

头花蓼不同入药部位黄酮类成分治疗淋球菌感染的分子机制研究

杨杰¹, 张瑜^{2*}, 郭步伐¹, 彭启伦¹, 叶茂¹, 易伟³

¹毕节医学高等专科学校, 毕节 551700; ²重庆医药高等专科学校, 重庆 401331; ³广州医科大学药学院, 广州 511495

摘要: 比较分析头花蓼茎、花及叶黄酮类成分治疗淋球菌感染作用机制的异同。本研究首先采用超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法 (UPLC-Q-Orbitrap-HRMS) 鉴定头花蓼茎、花及叶黄酮类化合物的种类和含量。然后, 通过网络药理学比较头花蓼不同入药部位峰面积比值大于 0.1% 的黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点的差异。最后, 利用 AutoDock Vina 软件对核心活性成分与关键靶点进行分子对接验证。经 UPLC-Q-Orbitrap-HRMS 结果证实, 头花蓼花中黄酮类化合物分布的数量 > 叶 > 茎; 头花蓼叶中黄酮类化合物分布的含量 > 花 > 茎, 其中槲皮苷相对含量最高。网络药理学研究结果表明, 头花蓼不同入药部位黄酮类成分治疗淋球菌感染的共有核心靶点为 TNF α 、PTGS2、MMP-9、MMP-2 和 EGFR。经分子对接验证, 头花蓼茎、花及叶中相对含量最高的化合物槲皮苷与 PTGS2 对接的结合能均低于 -10 kcal/mol。上述研究结果揭示头花蓼不同入药部位黄酮类成分种类和含量的差异以及头花蓼不同入药部位黄酮类成分通过多途径和多靶点治疗淋球菌感染, 为头花蓼不同入药部位临床应用提供参考依据。

关键词: 头花蓼; 不同入药部位; 淋球菌感染; 网络药理学; UPLC-Q-Orbitrap-HRMS; 分子机制

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

Molecular mechanism of flavonoids from different medicinal parts of *Polygonum capitatum* in the treatment of gonococcal infection

YANG Jie¹, ZHANG Yu^{2*}, GUO Bu-fa¹, PENG Qi-lun¹, YE Mao¹, YI Wei³

¹Bijie Medical College, Bijie 551700, China; ²Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China; ³Department of Pharmacy, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511495, China

Abstract: This study aims to comparatively analyze the mechanisms of action of the stem, flower, and leaf flavonoids of *Polygonum capitatum* (PC) in the treatment of gonorrhoeal infection. Firstly, the UPLC-Q-Orbitrap-HRMS was employed to identify the types and concentration of flavonoids present in the stems, flowers, and leaves of PC. Subsequently, based on flavonoids of peak area ratio more than 0.1%, the target differences of flavonoids from different parts of PC in the treatment of gonococcal infections was compared using

the network pharmacological approach. Finally, the affinity between the nuclear active ingredients and key targets was validated using AutoDock Vina software. It was established that the quantities of flavonoids in the flowers of PC was ranked in descending order as follows: flowers > leaves > stems. Additionally, the content of flavonoids in the leaves of PC was found to be highest, followed by the flowers, and then the stems. Among the flavonoids of PC, the content of quercitrin was higher than that of other compounds. Network pharmacological studies have revealed that the common core targets of flavonoids from different parts of PC in the treatment of gonococcal infections were TNF- α , PTGS2, MMP-9, MMP-2, and EGFR. The compound quercetin, which has the highest relative content in the stems, flowers, and leaves of PC, possess a binding energy with PTGS2 that is lower than -10 kcal/mol, as verified by molecular docking. This research reveals the differences in types and concentration of flavonoids present in different parts of PC, and indicates that these flavonoids in various parts of PC may treat gonococcal infections through multiple pathways and targets. These results provide a reference basis for the clinical application of different parts of PC.

