

# 基于滋味 - 成分关联分析探究桔梗苦味物质基础

阿丽娅·阿卜杜热依木<sup>1</sup>, 李 潮<sup>1</sup>, 魏 娜<sup>1</sup>, 孙 庆<sup>1</sup>, 许嘉文<sup>1</sup>, 孙秀岩<sup>1</sup>, 张彦青<sup>2</sup>, 解军波<sup>1\*</sup>  
(1. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617; 2. 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134)

**摘要:**目的 通过电子舌与高效液相色谱法, 结合分子对接技术初步明确桔梗苦味物质基础。方法 收集桔梗样品 26 批, 运用电子舌技术对其滋味进行量化, 同时用 HPLC 法测定桔梗中 8 种单体成分含量, 通过聚类分析、正交 - 偏最小二乘分析和斯皮尔曼相关性分析对获取的滋味和单体成分含量进行处理, 比较不同产地桔梗滋味与有效成分含量差异, 筛选出与桔梗苦味相关的化学成分, 并利用分子对接技术验证苦味物质与人源苦味受体 TAS2R14 的结合力。结果 桔梗的滋味及有效成分含量在南北地区间存在差异, 桔梗的苦味与党参炔苷、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub>、桔梗皂苷 D、远志皂苷 D<sub>2</sub>、远志皂苷 D 存在显著正相关性, 分子对接结果显示所测的 8 种单体成分与 TAS2R14 的有较好的结合力。结论 初步阐明了桔梗的苦味物质基, 为桔梗道地性评价方法提供了科学依据。

**关键词:** 桔梗; 电子舌; 苦味物质基础; 分子对接; TAS2R14

DOI 标识: doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2024.07.61

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2024)07-1767-05

## Investigating the Bitter Substance Foundation of Platycodonis Radix Based on Taste - Component Correlation Analysis

ALIYA Abdurehim<sup>1</sup>, LI Chao<sup>1</sup>, WEI Na<sup>1</sup>, SUN Qing<sup>1</sup>, XU Jia-wen<sup>1</sup>, SUN Xiu-yan<sup>1</sup>, ZHANG Yan-qing<sup>2</sup>, XIE Jun-bo<sup>1\*</sup>

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300314, China)

**Abstract: Objective** Using electronic tongue and HPLC combined with molecular docking technology to preliminarily clarify the bitter substance foundation of Platycodonis Radix. **Methods** Collect 26 batches of Platycodonis Radix samples, quantify the taste of Platycodonis Radix using electronic tongue technology, and determine the contents of 8 components in Platycodonis Radix using HPLC. The acquired data on taste characteristics and the contents of 8 components were analyzed by cluster analysis, orthogonal partial least squares discrimination analysis, and spearman correlation analysis. Afterward, we compared the differences in taste and content of active ingredients between different origins of Platycodonis Radix, screened the chemical components related to the bitter taste, and verified the binding of the flavor components to the bitter taste receptor TAS2R14 using molecular docking technology. **Results** There are differences in the taste and active ingredient content of Platycodonis Radix between the north and south regions. The bitterness of Platycodonis Radix was significantly positively correlated with Lobetyolin, Platycoside G<sub>1</sub>, Platycoside E, Platycodin D<sub>3</sub>, Platycodin D<sub>2</sub>, Platycodin D, Polygalacin D<sub>2</sub>, and Polygalacin D. The molecular docking results showed that the 8 components had good binding force with TAS2R14. **Conclusion** The bitter substance foundation of Platycodonis Radix was elucidated, which can provide a scientific basis for the evaluation method of the authenticity of Platycodonis Radix.

**Key words:** Platycodonis Radix; Electronic tongue; Bitter substance foundation; Molecular docking; TAS2R14

道地药材的性状特征是衡量其品质优劣的关键指标, 在中药的质量评价中具有重要的指导意义。其中, 依据“味”衡量中药质量是最为直接和常用的方法, 历代医药古籍中依据“味”的差异对中药真伪、易混及质量优劣进行辨识的记载屡见不鲜, 如《本草备要》<sup>[1]</sup>载郁金: “出川、广……味苦带甘者真”; 《本草衍

义》<sup>[2]</sup>载川芎: “今出川中……嚼之微辛、甘者佳”。因此, 正确的评价及量化中药的滋味, 对中药的质量控制以及在临床中指导合理用药具有举足轻重的意义。

“味”作为中药化学成分的外在体现, 是多种化学物质共同作用的结果。古代学者们认为桔梗“味苦而辛, 苦味胜”<sup>[3]</sup>, 且应“噬味苦者入药”<sup>[4]</sup>, 1963 版《中国药典》记载桔梗“味苦者为佳”, 不少近现代中医药著作中皆有此类描述<sup>[5,6]</sup>。根据产地的不同, 桔梗分为“南桔梗”和“北桔梗”, 一般认为南桔梗味苦, 宜药用, 而北桔梗味甜, 宜食用<sup>[7]</sup>, 所以又分别称之为“苦桔梗”和“甜桔梗”, 且认为入药“苦桔梗”较“甜桔梗”为佳<sup>[8]</sup>。因此, 桔梗的苦味与其质量和药效可能存在着密切的关系。然而, 桔梗苦味呈现的关键化学成分目前还尚无定论。

电子舌 (Electronic - tongue) 是 20 世纪 80 年代发展起来的一种能够反映溶液整体品质特征的现代化智能分析检测仪器<sup>[9]</sup>, 它能够通过特定的人工脂膜和电化学技术检测单一物质以及复杂的混合物<sup>[10]</sup>。大量研究表明, 电子舌技术结合化学分离分析

收稿日期: 2023-11-28; 修订日期: 2024-06-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82073989);

2023 年全国中药特色技术传承人才培养项目 (国中医药人教函 [2023] 96 号)

作者简介: 阿丽娅·阿卜杜热依木 (1998-), 女 (维吾尔族), 新疆乌什人, 天津中医药大学在读硕士研究生, 学士学位, 主要从事中药药性及品质生物学评价研究工作。

\* 通讯作者简介: 解军波 (1975-), 男 (汉族), 山东潍坊人, 天津中医药大学教授, 博士研究生导师, 博士学位, 主要从事中药药性及品质生物学评价研究工作。

