<sup>[8]</sup>、抗氧化<sup>[9]</sup>、抗癌等作用。生物碱为平贝母主要有效成分之一, 具有良好生物活性<sup>[10]</sup>, 但由于平贝母中生物碱的种类复杂, 通过传统的实验方法来准确阐明治疗疾病的作用机制存在困难<sup>[11]</sup>。因此, 有必要寻找一种创新的方法来解释特定成分与分子作用机制之间的关系。

网络药理学是以系统生物学和计算机技术为指导的新兴技术, 通过网络药理学分析还可以提高药物的治疗效果, 减少不良反应, 从而提高新药临床试验的成功率, 大大节约药物开发成本<sup>[12]</sup>。分子对接主要研究分子 (如蛋白和药物) 之间相互作用, 能够预测其结合方式, 计算出复合物的亲和力, 通过分子对接技术可以确定配体和受体的相对位置和取向, 进而研究出激动剂、抑制剂或药物作用的机制, 为新药的设计奠定了基础<sup>[13]</sup>。

本研究采用网络药理学和分子对接结合的方法, 探究

平贝母抗炎作用可能的作用靶点和作用通路, 为进一步的研究和开发提供参考。

## 1 材料和方法

1.1 平贝母化学成分和作用靶点的筛选 通过中药系统药理学数据库和分析平台<sup>[14]</sup> (TC MSP, <http://tcmsp.w.com/tcmsp.php/>) 筛选出平贝母生物碱类化学成分, 并使用 UniProt KB<sup>[15]</sup> (<https://www.uniprot.org/>) 数据库, 筛选出平贝母生物碱类成分所定对应的人的作用靶点, 构建出一个关于化合物和靶点之间的关系图。

1.2 炎症潜在靶点基因的筛选 为了获得抗炎的相关基因, 搜索了两个疾病基因数据库, 分别为 GeneCards<sup>[16]</sup> (<https://www.genecards.org/>)、OMIM<sup>[17]</sup> (<https://omim.org/>)。然后, 对搜索靶点进行整合处理, 删除重复靶点得到了炎症疾病相关的治疗靶点。

1.3 化合物-疾病-靶点网络图和蛋白质-蛋白质网络的构建 Cytoscape 是一款可以集成任何类型的属性数据, 形成可视化复杂网络图的软件<sup>[18]</sup>, 将化合物-靶点和疾病-靶点的相关数据输入 Cytoscape (<http://www.cytoscape.org/>) 进行整合, 生成平贝母生物碱-抗炎-靶点的网络关系图。String 数据库 (<http://string-db.org>) 主要用来评估与整合蛋白质的相互作用, 包括蛋白质与蛋白质的直接 (物理) 和间接 (化学) 关系<sup>[19]</sup>, 利用 String 数据库, 可以直接将靶点转化为蛋白质, 构建出蛋白质-蛋白质相互作用关

收稿日期: 2021-01-30  
基金项目: 中医药行业科技专项“我国代表性区域特色中药资源保护利用”(201207002-05)  
作者简介: 金 鑫 (1993—), 女, 博士生, 研究方向为中药化学。E-mail: 18088678755@163.com  
\* 通信作者: 张 辉 (1958—), 男, 教授, 研究方向为中药化学。E-mail: zhanghui\_8080@163.com

系图（PPI），并筛选了前 28 名 PPI 网络核心基因，构建柱形图。

1.4 GO 富集分析和 KEGG 富集分析的构建 ClusterProfiler 是 Bioconductor 的一个软件包，可以对基因的功能进行聚类的统计及可视化分析。通过 R（Bioconductor）语言进行 GO 和 KEGG 富集分析。根据统计学意义  $P<0.05$ ，筛选出平贝母生物碱抗炎作用可能的作用靶点（GO 分析）和作用通路（KEGG 分析），并绘制柱形图。 $P$  值越小表示该信号通路的可信度越高。