Key words: *Polygonum capitatum*; different parts; gonococcal infection; network pharmacology; UPLC-Q-Orbitrap-HRMS; molecular mechanism

淋球菌又称淋病奈瑟球菌,是导致全球第二大性传播疾病的微生物,通常感染子宫内膜、尿道等黏膜表面^[1-3]。一般来说,男性感染淋球菌后可出现尿道脓性分泌物,伴有灼热、疼痛等不适症状。女性感染淋球菌后阴道、宫颈多呈现无症状性淋病,易耽误诊治^[1-3]。若不治疗,可累及关节、心脏及神经系统,更为严重地将导致盆腔炎、异位妊娠及不孕症,危害公共卫生安全及患者的生活质量^[1-3]。目前,播散性淋球菌感染发病率约为0.5%~3%^[1-3],其防治策略有待于进一步研究。

头花蓼入药部位为地上全草,主要分布于贵州、四川、云南等地,被称为贵州省著名的道地药材,为蓼科蓼属头状蓼组多年生草本植物,春、夏、秋三季均可采收^[4]。大量文献数据证实,头花蓼富含黄酮类成分,其头花蓼单味药及复方制剂主要用于治疗泌尿系统感染,疗效高,副作用少,具有显著的抗炎抗菌活性,涉及数千、近万种作用靶点^[5,6]。Zhang等^[7]研究表明,头花蓼35%甲醇洗脱物对淋球菌有明显的抗菌作用。但是,缺乏头花蓼黄酮类成分抗淋球菌感染的作用机制研究。没食子酸、槲皮素及槲皮苷被认为是头花蓼的潜在质量标志控制物^[8,9]。Zuo等^[10]研究结果表明,头花蓼叶中槲皮素含量>花>茎。因此,头花蓼不同入药部位总黄酮含量存在显著差异,进而可导致功效的差异。目前临床用药中,头花蓼不同入药部位没有完全区分开,均以地上全草入药。为了更精准合理地使用头花蓼不同入药部位,对头花蓼地上全草茎、花、叶等部位的化学成分、药理作用和作用机制进行对比研究

非常有必要，具有较好的现实指导意义。

网络药理学是一门广泛应用于中医药领域的系统药理学，是一门新兴学科，可从机体整体的角度阐释中药及复方治疗疾病的作用机制，与中医药的整体观不谋而合^[11]。为此，采用超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法（UPLC-Q-Orbitrap-HRMS）鉴定头花蓼茎、花、叶的化合物，结合专属中药成分数据库对头花蓼不同入药部位化合物的种类和含量进行定性定量分析，以确定头花蓼黄酮类成分含量最高的入药部位；同时，通过网络药理学方法探讨头花蓼不同入药部位黄酮类成分治疗淋球菌感染作用机制的差异；并经分子对接技术验证预测结果，为临床应用提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂

甲醇（批号 A452-4）、乙腈（批号 A998-4）、甲酸（批号 A117-50）（赛默飞世尔科技）。

1.1.2 主要仪器

F-060SD 超声波清洗机（深圳福洋科技集团有限公司）；TYXH-I 漩涡振荡器（上海汗诺仪器有限公司）；TGL-16MS 台式高速冷冻离心机（上海卢湘仪离心机仪器有限公司）；ACQUITY UPLC I-Class HF 高效液相色谱仪、ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱（Waters）、ACQUITY UPLC PDA 检测器（Waters）；Thermo-Orbitrap-QE 高分辨液质联用质谱仪（Thermo）。

1.1.3 药材

研究证实 8 月中下旬为头花蓼的最佳采收时期^[12]。因此，2023 年 8 月中旬，在贵州省织金县牛场镇岩寨村现场采集长势优良的头花蓼作为代表性新鲜样品，并经毕节医学高等专科学校药用植物学专家孙勇副教授鉴定为蓼科蓼属头状蓼组多年生草本植物野生头花蓼 *Polygonum capitatum* 的地上全草部分，分别取头花蓼茎、花、叶各 5 g，锡箔纸包裹、编号，立即投入干冰中保存并运输，送至实验室检测。

1.2 方法

1.2.1 头花蓼不同入药部位化学成分种类和含量分析

1.2.1.1 前处理

参考 Liu 等^[13]方法，将样本取出，用液氮研磨均匀后，称取约 66.7 mg 样本于 1.5 mL 离心管中；加入 600 μ L 70%的甲醇-水溶液（4 μ g/mL），涡旋震荡 1 min，加入钢珠；-40 $^{\circ}$ C 冰箱中预冷 2 min 后，放入研磨机中研磨（60 Hz，2min）；冰水浴超声提取 60 min，-40 $^{\circ}$ C