方法探究中药滋味与内在成分的关联性可用于挖掘中药的呈味物质<sup>[11-14]</sup>。为了探究桔梗中的苦味物质基础,本文拟采用电子舌技术,对来自我国南北不同产地 26 批桔梗的滋味进行量化,并通过高效液相色谱法对桔梗中的党参炔苷、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub>、桔梗皂苷 D、远志皂苷 D<sub>2</sub>、远志皂苷 D 含量进行测定,将桔梗的滋味特征信息与 8 种有效成分的含量进行斯皮尔曼相关性分析,筛选出桔梗可能的苦味成分,并通过与苦味受体 TAS2R14 进行分子对接,从分子层面探讨桔梗苦味成分与苦味受体的作用机制,揭示桔梗的“苦味”物质基础,为桔梗的道地性评提供科学依据。

### 1 材料与仪器

1.1 材料 本试验所用 26 批桔梗药材分别来自于黑龙江、辽宁、内蒙古、河北等 12 个省份,经天津中医药大学中药鉴定教研室解军波教授鉴定为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC 的干燥根,所有样品来源详见表 1。

表 1 样品信息

样品编号	产地
S1	黑龙江齐齐哈尔
S2	黑龙江七台河
S3	黑龙江牡丹江
S4	辽宁抚顺
S5	内蒙古赤峰
S6	内蒙古赤峰
S7	内蒙古赤峰
S8	内蒙古赤峰
S9	内蒙古赤峰
S10	内蒙古通辽
S11	内蒙古赤峰
S12	河北安国
S13	山西运城
S14	山西临汾
S15	山西临汾
S16	甘肃陇南
S17	安徽亳州
S18	安徽宣城
S19	浙江金华
S20	湖北黄冈
S21	四川成都
S22	四川巴中
S23	四川绵阳
S24	云南丽江
S25	云南迪庆
S26	贵州安顺

1.2 仪器 SA-402B 电子舌(日本 Insent 公司,传感器阵列信息见表 2);超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司);TGL-16M 台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);万分之一天平、十万分之一电子天平(梅特勒-托利多有限公司);电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司);Agilent1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);DP-01 型真空压力泵(BOJIN 公司);水浴锅(北京鸣远伟业实验室设备有限公司)。

表 2 电子舌传感器阵列信息

传感器名称	可检测的滋味信息	
	先味	后味
鲜味传感器(AAE)	鲜味(Umami)	丰富度(Richness)
咸味传感器(CT0)	咸味(Saltiness)	无
酸味传感器(CA0)	酸味(Sourness)	无
苦味传感器(C00)	苦味(Bitterness)	酸性苦味回味(Aftertaste-B)
涩味传感器(AE1)	涩味(Astringency)	涩味回味(Aftertaste-A)
苦味传感器(AN0)	无	碱性苦味回味(B-bitterness2)
苦味传感器(BT0)	无	盐酸盐类苦味回味(H-bitterness)
甜味传感器(GL1)	甜味(Sweetness)	无

1.3 试剂 党参炔苷、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、远志皂苷 D<sub>2</sub>、远志皂苷 D 对照品(成都德锐可生物科技有限公司,批号分别为 1718-961106、2226-980425、2225-980425、2474-980608、2473-980614,纯度 >98%),桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub>、桔梗皂苷 D 对照品(北京倍特仁康生物医药科技有限公司,批号分别为

21011122、19070306、21032503,纯度 ≥98%),酒石酸、浓盐酸、氯化钾(天津市风船化学试剂科技有限公司),无水乙醇(天津市汇航化工科技有限公司),氢氧化钾(天津市化学试剂批发公司),甲醇(分析纯,康科德),乙腈(色谱纯,康科德),屈臣氏蒸馏水。

### 2 方法与结果

2.1 桔梗样品滋味测定 取桔梗样品粉末(过 40 目筛)约 3 g,置于 150 mL 锥形瓶中,精密加入纯水 50 mL,40℃ 下超声(功率 360 W、频率 40 kHz)处理 30 min,放冷,提取液过滤。取滤液 35 mL,精密加入电子舌基准液(由 0.3 mmol/L 酒石酸与 30 mmol/L 氯化钾组成)35 mL 作为辅助电解质,充分混合,得到质量浓度为 30 mg/mL 的供试品溶液,倒入电子舌专用烧杯中上机检测。

2.2 桔梗样品“滋味”特征数据分析 本实验以基准液的味觉值为零点,测定了由 8 个传感器输出的 11 种滋味,以比较不同产地样品之间的味觉差异。试验结果表明样品中不具有 Sourness 以及 H-bitterness,因此后续的分析只考虑 Bitterness、Astringency、Aftertaste-B、Aftertaste-A、Umami、Richness、Saltiness、B-bitterness2 和 Sweetness 这 9 种滋味,各样品的味觉信息见图 1。由图 1 可知,桔梗有丰富的滋味特征,其中 B-bitterness2 占比最大, Sweetness、Bitterness 为其次,表明桔梗的碱性苦味回味最强烈,甜味的响应强度弱于碱性苦味回味,与 2020 版《中国药典》<sup>[15]</sup> 中“味微甜后苦”的滋味描述相符合。