1.5 分子对接分析 通过 ChemOffice 将活性化合物的 2D 结构转换为 3D 结构。使用 Uniprot<sup>[20]</sup>（<https://www.uniprot.org/>）查找活性靶点对应的人体蛋白编码。然后，从 PDB（<https://www.rcsb.org/>）数据库下载蛋白的三维结构，并使用 PyMOL<sup>[21]</sup> 软件（<http://tcmspw.com/tcmsp.php/>）去除水分子和去除自由基，加氢。最后，采用 AutoDock vina 4.2 将化合物和蛋白分子的格式转换为

pdbqt 格式，进行分子对接，计算分子结合能。一般认为结合能越低，配体和受体结合性越好。

2 结果

2.1 化合物和靶标的对应筛选结果 从 TCMSP 数据库中，共筛选出得到 14 种生物碱类成分，并通过 UniProt KB 数据库找出成分所对应的潜在靶点。最后，得到 14 种生物碱类活性成分对应的潜在靶点（表 1）。OB 为口服生物利用度，是评价药物吸收程度的指标。DL 表示类药物，表示化合物与现有药物的相似性。结果显示，平贝七环碱（ussuriendine）、贝母辛（peimisine）、胸腺嘧啶（thy）和贝母乙素（verticinone）具有较高的口服生物利用度。科迪林（cordiline）、 $\beta$ -倍半水芹烯（3S）-3-[(1R)-1,5-dimethylhex-4-enyl]-6-methylenecyclohexene、茄啶（solatubine）、去氢鄂贝定碱（ebeiedinone）、贝母乙素（verticinone）和西贝母碱（imperialine）具有较高的类药性。

表 1 平贝母生物碱类成分及其对应靶点

成分	英文名称	编号	OB/%	DL	靶点
科迪林	cordiline	MOL010176	36.81	0.71	NR3C1
贝母甲素	peimine	MOL010192	14.29	0.06	AR,IL-6,IL-1 $\beta$ ,TNF,IL-10,P38,ERK,JUN、
平贝七环碱	ussuriendine	MOL010193	69.46	0.01	AR
平贝七环酮碱	ussuriendinone	MOL010194	12.44	0.02	CHRM3,AR,OPRD1
平贝七环碱甲醚	ussurienine	MOL010195	14.24	0.31	AR,OPRD1
(2R,3R,4S,5R)-2-(6-氨基嘌呤-9-基)-5-(羧基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇	polyriboadenosine	MOL001787	15.98	-1.56	PTGS1,PNP,PTGS2,ADAL
$\beta$ -倍半水芹烯	(3S)-3-[(1R)-1,5-dimethylhex-4-enyl]-6-methylenecyclohexene	MOL000031	19.86	1.88	PTGS2,SLC6A2,MAOB,NCOA2
贝母辛	peimisine	MOL004440	57.40	0.18	NR3C2,NR3C1,CHRM1,LDH,MDA,INOs、
茄啶	solatubine	MOL004448	17.12	1.22	PGR,NR3C1
胸腺嘧啶	thy	MOL006953	74.20	0.24	ADH1C
1-(2-脱氧-A-D-呋喃核糖)-5-甲基	alpha-thymidine	MOL007549	10.39	-0.64	PTGS2,CA2,DPP4
去氢鄂贝定碱	ebeiedinone	MOL009576	16.63	0.59	PGR,NR3C1
贝母乙素	verticinone	MOL009593	60.07	0.42	AR,BCL2,BAX,CASP3,iNos,COX-2,IL-6,IL-1 $\beta$ 、
					TNF,AKT2,PI3K,RELA,IKB
西贝母碱	imperialine	MOL009582	16.18	0.67	INOS,COX-2,IL-6,IL-1 $\beta$ ,TNF

2.2 疾病靶点筛选结果 从 GeneCards、OMIM 等疾病数据库中，筛选关于抗炎的相关靶点，进行整合，删除重复的疾病靶点，共获得 10 240 个疾病靶点。

2.3 化合成分-疾病-靶点网络图和蛋白质-蛋白质网络构建结果 将化合物-靶点关系图与疾病-靶点关系图进行整合，筛选出共同的靶点，得到化合物-疾病-靶点相交的韦恩图。如图 1 所示，与抗炎作用的相关化合物共有 13 种，相关靶点 32 种，体现了中药成分多靶点的特点。将上述数据导入 Cytoscape 中，得到化合物-疾病-靶点的可视化网络关系图（图 2）。黄色代表靶点，蓝色代表成分，红色代表疾病。结果显示，verticinone 的节点数最多，peimisine 和 peimine 次之。将 32 个靶点输入 String 数据库，得到蛋白互作网络关系图（图 3）。如图 4 所示 CASP3、IL-6、JUN、TNF、NR3C1、IL-1 $\beta$ 、PPARG 和 NR3C1 可能在平贝母抗炎作用