下静置 30 min；离心 10 min（12 000 r/min，4 °C），取全部上清液过 0.22 μm 的有机相滤膜；4 °C 下静置过夜；离心 10 min（12 000 r/min，4 °C），取全部上清液继续过 0.22 μm 的有机相滤膜，装入内衬管的 LC-MS 进样小瓶中进行分析。

1.2.1.2 液相色谱-质谱条件

参考 Liu 等^[13]方法，进行头花蓼不同入药部位液相色谱-质谱分离。采用色谱柱：ACQUITY UPLC HSS T3（100 mm×2.1 mm，1.8 μm），柱温：45 °C，流动相：A 相-水（含 0.1%甲酸），B 相-乙腈，流速：0.35 mL/min，进样体积：5 μL，PDA 扫描范围：210~400 nm。质谱条件：离子源为 HESI，样品质谱信号采集分别采用正负离子扫描模式，数据采集模式：DDA，扫描方式：Full MS/dd-MS²（TOP 8）。洗脱梯度信息如下：0 min，5% B；2min，5% B；4min，30% B；8min，50% B；10min，80% B；14min，100% B；15 min，100% B；15.1 min，5%B；16 min，5%B。质谱参数信息如下：喷雾电压，3 800 V（正离子模式）、3 000 V（负离子模式）；鞘气流速，35 Arb；辅助气体流速，8 Arb；毛细血管温度，320 °C；辅助气体加热器温度，350 °C。

1.2.1.3 紫外吸收与基峰分析

在 210 nm 和 254 nm 波长下检测头花蓼茎、花、叶化合物的紫外吸收。然后，以正负离子模式，对头花蓼茎、花、叶各样本分别进三针技术重复，并将每个时间点质谱图中最强的离子强度连续描绘得到基峰图（base peak chromatogram，BPC）。

1.2.1.4 定性定量分析

数据预处理在进行模式识别之前，原始数据经代谢组学处理软件 Progenesis QI v3.0（Nonlinear Dynamics，Newcastle，UK）进行基线过滤、峰识别、积分、保留时间校正、峰对齐和归一化。化合物的鉴定基于精确质量数、二级碎片以及同位素分布，使用 LuMet-TCM 数据库进行定性定量分析。

LuMet-TCM 数据库针对植物样本建立的专属中药成分数据库，数据库包含 5 000 余种中药成分标准品信息（标准品均采购于成都乐美天医药科技有限公司和上海源叶生物科技有限公司），其中涵盖生物碱类、酚酸类、黄酮类、香豆素类、苯丙素类、木脂素、萜类等 10 大类中药成分，除包含中药成分标准品的分类、质量数、碎片离子、保留时间等基础信息外，对于中药成分的植物来源，成分分类等生物学信息也均有收录。

1.2.2 网络药理学预测头花蓼不同入药部位黄酮类成分治疗淋球菌感染的作用机制

以干燥品计，没食子酸含有量不得少于 0.05%，槲皮苷含有量不得少于 0.1%^[14]，因此经 UPLC-Q-Orbitrap-HRMS 检测头花蓼不同入药部位的化学成分，并对峰面积比值大于 0.1%

的黄酮类化合物利用 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询其 SMILES 序列号, 并在 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 中预测其黄酮类化合物的靶点。

经 OMIM 数据库 (<https://omim.org>)、人类基因数据库 (<https://www.genecards.org/>) 查询淋球菌感染 (gonococcal infection) 相关靶点, 合并去重后得到淋球菌感染的相关靶点。绘制黄酮类化合物靶点与淋球菌感染靶点的维恩图, 获取头花蓼茎、花及叶黄酮类化合物与淋球菌感染的交集靶点。利用 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 构建蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 根据其 degree 值分析其核心靶点。采用 Cytoscape v3.9.1 软件 (<http://cytoscape.org/>) 构建头花蓼不同入药部位黄酮类化合物治疗淋球菌感染的靶点网络。最后, 利用 R4.3.3 脚本对头花蓼茎、花及叶黄酮类化合物抗淋球菌感染的各自靶点进行功能富集分析。