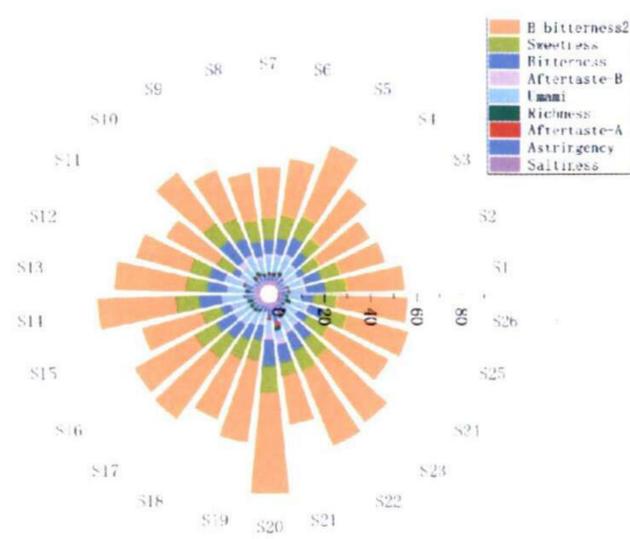


图 1 桔梗滋味信息堆积条形图

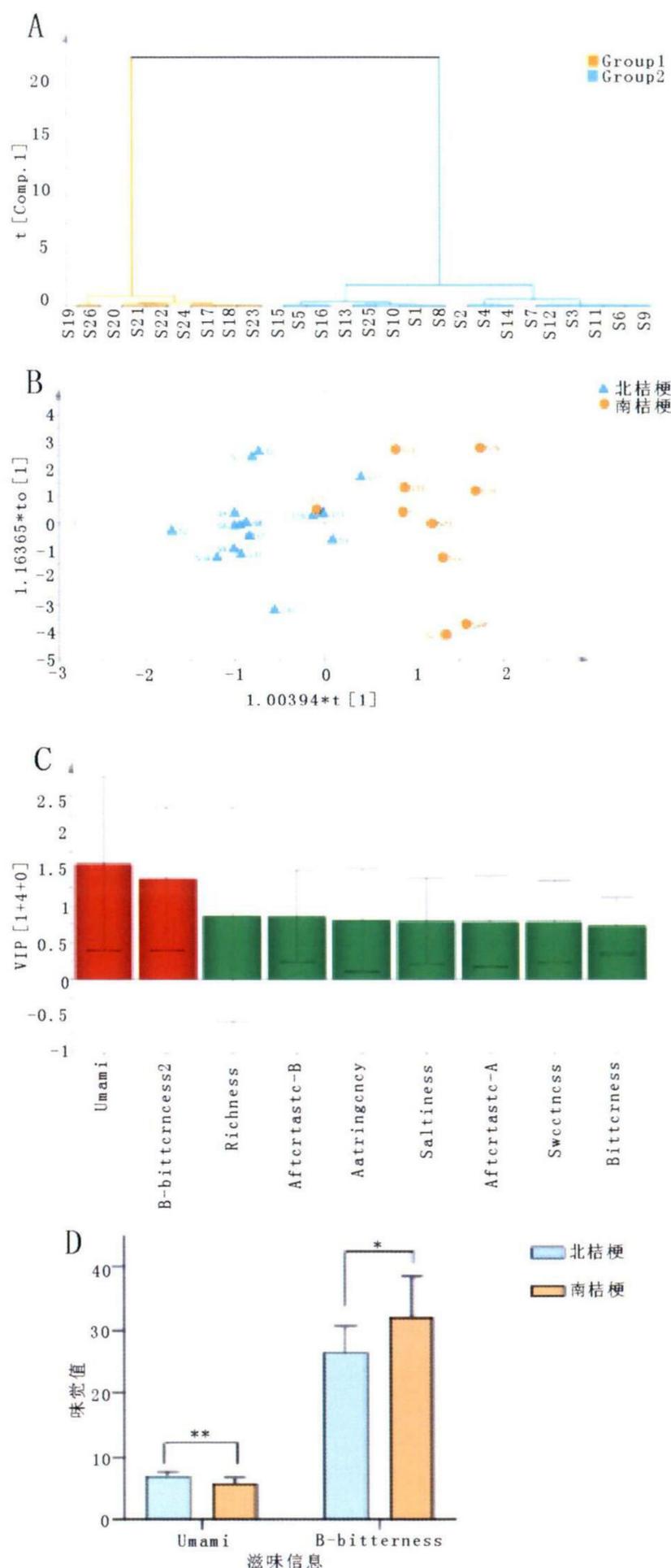
(S1-26 为样品,条形图代表不同滋味占比)

2.2.1 桔梗味觉信息的聚类分析 采用 SIMCA 14.1 软件,以不同产地桔梗的滋味信息为基准,采用瓦尔德法,对不同产地的桔梗样品进行系统聚类分析,结果见图 2A。由图 2A 可知,所有的桔梗样品可以聚为两大类,S17~S24、S26 聚为一类,其余样品为一类,结合样品的产地信息发现,S17~S24、S26 均为南桔梗(以秦岭淮河为界限),第二类中除 S25 外,均为北桔梗,表明南、北桔梗的滋味特征差异较明显。

2.2.2 正交-偏最小二乘-判别分析 为了更好的区分南桔梗与北桔梗,筛选出影响较大的差异性滋味,采用 SIMCA 14.1 软件将南、北桔梗两组样品各滋味的响应值进行 OPLS-DA 建模,结果见图 2B,南桔梗与北桔梗被判在 2 个不同区域。该模型对 X 矩阵的解释率 (R<sup>2</sup>X) = 0.868,对 Y 矩阵的解释率 (R<sup>2</sup>Y) = 0.769,该模型的预测能力 (Q<sup>2</sup>) = 0.549,均大于 0.5,说明该模型拟合度、预测性良好。在南、北桔梗 OPLS-DA 模型中,以变量投影重要度 (VIP) > 1 为筛选标准,共筛选出 2 个差异性滋味,分别为 Umami 和 B-bitterness2 (见图 2C)。

进一步对桔梗样品的 Umami 和 B-bitterness2 传感器响应值进行单因素方差分析(图 2D),结果表明南、北桔梗的鲜味存在极显著差异 (P < 0.01),北桔梗的鲜味强于南桔梗;南、北桔梗的碱性苦味回味存在显著差异 (P < 0.05),南桔梗的碱性苦味回味强于北桔梗。

桔梗为药食两用的大宗药材,一般认为南桔梗味苦,宜药用;而产在我国东北、华北地区的桔梗味甜,常作为泡菜食用<sup>[7,8]</sup>。从本实验的结果可知,北桔梗的鲜味强于南桔梗,鲜味由氨基酸和呈味核苷酸等物质引起,有助于食物可口味道的呈现<sup>[16]</sup>。而南桔梗的碱性苦味回味显著强于北桔梗。北桔梗与南桔梗的滋味特征符合其药用和食用规律,即南桔梗味苦宜药用,北桔梗味更鲜美,宜食用。



(A): 聚类分析图; (B): 正交-偏最小二乘分析图;  
(C): VIP 得分图; (D): 单因素方差分析图 (\*\*  $P < 0.01$ ; \*  $P < 0.05$ )  
图 2 桔梗“滋味”特征数据分析图

## 2.3 桔梗中 8 种有效成分含量测定

2.3.1 HPLC 色谱条件 色谱柱: InfinityLab Poroshell 120 EC -  $C_{18}$  (4.6 mm × 150 mm, 4  $\mu$ m); 流动相为乙腈(A) - 0.05% 磷酸

溶液(B) 梯度洗脱(0 ~ 7 min, 8% A; 7 ~ 15 min, 15% ~ 17% A; 25 ~ 35 min, 17% ~ 18.5% A; 35 ~ 43 min, 18.5% ~ 20.5% A; 43 ~ 50 min, 20.5% ~ 27% A; 50 ~ 60 min, 27% ~ 28% A; 60 ~ 65 min, 28% ~ 29% A; 65 ~ 70 min, 29% ~ 35% A)。流速 1.0 mL/min, 检测波长 202 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样量 10  $\mu$ L。