过程中起关键性作用。

2.4 GO 富集分析和 KEGG 富集分析结果 根据  $P$  值大小进行筛选靶点的生物过程。如图 5 所示，32 个靶点的作用主要集中在调节细胞核受体活性、激活转录因子活性、调节 G 蛋白偶联的神经递质受体活性、调节乙酰胆碱受体活性和类固醇激素受体活性等方面。KEGG 富集分析结果显示，核心靶点作用通路主要集中在 C-型血凝素受体信号通路、TNF 信号通路、IL-17 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、MAPK 信号通路等通路。图 6 为排名前 20 的通路。

2.5 分子对接结果 在 Uniprot 数据库中找到靶点对应的人体蛋白编码，并使用 PDB 数据库下载对应配体。采用 AutoDock vina 4.2 技术，将蛋白与化学成分进行分子对接，得到分子结合能。通常认为结合能越低亲和力越强，结合越稳定。一般认为分子结合能小于-4.25 kcal/mol，分子与

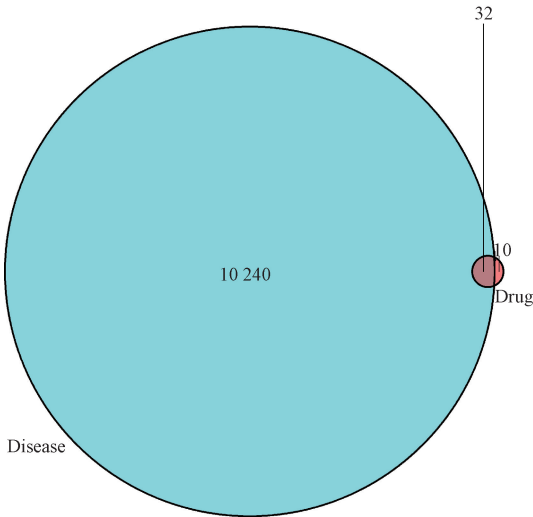


图 1 平贝母化学成分靶点与抗炎作用靶点韦恩交集图

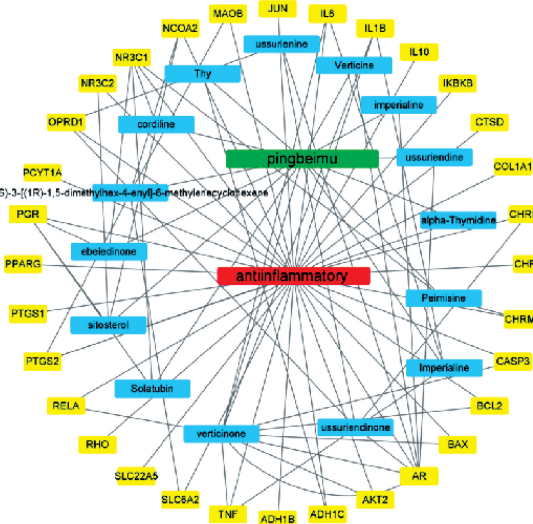


图 2 化合物-疾病-靶点网络图

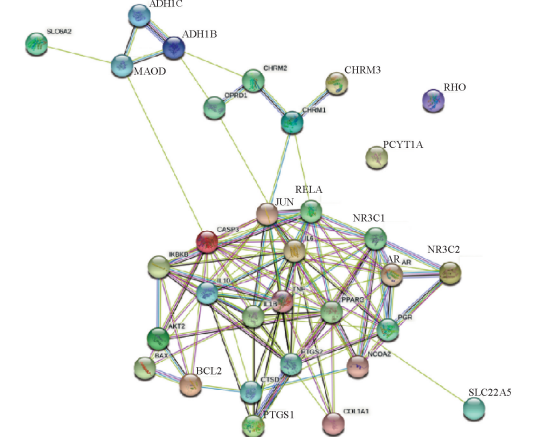


图 3 平贝母生物碱抗炎作用蛋白相互作用核心网络

靶点有一定的结合活性；小于-5.5 kcal/mol，分子与靶点有较好的结合活性；小于-8 kcal/mol，分子与靶点的结合具有强烈的活性。如表 2 所示，科迪林、平贝七环酮碱、