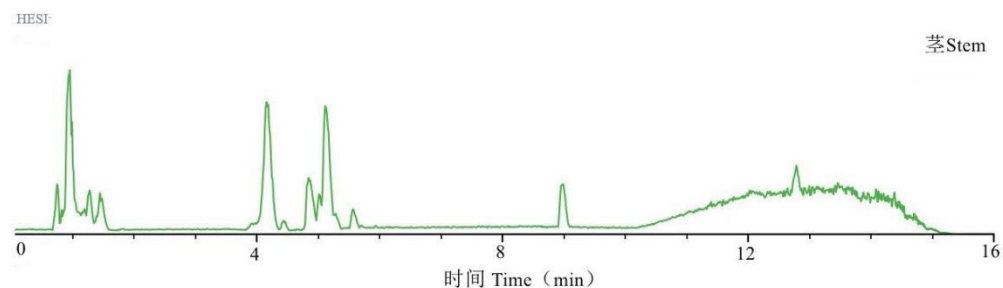
1.2.3 头花蓼不同入药部位黄酮类活性成分与关键靶点的分子对接

利用 PubChem 数据库获取头花蓼茎、花及叶黄酮类活性成分的 SDF 结构文件, 经 ChemBio3D 软件, 将其转化为 mol2 格式。在 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中下载关键靶点的 pdb 格式文件, 并经 Pymol 软件去除水分子和小分子配体, 然后导入 AutoDock Tools1.5.7 软件, 通过加氢等步骤, 输出关键靶点.pdbqt 格式文件; 输入小分子配体 mol2 格式文件, 导出配体.pdbqt 格式文件; 运行 Grid 模块, 设置活性成分与关键靶点的活性口袋, 运用 AutoDock_vina 软件进行分子对接, 保存最低结合能的配体-受体复合物构象, 经 Pymol 软件绘制相应可视化结果。利用 GraphPad Prism 9.0 软件构建结合能热图。

2 结果

2.1 紫外吸收与基峰图

头花蓼各样本化合物中, 皂苷类成分在 210 nm 波长下有强紫外吸收, 含有苯环、双键等结构的成分在 254 nm 波长下有强紫外吸收。正负离子模式下, 头花蓼茎、花、叶各样本中分别进三针技术重复的 BPC 图趋于一致 (见图 1)。