2.3.2 对照品溶液的制备 分别称取党参炔苷、桔梗皂苷  $G_1$ 、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷  $D_3$ 、桔梗皂苷  $D_2$ 、桔梗皂苷 D、远志皂苷  $D_2$ 、远志皂苷 D 适量, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇制成质量浓度分别为 0.198、0.381、0.842、0.375、0.154、0.594、0.191、0.121 mg/mL 的混合对照品溶液, 备用。

2.3.3 供试品溶液的制备 取桔梗粉末(过 40 目筛)约 1 g, 精密称定, 置 50 mL 离心管中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 称定重量, 40 $^{\circ}$ C 下超声处理(功率 360 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 15 mL, 置水浴上蒸干, 残渣加 50% 甲醇溶解, 定容至 5 mL。分析前过 0.45  $\mu$ m 有机滤膜, 取续滤液, 备用。

## 2.3.4 方法学考察

2.3.4.1 线性关系考察 取“2.3.2”项下的混合对照品溶液适量, 依次稀释, 按“2.3.1”项下色谱条件依次进, 记录色谱峰面积。以混合对照品的进样浓度(mg/mL)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果见表 3。

表 3 线性关系考察

对照品名称	标准曲线	r	线性范围/mg · mL <sup>-1</sup>
党参炔苷	$Y = 23757X - 46.562$	0.9999	0.0099 ~ 0.1980
桔梗皂苷 $G_1$	$Y = 2023.7X - 9.1407$	0.9999	0.0191 ~ 0.3810
桔梗皂苷 E	$Y = 2078X - 24.319$	1	0.0421 ~ 0.8420
桔梗皂苷 $D_3$	$Y = 2302.9X - 9.1917$	0.9999	0.0188 ~ 0.3750
桔梗皂苷 $D_2$	$Y = 1681.4X - 1.503$	0.9999	0.0077 ~ 0.1540
桔梗皂苷 D	$Y = 2641.5X - 11.65$	0.9999	0.0297 ~ 0.5940
远志皂苷 $D_2$	$Y = 2319.6X - 4.8662$	0.9999	0.0096 ~ 0.1910
远志皂苷 D	$Y = 2234.7X - 4.8492$	0.9999	0.0061 ~ 0.1210

2.3.4.2 精密度试验 取 S10 样品, 按“2.3.3”项下处理供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录 8 种指标成分色谱峰面积的 RSD 值分别为 0.52%、2.82%、0.88%、0.94%、1.63%、0.25%、0.77%、0.40%, 说明仪器精密度良好。

2.3.4.3 重复性试验 取 S16 样品, 按“2.3.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件分别进样, 记录 8 种指标成分的色谱峰面积, 并计算其含量的 RSD 值分别为 0.79%、1.81%、1.34%、1.87%、1.29%、1.59%、2.29%、1.78%, 表明此方法重复性良好。

2.3.4.4 稳定性试验 取 S16 样品, 按“2.3.3”项下方法处理供试品溶液, 以“2.3.1”项下色谱条件分别在 0、2、6、8、14、24 h 进样, 记录 8 种指标成分的色谱峰面积, 并计算其含量的 RSD 值分别为 0.43%、0.89%、0.51%、0.66%、2.62%、0.79%、1.61%、1.63%, 表明供试品在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的 S16 桔梗药材粉末 1 g, 共 6 份, 按“2.3.3”项制备供试品溶液, 分别加入一定浓度的混合对照品溶液适量, 按“2.3.1”项下色谱条件分别进样, 计算 8 种指标成分含量, 各成分的平均回收率介于 96% ~ 103% 之间, 回收率的 RSD 值均小于 5%, 表明此方法的回收率良好。

2.3.5 样品中 8 种单体成分含量测定 取“2.3.3”项下制备好的 26 批桔梗样品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件依次进样, 记录党参炔苷、桔梗皂苷  $G_1$ 、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷  $D_3$ 、桔梗皂苷  $D_2$ 、桔梗皂苷 D、远志皂苷  $D_2$ 、远志皂苷 D 的峰面积, 分别代入到“2.3.4.1”项下相应的标准曲线中, 计算其质量浓度, 测定其在各样品中的含量。不同产地桔梗中各单体成分的含量如表 4 所示。不同产地间 8 种单体成分的含量差异较大。桔梗皂苷 E 的含量相对最高, 含量在 0.214 ~ 4.516 mg/g, 平均含量达到 1.613 mg/g; 其次是桔梗皂苷 D, 含量在 0.386 ~ 4.842 mg/g, 平均含量达到 1.390 mg/g; 党参炔苷含量最少, 在 0.029 ~ 0.389 mg/g, 平均含

量为 0.175 mg/g。7 种皂苷类成分的总含量在 S26(贵州安顺)样品中最高,为 12.211 mg/g,其次为 S20(湖北黄冈)12.058 mg/g。