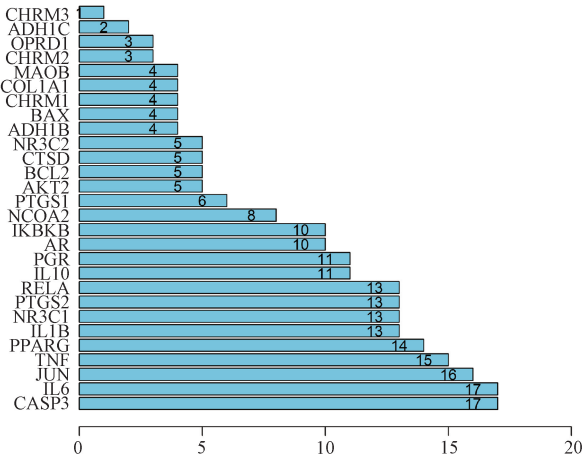


图 4 核心作用基因排名

表 2 平贝母活性成分与蛋白分子对接结合能

成分	靶点	Uniprot-ID	PDB-ID	结合能/ (kcal·mol <sup>-1</sup> )
科迪林	NR3C1	P04150	5EMP	-8.8
平贝七环碱	AR	P10275	5CJ6	-7.8
平贝七环酮碱	CHRM3	P20309	2CSA	-1.0
	AR	P10275	5CJ6	-8.1
	OPRD1	P41143	6PT3	-9.9
平贝七环碱甲醚	AR	P10275	5CJ6	-8.6
	OPRD1	P41143	6PT3	-8.9
β-倍半水芹烯	PTG	P35354	5F19	-6.6
	MAOB	P27338	2XCG	-7.7
	NCOA2	P35228	5I4V	-7.2
贝母辛	NR3C2	P08235	2ABI	-8.6
	NR3C1	P04150	5EMP	-9.0
	CHRM1	P11229	6WJC	-9.0
茄啶	PGR	P06401	3G80	-8.8
	NR3C1	P04150	5EMP	-9.0
1-(2-脱氧-A-D-呋喃核糖)-5-甲基	PTGS2	P35354	5F19	-7.7
去氢鄂贝定碱	PGR	P06401	3G80	-9.4
	NR3C1	P04150	5EMP	-9.4
贝母甲素	AR	P10275	5CJ6	-8.7
	IL-6	P05231	409H	-10.2
	IL-1β	P01584	5I1B	-10.5
	TNF	P01375	7KP9	-14.0
	IL-10	P22301	2ILK	-11.7
贝母乙素	JUN	P05412	1JUN	-8.0
	AR	P10275	5CJ6	-8.1
	BCL2	P10415	5AGX	-9.2
	BAX	Q07812	4BD6	-8.4
	CASP3	P42574	3GIR	-8.7
	IL-1β	P01584	5I1B	-7.8
	TNF	P01375	7KP9	-8.8
	IL-6	P05231	409H	-8.2
	AKT2	P31751	3D0E	-8.4
	RELA	Q04206	5URN	-8.8
西贝母碱	IL-6	P05231	409H	-10.8
	IL-1β	P01584	5I1B	-10.8
	TNF	P01375	7KP9	-12.9
	AR	P10275	5CJ6	-14.5