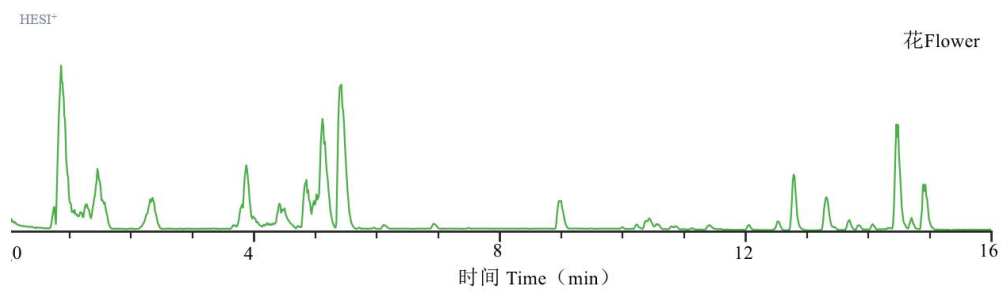
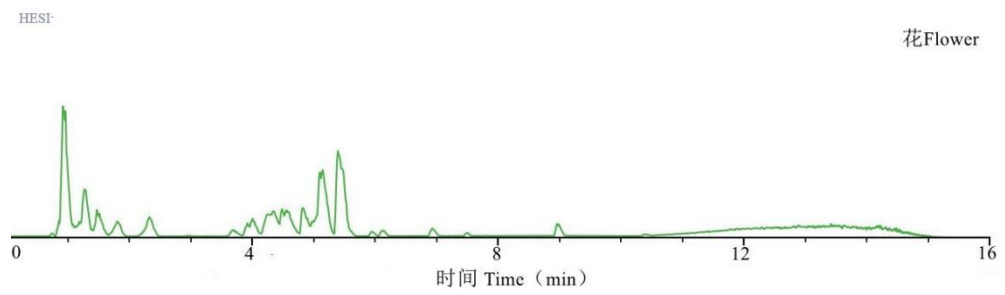
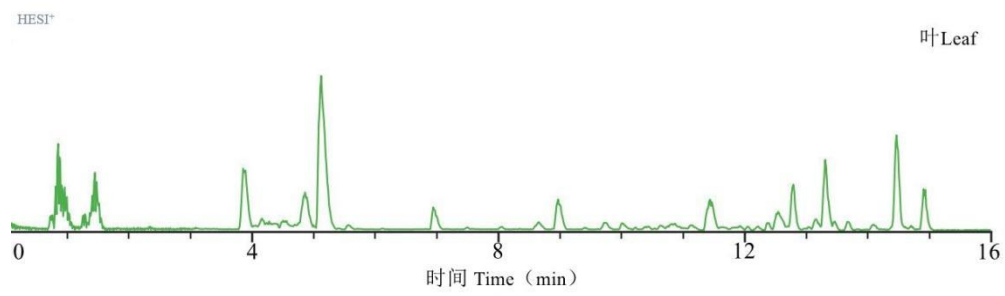
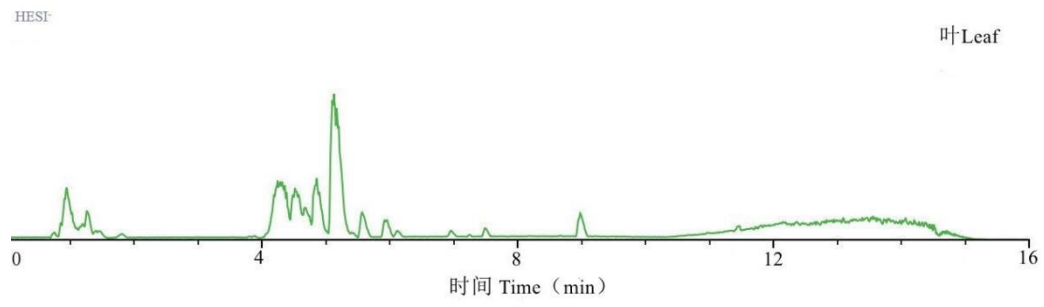
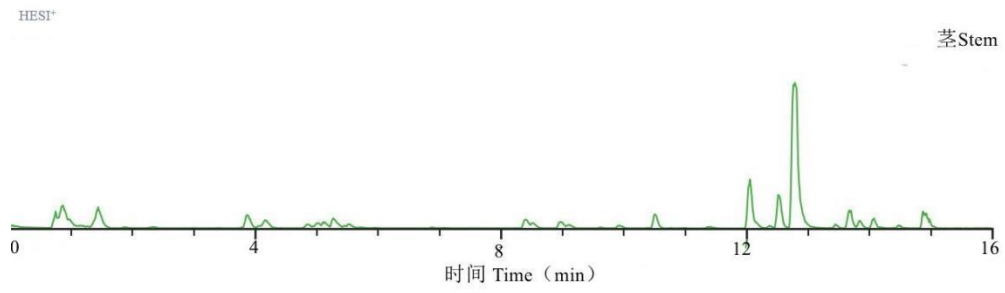


图1 头花蓼茎、花、叶样本于正负离子模式下的BPC图

Fig. 1 The BPC graph of the stem, flower and leaf samples of *P. capitatum* in positive and negative ion mode