表 4 桔梗中 8 种单体成分含量 mg/g

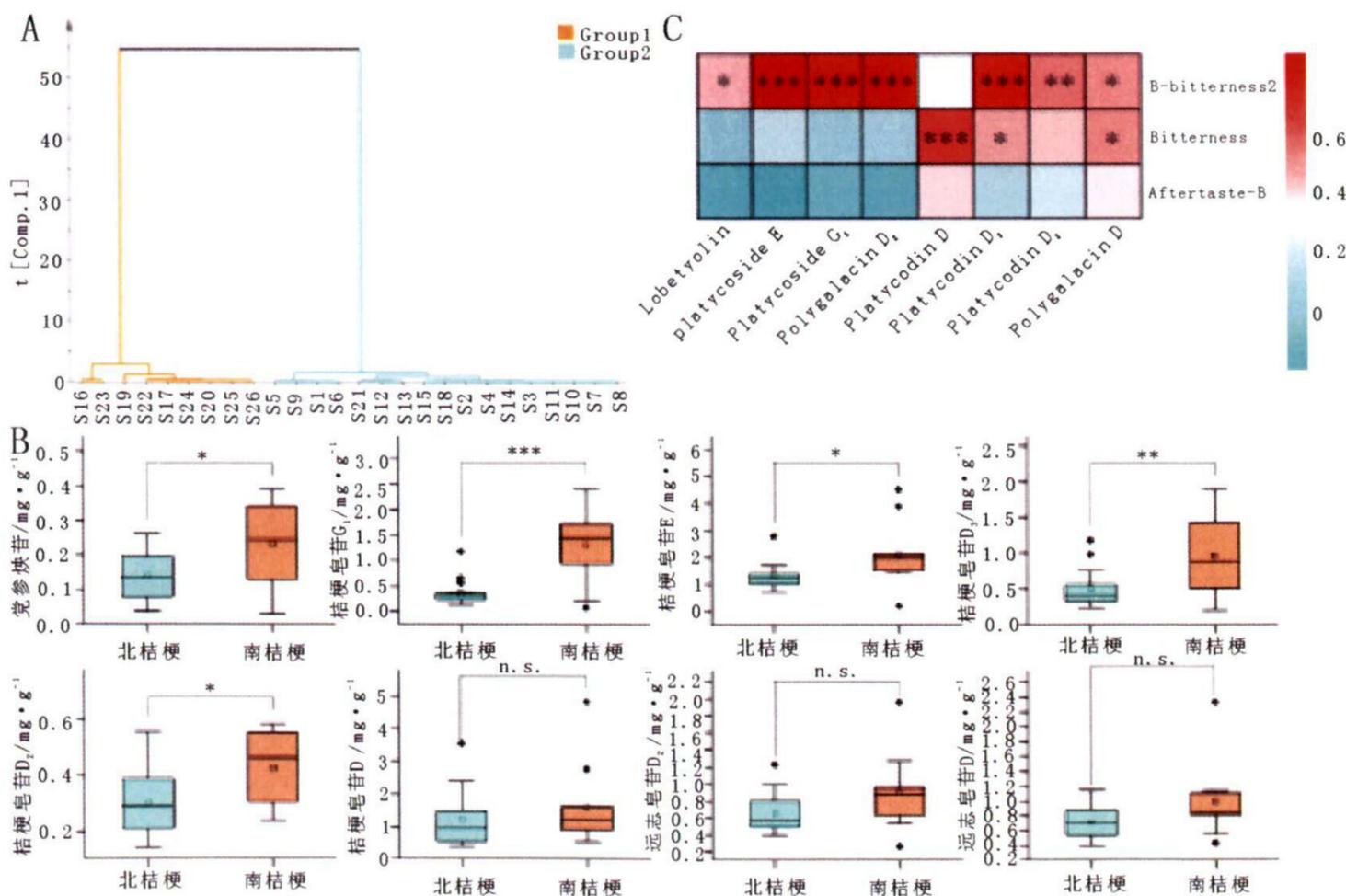
样品	党参 炔苷	桔梗皂 苷 G <sub>1</sub>	桔梗皂 苷 E	桔梗皂 苷 D <sub>3</sub>	桔梗皂 苷 D <sub>2</sub>	桔梗皂 苷 D	远志皂 苷 D <sub>2</sub>	远志皂 苷 D
S1	0.082	0.128	0.842	0.346	0.308	1.052	0.496	0.554
S2	0.066	0.131	0.703	0.512	0.289	2.104	0.400	0.993
S3	0.196	0.304	1.252	0.266	0.142	0.496	0.502	0.550
S4	0.087	0.224	1.000	0.447	0.557	1.314	0.658	0.732
S5	0.140	0.313	1.700	0.499	0.209	0.902	1.228	0.946
S6	0.167	0.248	1.097	0.374	0.215	0.506	0.547	0.475
S7	0.037	0.153	0.885	0.360	0.400	1.212	0.507	0.663
S8	0.248	0.356	1.211	0.382	0.274	0.525	0.709	0.682
S9	0.262	0.295	1.243	0.605	0.343	0.841	0.520	0.539
S10	0.108	0.370	1.445	0.984	0.379	3.553	0.593	1.154
S11	0.128	0.308	1.215	0.229	0.209	0.572	0.897	0.760
S12	0.174	0.569	1.339	0.315	0.200	0.771	0.832	0.428
S13	0.062	0.264	1.035	0.461	0.516	2.423	0.788	1.005
S14	0.211	0.653	2.782	0.755	0.408	1.621	0.999	0.819
S15	0.075	0.280	1.256	0.307	0.145	0.386	0.422	0.394
S16	0.195	1.182	1.594	1.178	0.292	1.356	0.497	0.818
S17	0.350	1.727	2.116	1.435	0.585	1.347	0.962	1.145
S18	0.091	0.215	1.421	0.472	0.250	1.625	0.633	0.835
S19	0.128	0.952	1.558	0.605	0.340	4.842	0.895	2.333
S20	0.340	2.098	3.893	1.159	0.572	1.566	1.963	0.807
S21	0.029	0.079	0.214	0.197	0.237	2.787	0.264	1.045
S22	0.308	1.476	2.014	1.204	0.490	1.130	0.921	1.116
S23	0.239	1.522	1.951	1.531	0.472	0.781	0.731	0.821
S24	0.248	1.426	2.141	0.508	0.451	0.536	0.867	0.550
S25	0.193	1.279	1.517	0.611	0.552	0.915	0.533	0.436
S26	0.389	2.400	4.516	1.887	0.303	0.966	1.266	0.873
Min	0.029	0.079	0.214	0.197	0.142	0.386	0.264	0.394
Max	0.389	2.400	4.516	1.887	0.585	4.842	1.963	2.333
Average	0.175	0.729	1.613	0.678	0.351	1.390	0.755	0.826

2.4 桔梗样品有效成分含量数据分析

2.4.1 有效成分含量聚类分析 采用 SIMCA 14.1 软件,以不同产地桔梗的 8 种单体成分含量为基准,采用瓦尔德法,对不同产地的桔梗样品进行系统聚类分析,结果见图 3A。由图 3A 可知,与桔梗味觉信息的聚类结果类似,所有的桔梗样品可以聚为两大类,第一大类中除 S16 外均为南桔梗,第二大类中除 S18、S21 外均为北桔梗,表明南、北桔梗在药效成分的含量上具有一定的差异性。