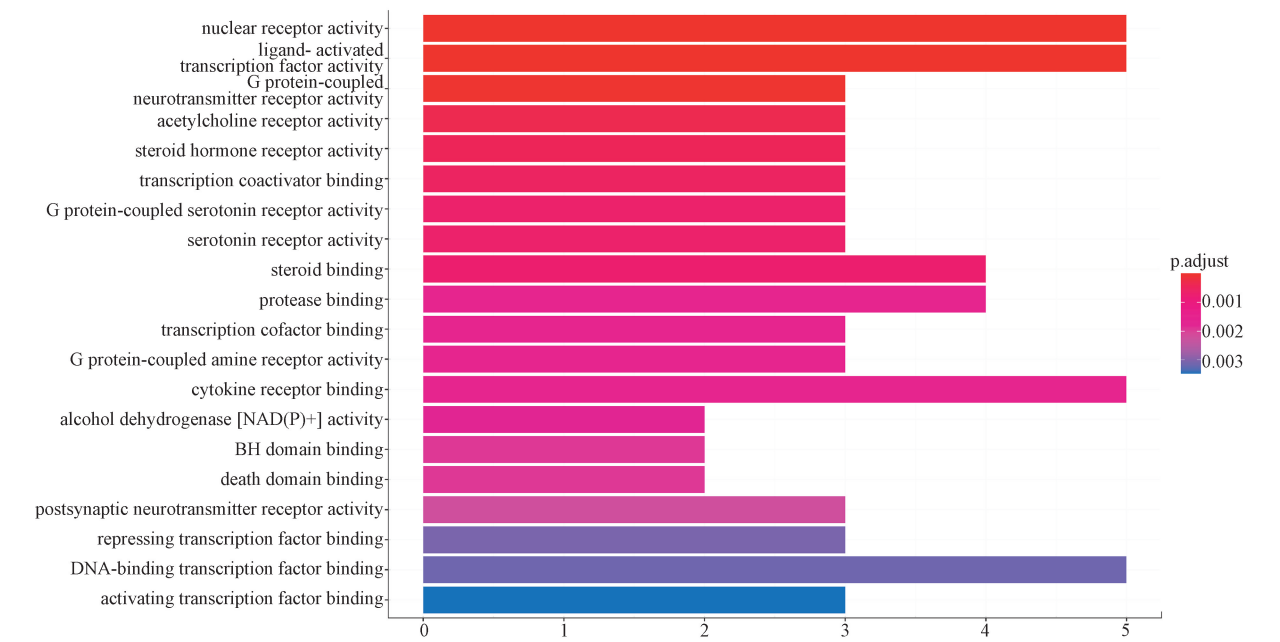


图 5 平贝母生物碱抗炎作用 GO 富集分析柱状图

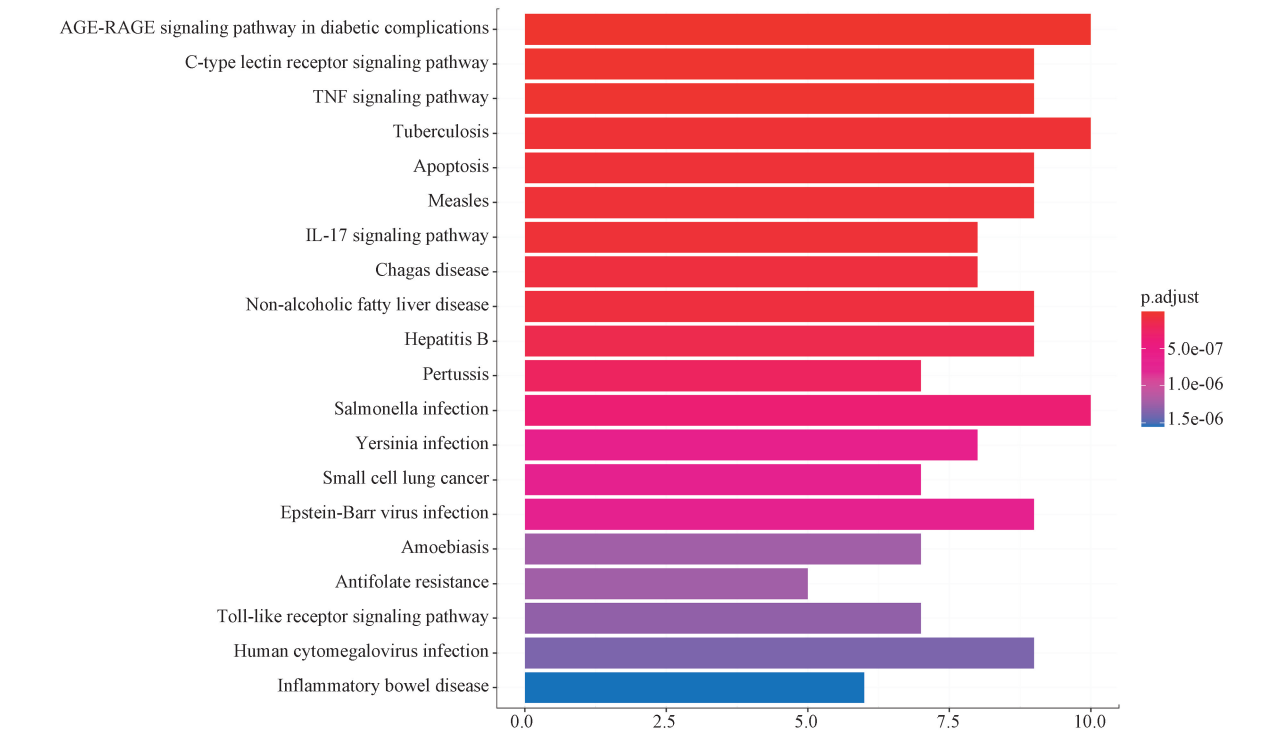


图 6 平贝母生物碱抗炎作用 KEGG 富集分析柱状图

平贝七环碱、贝母甲素、贝母辛、茄啶、去氢鄂贝定碱、西北母碱和贝母乙素与对应蛋白具有较低的结合能。其中，贝母甲素可能通过 7KP9 中 SER-99 位点和 5I1B 中 GLN-38、VAL-41、LYS-63 等位点（图 7）；西贝母碱可能通过 7KP9 中 TYR-115、GLU-116、PRO-100、SER-99 和 4O9H 中 THR-166、GLN-113 等位点（图 8）；贝母乙素可能通过与 4O9H 中 GLY-59 和 PRO-46 位点和 5I1B 中 LYS-63 等位点结合发挥抗炎活性（图 9）。