2.2 头花蓼茎、花、叶样本中成分的分类

结合 LuMet-TCM 数据库标准品信息，从质荷比、二级碎片及同位素分布方面在头花蓼茎、叶及花中分别鉴定到 313、298 和 303 个化合物，含有黄酮类、酚类、萜类、苯丙素类、脂肪酰类、羧酸及衍生物、糖及糖苷类、甾体类、生物碱、氨基酸及多肽类、有机酸及其衍生物以及其他类化合物。经过比较，黄酮类化合物在头花蓼茎中分布达 23.96%（75 个），花中分布达 31.68%（96 个），叶中分布达 24.83%（74 个），均高于其他结构类型的化合物，提示头花蓼茎、花及叶中富含黄酮类化合物，其中花中黄酮类化合物分布的数量最高，见图 2。黄酮类化合物包括查尔酮类、二氢黄酮醇类、二氢黄酮类、黄酮、黄酮醇类、黄烷醇类、异黄酮类、原花青素类和其他黄酮类结构类型，黄酮醇类化合物在头花蓼叶中分布最高，达 31.08%（23 个）；黄酮在头花蓼花中分布最高，达 37.50%（36 个）。这些数据提示头花蓼茎、花及叶中分布的黄酮类结构类型以黄酮和黄酮醇为主（见图 3）。

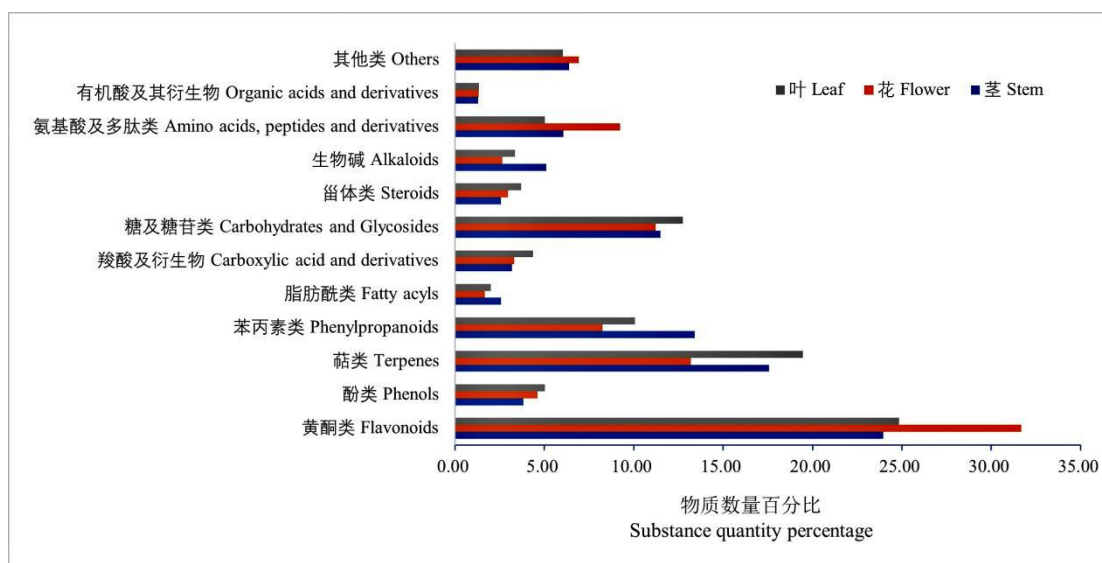


图 2 头花蓼茎、花、叶样本中化合物数量分布图

Fig.2 The statistical graph of the classified number of compounds in the stem, flower and leaf samples of *P.*