2.4.2 南、北桔梗有效成分含量差异性比较 采用 Origin pro 2021 软件对南、北桔梗中 8 种单体成分含量进行方差分析,结果如图 3B 所示,南桔梗中的党参炔苷、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub> 的含量均显著高于北桔梗,桔梗皂苷 D、远志皂苷 D<sub>2</sub>、远志皂苷 D 在南、北桔梗间无显著性差异。在一定程度上表明南桔梗中的药效成分含量高于北桔梗,质量较佳。

2.5 “滋味 - 成分”相关性分析 为了筛选桔梗的关键苦味物质,对桔梗中与苦味相关的滋味信息和成分信息进行斯皮尔曼相关性分析。结果如图 3C 所示,桔梗的 8 种单体成分主要与桔梗的碱性苦味回味 (B - bitterness<sub>2</sub>) 和酸性苦味 (Bitterness) 相关性较强。桔梗的碱性苦味回味与桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、远志皂苷 D<sub>2</sub> 呈极显著正相关 (P < 0.001),与桔梗皂苷 D<sub>2</sub> 呈非常显著正相关 (P < 0.01),与党参炔苷、远志皂苷 D 存在显著正相关 (P < 0.05)。桔梗的酸性苦味与桔梗皂苷 D 存在极显著正相关性 (P < 0.001),与远志皂苷 D、桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 呈显著正相关 (P < 0.05)。综上,这 8 种单体成分都与桔梗的苦味有关联,表明所测的 8 种成分可能是桔梗的苦味物质基础。



(A): 桔梗有效成分含量聚类分析; (B): 南、北桔梗有效成分含量差异性比较; (C): “苦味 - 成分”斯皮尔曼相关性分析 (\* P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001)

图 3 桔梗有效成分含量数据分析图

2.6 单体成分与苦味味觉受体分子对接 为了验证呈味物质与味觉受体间的结合能力,我们将以上 8 种单体成分与苦味受体 TAS2R14 进行分子对接。苦味由 T2Rs 所介导<sup>[16]</sup>,目前有 25 种

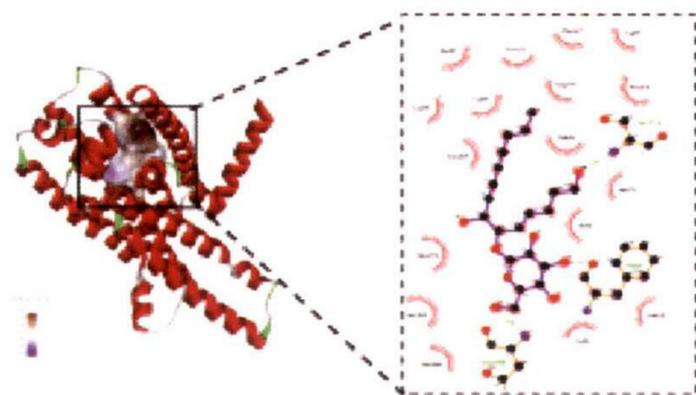
人源苦味受体已经被确认,其中 TAS2R14 是目前发现的能够结合最多配体的苦味受体,能与 150 余种配体相结合<sup>[17]</sup>,因此可以感知大部分苦味化合物。利用 Pub Chem 数据库下载 8 种单体成

分的 3D 结构,导入到 ChemDraw 3D 中,进行能量最小化作为配体备用。利用 SWISS - MODEL 将 TAS2R14 的氨基酸序列导入模块,进行同源模型的构建、优化、评估。利用 Autodock vina 1.1.2 将配体与受体进行对接,并用 Discovery studio2019 和 Ligplus 进行可视化。其 Affinity (kcal/mol) 值即代表两者结合能力,结合能越低,配体与受体结合越稳定。

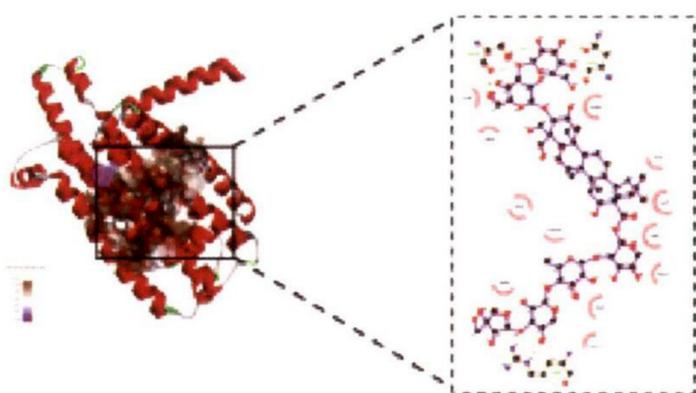
2.7 分子对接结果分析 8 个单体成分与味觉受体的结合能见表 5。结果显示,所有化合物与苦味受体的结合能均小于 0 kcal · mol<sup>-1</sup>,说明配体和受体之间均可自发结合<sup>[18]</sup>。且结合能均 ≤ -4.7 kcal · mol<sup>-1</sup>,表明 8 个单体成分与苦味受体 TAS2R14 的结合力较强。进一步通过分析三维相互作用分析发现,化合物主要通过氢键相互作用和疏水相互作用与苦味味觉受体蛋白的活性位点结合,部分化合物的对接构象见图 4。通过以上结果可知,党参炔苷、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub>、桔梗皂苷 D、远志皂苷 D<sub>2</sub>、远志皂苷 D 是桔梗产生苦味的物质基础。

表 5 单体成分与苦味味觉受体分子对接结果

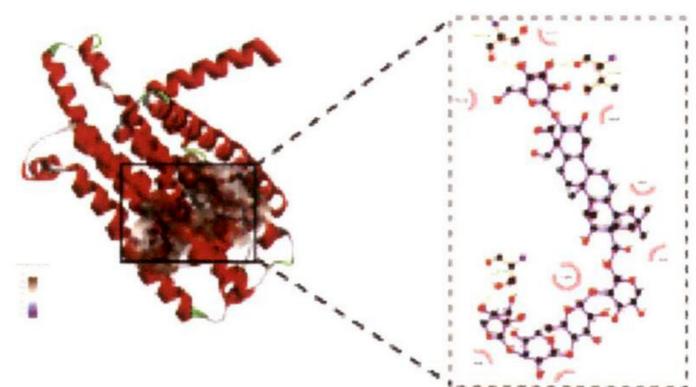
化合物	结合能/kcal · mol <sup>-1</sup>
党参炔苷	-7.2
桔梗皂苷 G <sub>1</sub>	-7.3
桔梗皂苷 E	-4.7
桔梗皂苷 D <sub>3</sub>	-7.6
桔梗皂苷 D <sub>2</sub>	-7.8
桔梗皂苷 D	-7.3
远志皂苷 D <sub>2</sub>	-5.2
远志皂苷 D	-5.0