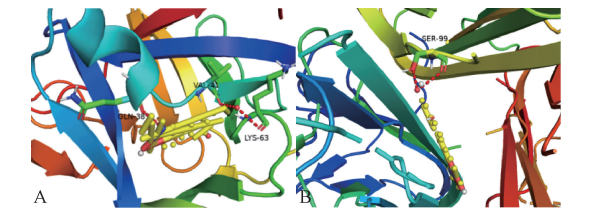


图 7 贝母甲素与 5I1B (A) 和 7KP9 (B) 分子对接图



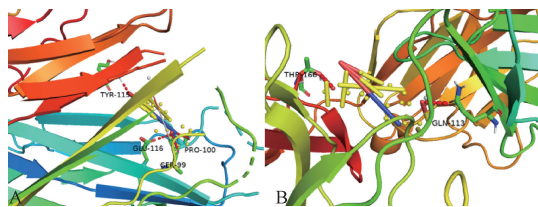


图 8 西北碱与 7KP9 (A) 和 409H (B) 分子对接图

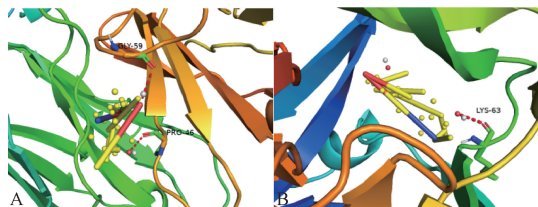


图 9 贝母乙素与 409H (A) 和 5I1B (B) 分子对接图

### 3 讨论

基于网络药理学的方法,借助相关数据库和软件对平贝母生物碱的抗炎的作用机制进行了探讨。根据成分靶点筛选结果发现,平贝母中与抗炎作用相关的化学成分有 13 种,对应的靶点有 32 个,验证了中药多成分多靶点的特性。通过 PPI 蛋白网络关系显示,平贝母抗炎作用可能与 CASP3、IL-6、JUN、TNF、NR3C1、IL-1 $\beta$ 、PPARG 和 NR3C1 等靶点有关。通过 KEGG 富集分析结果发现相关靶点主要集中在 C-型血凝素受体信号通路、TNF 信号通路、IL-17 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、MAPK 信号通路等通路。说明平贝母生物碱可能通过上述通路发挥抗炎作用。分子对接结果显示,平贝母生物碱与抗炎活性靶点的结合较低。

TNF 信号通路可以参与全身炎症反应,是组成急性期反应的细胞因子之一。同时, TNF 也可以触发激活许多途径,包括 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 途径<sup>[22]</sup>。白介素-17 (IL-17) 是一个重要的促炎症细胞因子,由辅助性 T 细胞 (Th17) 及先天性免疫细胞等分泌,在多种炎症反应及自身免疫性疾病病理过程中发挥关键作用。IL-17 受体 (IL-17R) 通过信号转导复合体 IL-17R-Act1-TRAF6 激活下游 NF- $\kappa$ B、JNK 等信号通路<sup>[23]</sup>。NF- $\kappa$ B 信号通路在细胞因子诱导的基因表达中起关键性的调控作用,其调控的基因编码急性期反应蛋白、细胞因子、细胞粘附分子、免疫调节分子、病毒癌基因、生长因子、转录和生长调控因子等。NF- $\kappa$ B 参与免疫反应、炎症反应、细胞凋亡、肿瘤发生等多种生物进程<sup>[24]</sup>。上述通路均与炎症反应相关。

Du 等<sup>[25]</sup>研究发现贝母乙素可以通过调节 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 水平,并作用于 NF- $\kappa$ B 信号通路达到抗炎的作用。Lin 等<sup>[26]</sup>研究发现西贝母碱通过 NF- $\kappa$ B 通路达到抗炎和抗癌的作用。Xu 等<sup>[27]</sup>研究发现贝母甲素对脂多糖引起的炎症有一定的抑制作用,可以降低 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 水平,增加 IL-10 水平,作用于 MAPKs 和 NF- $\kappa$ B 通路。上述研究证明了本研究的准确性。本研究揭示了平贝母中生物碱的种类及抗炎作用的作用机制,并找到了多个潜在的作用靶点,为后续生物碱抗炎作用的靶点和通路研究奠定基础。

### 参考文献:

[1] 陈振娟,阮冰. 全身炎症反应综合征的分子发病机制及其治疗研究[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2007, 34 (6): 402-405; 414.