capitatum

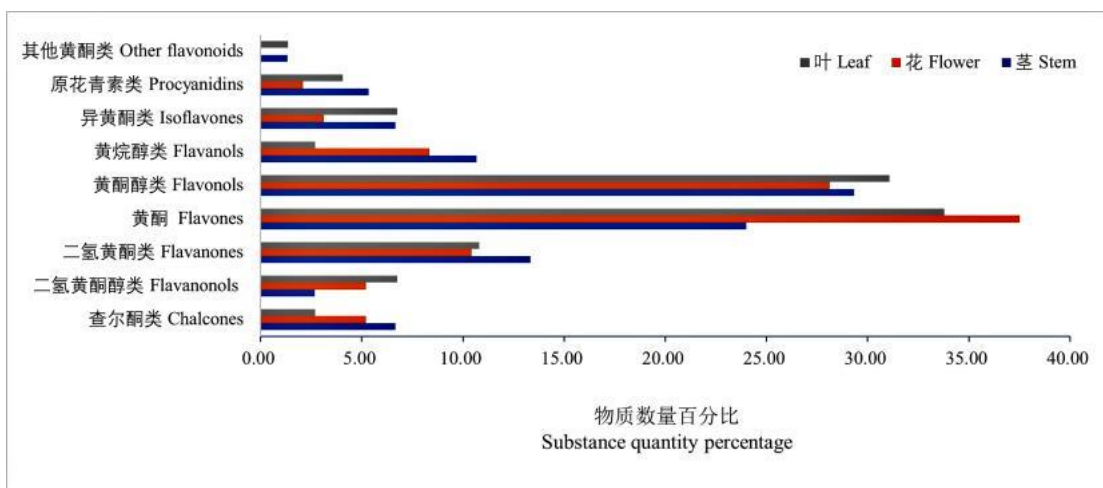


图3 头花蓼茎、花、叶样本中黄酮结构类型化合物数量分布图

Fig.3 The statistical graph of number distribution of flavonoids in the stem, flower and leaf samples of *P.*

capitatum

2.2.1 黄酮类

2.2.1 黄酮类

黄酮类是指具有 2-苯基色原酮母核的化合物，其基本骨架为 C6-C3-C6。黄酮类结构化合物具有抗炎抗菌、抗氧化、抗癌、免疫调节等药理作用。在头花蓼茎、花及叶中分别鉴定了 18、36 和 25 个黄酮结构的化合物（表 1~3 仅列出峰面积比值大于 0.1%的化合物），比如槲皮苷、槲皮素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、6-羟基木犀草素、槲皮素-3-*O*-葡萄糖醛酸苷、山柰酚等，主要以糖苷的形式存在，通过水解葡萄糖醛酸、鼠李糖基、葡萄糖基等结构单元而得到相应苷元。

2.2.2 黄酮醇类

黄酮醇类是指 2-苯基色原酮-3-醇的衍生物。在头花蓼茎、花及叶中分别鉴定到 22、27 和 23 个黄酮醇类结构的化合物。比如，2"-*O*-没食子酰基金丝桃苷、金丝桃苷、粘毛黄芩素 I、异槲皮苷、桑色素、杨梅苷等。

2.2.3 黄烷醇类

黄烷醇类包括黄烷-3-醇、黄烷-3,4-二醇和黄烷-4-醇。其中，黄烷-3-醇衍生物称为儿茶素类。儿茶素和表儿茶素没食子酸酯在绿茶植物中分布特别广泛。在头花蓼茎、花及叶中分别鉴定到 12、10 和 11 个黄烷醇类化合物。同时，由黄烷醇单体聚合而成的低聚体称为原花青素类。

表 1 头花蓼茎中黄酮类化合物鉴定

Table 1 The identification of flavonoids in the stems of *P. capitatum*

编号	保留时间	分子式	离子模式	实测值	误差	二级碎片离子	化合物	结构类型	峰面积比值
No.	Retention time (min)	molecular formula	Ion mode	Metered value (m/z)	Error ($\times 10^{-6}$)	Secondary fragment ions (m/z)	Compound	Structural type	Peak area ratio (%)
1	5.12	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M+H] ⁺	449.108 0	0.32	71.049 8、 85.029 1、 129.054 8、 287.055 1、 303.049 9	槲皮苷 Quercitrin	黄酮 Flavones	4.91
2	4.85	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	465.103 0	0.61	85.029 1、 303.050 0、 319.045 0	槲皮素 -7-O-β-D-吡喃 葡萄糖苷 Quercimeritrin	黄酮 Flavones	3.58
3	4.16	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	291.086 4	0.19	123.044 3、 147.044 2、 151.038 9、 163.039 2、 189.054 7、 227.023 2、 273.075 9	儿茶素 Catechin	黄烷醇 Flavanols	2.53
4	4.88	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	[M+H] ⁺	617.114 1	0.6	69.034 2、 127.039 2、 153.018 3、 297.060 5、 303.050 0、 315.071 2、 617.145 6	2"-O-没食子酰 基金丝桃苷 2"-O-Galloylhy perin	黄酮醇 Flavonols	1.68
5	4.09	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	577.135 7	0.96	125.023 4、 137.023 8、	原花青素 B4 Procyanidin B4	原花青素 Procyanid ins	1.21