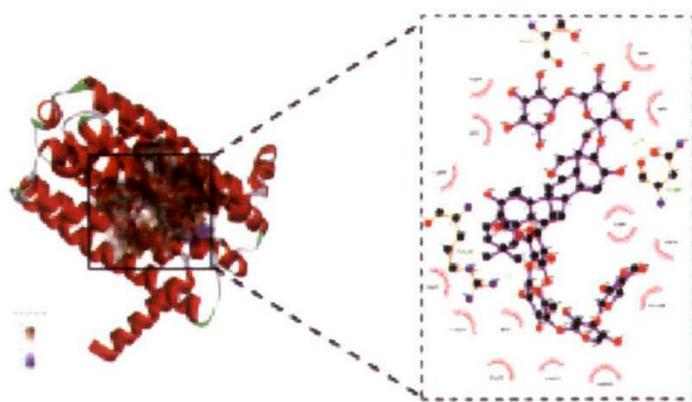
党参炔苷



桔梗皂苷D<sub>2</sub>



桔梗皂苷D



远志皂苷D<sub>2</sub>

图 4 桔梗中单体成分与 TAS2R14 分子对接构象图

### 3 讨论

传统经验认为桔梗“法味苦者为佳”,本文基于“辨状论质”理论,采用电子舌和 HPLC 法对桔梗的滋味特征和 8 个单体成分含量间的关联展开研究,发现根据桔梗的滋味特征可将其大致分为南、北桔梗两大类,且南、北桔梗的味觉差异主要由于鲜味和碱性苦味回味的不同。南桔梗碱性苦味回味更强,北桔梗鲜味更强,与桔梗的药用和食用规律相符。综合桔梗的整体滋味特征发现,桔梗的碱性苦味回味占比最高,而甜味的响应较弱,与 2020 版《中国药典》中“味微甜后苦”的滋味描述相符合。

大量研究表明,桔梗的传统功效与其所含的皂苷类、炔苷类成分存在密切的关系。例如,桔梗皂苷 D 具有良好的镇咳祛痰作用<sup>[19,20]</sup>;党参炔苷能显著提高肺癌小鼠化疗疗效<sup>[21]</sup>;我们的前期工作也表明,桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 可以缓解脂多糖诱导的肺部炎症<sup>[22]</sup>。此外,桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D<sub>3</sub> 与远志皂苷 D 等成分被确定为是桔梗中具有潜在镇咳作用的成分<sup>[23]</sup>,桔梗皂苷 D<sub>2</sub>、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 E 与远志皂苷 D<sub>2</sub> 等成分被认为可能与桔梗的祛痰作用密切相关<sup>[24]</sup>。因此,我们对桔梗中的党参炔苷、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub>、桔梗皂苷 D、远志皂苷 D<sub>2</sub>、远志皂苷 D 进行研究,发现根据这 8 种单体成分含量也能大致将其分为南、北桔梗两大类。虽然桔梗皂苷 D 的含量在南、北桔梗间无显著性差异,但党参炔苷、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub> 在南桔梗中的含量均显著高于北桔梗,与古籍中所记载的“用南产者佳”<sup>[25]</sup>“故桔梗贵南产者”<sup>[26]</sup>等描述较符合。本实验基于桔梗“滋味 - 成分”关联分析也证明,所检测的 8 个单体成分与桔梗的碱性苦味回味和酸性苦味有相关性。同时,与苦味受体 TAS2R14 的分子对接结果进一步表明,这 8 种成分与苦味受体具有良好的结合力,因此可认为这 8 种成分是桔梗的苦味物质基础。

综上所述,本研究通过挖掘“滋味 - 成分”的相关性,结合分子对接证明党参炔苷、桔梗皂苷 G<sub>1</sub>、桔梗皂苷 E、桔梗皂苷 D<sub>3</sub>、桔梗皂苷 D<sub>2</sub>、桔梗皂苷 D、远志皂苷 D<sub>2</sub>、远志皂苷 D 是桔梗呈现苦味的关键成分。然而中药中的苦味物质种类多样,包括生物碱、萜类、黄酮类、糖苷类和苦味氨基酸等<sup>[27,28]</sup>。因此,可继续对桔梗中的其他皂苷、多糖、炔苷和氨基酸类成分进行深入研究,综合探究桔梗中苦味物质基础。在此基础上,后续研究可进一步对这些成分的苦味功效进行验证,诠释桔梗道地性状评价方法的科学内涵,也为发展中药传统经验鉴别方法提供支持。

### 参考文献:

- [1] 汪 昂. 本草备要[M]. 北京:中国中医药出版社,1998:73.
- [2] 寇宗奭. 本草衍义[M]. 北京:中国医药科技出版社,2019:42.
- [3] 杨时泰. 本草述钩元[M]. 北京:科技卫生出版社,1958:98.
- [4] 陈嘉谟. 本草蒙荃[M]. 太原:山西科学技术出版社,2015:67.
- [5] 张万福. 现代中药材商品手册[M]. 北京:中国中医药出版社,1998:123.
- [6] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社,2002:766.
- [7] 管仁伟,郭瑞齐,詹志来,等. 经典名方中桔梗的本草考证[J].