[2] 郭晓雅,邵迟,史皆然. 如何认识抗生素这把“双刃剑”——谈抗生素临床应用体会[J]. 医学与哲学, 2010, 31(4): 60-61.

[3] Brightling C E, Pavord I D. Eosinophilic bronchitis: an important cause of prolonged cough [J]. *Ann Med*, 2000, 32 (7): 446-451.

[4] 陈泓竹,张世洋,黄雅彬,等. 平贝母和川贝母总生物碱含量及其镇咳、抗炎作用比较研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(15): 63-67.

[5] 赵倩,李波,沈莹,等. 不同规格平贝母止咳祛痰抗炎的药效研究[J]. 中国现代中药, 2020, 22(9): 1475-1477; 1484.

[6] Kang D G, Oh H, Cho D K, et al. Effects of bulb of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. on angiotensin converting enzyme and vascular release of NO/cGMP in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 81(1): 49-55.

[7] 王艳红,鲍建材,张崇禧,等. 中药平贝母的研究进展[J]. 人参研究, 2004, 16(3): 13-17.

[8] 王珍珍,陈茜,包旭,等. 西贝素衍生物的合成及其舒张平滑肌的作用[J]. 华西药理学杂志, 2007, 22(4): 387-390.

[9] Liu C H, Chang J K, Zhang L, et al. Purification and antioxidant activity of a polysaccharide from bulbs of *Fritillaria ussuriensis* Maxim [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 50(4): 1075-1080.

[10] 王丽杰. 平贝母生物碱的提取纯化及体外抑菌活性的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2006.

[11] 于善柱,李忠强. 浅谈中药对肝硬化形态学改变的多靶点干预及其局限性[J]. 光明中医, 2013, 28(12): 2663; 2679.

[12] 吴磊宏,王毅,范晓辉. 网络药理学技术工具: 网络可视化及网络分析[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(21): 2923-2925.

[13] 段爱霞,陈晶,刘宏德,等. 分子对接方法的应用与发展[J]. 分析科学学报, 2009, 25(4): 473-477.

[14] Ru J L, Li P, Wang J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6(1): 13.

[15] Apweiler R, Bairoch A, Wu C H, et al. UniProt: the universal protein knowledgebase [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32 (Database issue): D115-D119.

[16] Safran M, Dalah I, Alexander J, et al. GeneCards version 3: the human gene integrator [J]. *Database (Oxford)*, 2010, 2010: baq020.

[17] Hamosh A, Scott A F, Amberger J S, et al. Online Mendelian inheritance in man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33

(Database issue): D514-D517.

[ 18 ] Smoot M E, Ono K, Rusccheinski J, *et al.* Cytoscape 2. 8: new features for data integration and network visualization [ J ]. *Bioinformatics*, 2011, 27 ( 3 ): 431-432.

[ 19 ] Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, *et al.* The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored [ J ]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39 (Database issue): D561-D568.

[ 20 ] Pundir S, Martin M J, O'Donovan C, *et al.* UniProt Tools [ J ]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 53: 1. 29. 1-1. 29. 15.

[ 21 ] Lill M A, Danielson M L. Computer-aided drug design platform using PyMOL [ J ]. *J Comput Aid Mol Des*, 2011, 25 ( 1 ): 13-19.

[ 22 ] 罗心静, 莫选荣, 周玲玲. TNF- $\alpha$  诱导类风湿关节炎滑膜细胞 NF- $\kappa$ B 信号通路活化的探讨 [ J ]. 免疫学杂志, 2012, 28 ( 4 ): 321-323; 332.

[ 23 ] 瞿芳芳. IKK 相关激酶在 IL-17 信号转导中的功能及其机制研究 [ D ]. 北京: 中国科学院大学, 2012.

[ 24 ] Baeuerle P A. I $\kappa$ B-NF- $\kappa$ B structures: at the interface of inflammation control [ J ]. *Cell*, 1998, 95 ( 6 ): 729-731.

[ 25 ] Du B X, Cao L, Wang K, *et al.* Peiminine attenuates acute lung injury induced by LPS through inhibiting lipid rafts formation [ J ]. *Inflammation*, 2020, 43 ( 3 ): 1110-1119.

[ 26 ] Lin Q, Qu M K, Zhou B J, *et al.* Exosome-like nanoplatfrom modified with targeting ligand improves anti-cancer and anti-inflammation effects of imperialine [ J ]. *J Control Release*, 2019, 311-312: 104-116.

[ 27 ] Xu J W, Zhao W, Pan L Y, *et al.* Peimine, a main active ingredient of *Fritillaria*, exhibits anti-inflammatory and pain suppression properties at the cellular level [ J ]. *Fitoterapia*, 2016, 111: 1-6.

# QuEChERS 结合 UPLC-MS/MS 法测定茵栀黄口服液中 14 种农药残留

李 媛, 王 娟, 张 楠, 谢志民\*  
(西安市食品药品检验所, 陕西 西安 710054)

**摘要:** **目的** 采用 QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 法, 建立茵栀黄口服液中 14 种农药残留的测定分析方法。 **方法** 样品以 0. 1% 乙酸乙腈提取, 经氯化钠和无水硫酸镁盐析后, 提取液加入乙二胺-*N*-丙基硅烷、石墨化炭黑和无水硫酸镁进行净化, 采用超高效液相色谱-串联质谱在多反应监测模式下进行确证和测定, 外标法定量。 **结果** 各农药含量在各自浓度范围内具有较好的线性关系 ( $r\geq 0. 995$ ), 目标化合物在低、中、高 3 个浓度下的平均回收率为 71. 64%~127. 58% (RSD<15%), 定量限 (LOQ) 为 0. 04~3. 58  $\mu$ g/L。 6 批茵栀黄注射液均未检测到 14 种农药, 而 32 批茵栀黄口服液均检测到啉虫脒、吡虫啉, 含量分别为在 4. 7~7. 9、8. 0~14. 6  $\mu$ g/L 范围内。 **结论** 该方法灵敏度高, 准确性好, 适合于茵栀黄口服液中 14 种农药残留的测定。 **关键词:** 茵栀黄口服液; 农药残留; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS)

**中图分类号:** R284. 1      **文献标志码:** B      **文章编号:** 1001-1528(2022)02-0652-04

**doi:** 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2022. 02. 059

茵栀黄口服液收载于 2015 年版《中国药典》, 处方由茵陈提取物、栀子提取物、黄芩提取物和金银花提取物<sup>[1]</sup>组成, 具有清热解毒, 利湿退黄的功能。其中栀子、黄芩、金银花商品药材主要为种植产品。据文献报道<sup>[2]</sup>, 花和果实类药材、部分多年生根和根茎类药材农药残留污染比较严重, 尤其是花类药材检出率最高。部分农药残留直接危害人体健康。本品经常用于新生儿黄疸的治疗中, 控制农药残留尤为重要。本实验选取上述栀子<sup>[3]</sup>、黄芩<sup>[4]</sup>、金银花<sup>[5-9]</sup>药材可能使用及常用的农药, 结合已有文献报道<sup>[10]</sup>检出的农药种类, 拟对啉虫脒、仲丁威、敌百虫、毒死蜱、

吡虫啉、灭幼脲、辛硫磷、乐果、托布津、甲基托布津、克百威、吡蚜酮、敌敌畏、马拉硫磷 14 种农药采用液-质联用方法进行测定, 作为茵栀黄口服液安全性的质量控制方法之一。

## 1 材料

1. 1 仪器 岛津 LC-30 AD 型超高效液相色谱仪; LCMS 8060 三重四极杆质谱仪, LabSolutions 工作站; 岛津 Shim-pack GIST C<sub>18</sub> 色谱柱 (2. 1 mm $\times$ 100 mm, 2  $\mu$ m)。

1. 2 试剂 乙腈 (色谱纯, 德国 Fisher 公司); 甲酸、乙酸 (色谱纯, 上海阿拉丁试剂有限公司); 氯化钠、无水

收稿日期: 2020-04-07  
基金项目: 2019 年国家药品评价性抽验中央补助地方经费项目 (157)  
作者简介: 李 媛 (1985—), 女, 硕士, 主管药师, 研究方向为中药质量评价。E-mail: liyuan4252@ 126.com  
\* 通信作者: 谢志民 (1964—), 男, 主任药师, 研究方向为中药质量标准。E-mail: 15229249536@ 163.com