- 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(10): 82.
- [8] 谢宗万. 中药材品种论述[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1964: 38.
- [9] 王 茹, 田师一. 模式识别技术在电子舌中的应用与发展[J]. 食品科技, 2009, 34(2): 108.
- [10] Woertz K, Tissen C, Kleinebudde P, et al. Taste sensing systems (electronic tongues) for pharmaceutical applications[J]. Int J Pharmaceut, 2011, 417(1-2): 256.
- [11] 张 玲, 李宗金, 张亚莉, 等. 木瓜“酸味”与有机酸成分的相关性研究[J]. 中成药, 2023, 45(2): 476.
- [12] 魏子路, 阿丽娅·阿卜杜热依木, 孙秀岩, 等. 基于味觉信息和化学成分“谱味”关系挖掘白术苦味物质基础[J]. 分析测试学报, 2023, 42(8): 952.
- [13] 吴 钰, 饶 智, 陈彦坤, 等. 基于仿生技术对不同产地当归阿魏酸含量与滋味的关联性研究[J]. 中国食物与营养, 2022, 28(2): 37.
- [14] Li X, Yang Y, Zhu Y, et al. A novel strategy for discriminating different cultivation and screening odor and taste flavor compounds in Xinhui tangerine peel using E-nose, E-tongue, and chemometrics[J]. Food Chem, 2022, 384: 132519.
- [15] 国家药典委员会. 中国药典, 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 289.
- [16] 庞广昌, 陈庆森, 胡志和, 等. 味觉受体及其传感器研究与应用[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 288.
- [17] 黄 岩, 史伊格, 梁 莉, 等. 食品中苦味物质的感知与调控研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(11): 185.
- [18] Hu M, Yan H, Li H, et al. Use of network pharmacology and molecular docking to explore the mechanism of action of curcuma in the treatment of osteosarcoma[J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 9569.
- [19] 张欣雨, 钟渊涵, 冯 艳, 等. 基于代谢组学的桔梗皂苷 D 镇咳祛痰活性及作用机制阐释研究[J]. 药学报, 2024, 59(3): 724.
- [20] Li Q, Yang T, Zhao S, et al. Distribution, Biotransformation, Pharmacological Effects, Metabolic Mechanism and Safety Evaluation of Platycodonin D: A Comprehensive Review[J]. Curr Drug Metab, 2022, 23(1): 21.
- [21] Liu L, Liu Z, Yang L, et al. Lobetyolin suppressed lung cancer in a mouse model by inhibiting epithelial-mesenchymal transition[J]. Eur J Histochem, 2022, 66(3): 3423.
- [22] Yang T, Zhao S, Yuan Y, et al. Platycodonis Radix Alleviates LPS-Induced Lung Inflammation through Modulation of TRPA1 Channels[J]. Molecules, 2023, 28(13): 5213.
- [23] Zhang C, Liang J, Zhou L, et al. Components study on antitussive effect and holistic mechanism of Platycodonis Radix based on spectrum-effect relationship and metabonomics analysis[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2021, 1173: 122680.
- [24] 张 迟, 王新红, 曾金祥, 等. 基于谱效关系的桔梗镇咳祛痰活性成分研究[J]. 中药材, 2020, 43(8): 1918.
- [25] 贾所学. 药品化义[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 32.
- [26] 顾元交. 本草汇笺[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 17.
- [27] 代丽凤, 罗理勇, 罗江琼, 等. 植物苦味物质概况及其在食品工业的应用[J]. 中国食品学报, 2020, 20(11): 305.
- [28] 张 璞, 张 耀, 桂新景, 等. 基于经典人群口尝法和电子舌法的中药饮片水煎液苦度叠加规律研究[J]. 中草药, 2021, 52(3): 653.

## 基于网络药理学探索痹症宁治疗银屑病关节炎的分子机制

陈用军<sup>1,2</sup>, 何东初<sup>1,3\*</sup>, 孙君阳<sup>1</sup>, 肖静静<sup>3</sup>, 张 勇<sup>3</sup>

(1. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430070; 2. 黄石市中心医院, 湖北 黄石 435000; 3. 中国人民解放军中部战区总医院, 湖北 武汉 430070)

**摘要:**目的 结合网络药理学和分子对接技术探索痹症宁治疗银屑病关节炎(psoriatic arthritis, PsA)的分子机制。方法 通过TCMSP数据库筛选中药复方痹症宁的活性成分及活性成分对应的靶点。在GEO数据库获得PsA转录组数据(GSE61281),分析PsA差异表达基因。通过TTD、Drugbank、Disgenet、Genecards数据库获取PsA治疗靶点。然后对药物靶点、PsA治疗靶点、PsA差异基因取交集得到痹症宁治疗PsA的关键靶点。采用clusterProfiler包对关键靶点进行GO和KEGG富集分析,揭示关键靶点的生物学功能。将潜在靶点导入String数据库构建关键靶点的PPI网络。将潜在靶点导入Cytoscape软件,构建蛋白-蛋白互作网络。最后,采用分子对接技术对有效成分和靶点进行验证。结果 该研究共筛选出痹症宁的活性成分161个,主要包括槲皮素、 $\beta$ -谷甾醇、山奈酚、黄芩素等。将鉴定出的1852个PsA治疗靶点,297个差异表达及540个活性成分相关靶点取交集,得到11个痹症宁治疗PsA的潜在靶点。这些关键靶点主要富集在中性粒细胞胞外诱捕网形成、神经活性配体-受体相互作用通路。PPI分析结果显示MPO位于网络核心。最后分子对接表明MPO能与痹症宁主要活性成分槲皮素、山奈酚稳定结合。结论 痹症宁治疗PsA可能通过多成分、多靶点、多通路发挥促进中性粒细胞胞外诱捕网形成、神经活性配体-受体途径发挥治疗PsA作用。

**关键词:**银屑病关节炎; 痹症宁; 网络药理学; 分子对接

DOI标识:doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2024.07.62

中图分类号:R255.6;R275.9 文献标识码:A 文章编号:1008-0805(2023)07-1772-04

收稿日期:2024-02-06; 修订日期:2024-06-01

基金项目:湖北省自然科学基金面上项目(2022CFD061)

作者简介:陈用军(1981-),男(汉族),湖北黄冈人,黄石市中心医院副主任医师,湖北中医药大学在读博士研究生,硕士学位,主要从事中西医结合防治皮肤病工作。

\*通讯作者简介:何东初(1966-),男(汉族),湖北黄冈人,中国人民解放军中部战区总医院主任医师,博士研究生导师,博士学位,主要从事中西医结合临床工作。

银屑病关节炎(psoriatic arthritis, PsA)是一种常见的外周骨骼和中轴骨骼慢性炎症性疾病,是最常见的银屑病并发症,约1/3的银屑病患者最终会进展为PsA<sup>[1]</sup>。该病不仅影响患者的日常生活,而且给患者及其家庭带来不同程度的精神和经济负担。PsA发病机制复杂且尚不清楚,研究表明其与遗传、环境和免疫密切相关<sup>[2]</sup>。在缓解疼痛和减轻炎症的治疗中,非甾体抗炎药是中轴受累患者一线治疗用药,但常伴有严重并发症<sup>[3]</sup>。靶向生物制剂的治疗费用昂贵,易复发。因此,急需研发出成本低廉