						161.023 6、			
						245.080 9、			
						287.056 3、			
						289.072 7、			
						407.076 8、			
						425.088 4、			
						451.105 1、			
						577.134 1			
6	5.12	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.049 9	0.07	303.050 0	粘毛黄芩素 I Viscidulin I	黄酮醇 Flavonols	0.92
7	3.96	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M+H] ⁺	579.150 0	0.55	271.061 2、	原花青素 B1 Procyanidin B1	原花青素 Procyanid	0.90
						275.054 7、		ins	
						283.059 2、			
						287.055 5、			
						289.071 3、			
						291.086 2、			
						301.071 8、			
						409.090 9、			
						427.102 3、			
						579.151 1			
8	4.28	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M+H] ⁺	579.150 1	0.65	275.055 4、	原花青素 B2 Procyanidin B2	原花青素 Procyanid	0.67
						283.060 9、		ins	
						287.055 1、			
						289.070 8、			
						291.086 4、			
						301.070 7、			
						409.091 9、			
						411.106 3、			
						427.102 7、			

						579.150 1			
9	4.88	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	[M+H] ⁺	443.097 5	0.44	123.044 3、 139.039 1、 151.039 2、 153.018 3、 273.076 0、 291.086 7、 442.177 4	表儿茶素没食 子酸酯 Epicatechin gallate	黄烷醇 Flavanols	0.41
10	4.85	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.050 0	0.13	303.050 0	洋槐黄素 Robinetin	黄酮醇 Flavonols	0.25
11	5.94	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.035 4	0.2	165.018 6、 301.035 7	桑色素 Morin	黄酮醇 Flavonols	0.18
12	6.41	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	315.051 2	0.57	112.984 4、 246.944 5、 255.029 8、 271.025 0、 300.027 4、 315.051 1	3-邻甲基 槲皮素 3-O-Methylquer cetin	黄酮醇 Flavonols	0.13

表 2 头花蓼花中黄酮类化合物鉴定

Table 2 The identification of flavonoids in the flowers of *P. capitatum*

编号	保留时间	分子式	离子模式	实测值	误差	二级碎片离子	化合物	结构类型	峰面积比值
No.	Retention time (min)	Molecular formula	Ion mode	Metered value (<i>m/z</i>)	Error (×10 ⁻⁶)	Secondary fragment ions (<i>m/z</i>)	Compound	Structural type	Peak area ratio (%)
1	5.11	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M+H] ⁺	449.107 5	-0.79	71.049 4、 85.028 3、 129.054 6、 287.054 8、	槲皮苷 Quercitrin	黄酮 Flavones	8.35

						303.050 2			
2	4.83	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	463.088 2	-0.08	271.024 8、 300.027 5、 316.022 3、 463.088 4	金丝桃苷 Hyperoside	黄酮醇 Flavonols	5.16
3	4.85	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	465.102 5	-0.52	71.049 8、 85.029 2、 303.049 6、 319.044 4	槲皮素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 Quercimeritrin	黄酮 Flavones	4.28
4	5.13	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.049 7	-0.87	302.144 1、 303.049 7	6-羟基木犀草素 6-Hydroxyluteolin	黄酮 Flavones	1.99
5	4.84	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	477.067 3	-0.26	151.002 8、 178.997 9、 301.035 3、 477.067 1	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖醛酸苷 Miquelianin	黄酮 Flavones	1.06
6	4.89	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	[M+H] ⁺	443.097 1	-0.47	123.044 2、 139.038 9、 151.038 9、 153.018 1、 273.075 7、 291.086 0	表儿茶素 没食子酸酯 Epicatechin gallate	黄烷醇 Flavanols	0.75
7	6.93	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	285.040 4	-0.28	165.018 5、 285.040 8	山柰酚 Kaempferol	黄酮 Flavones	0.48
8	6.13	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.035 2	-0.49	151.002 8、 178.997 9、 301.035 3	桑色素 Morin	黄酮醇 Flavonols	0.44
9	4.74	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	435.128 5	-0.25	297.076 9、 315.085 8、	半皮桉苷 Hemiphloin	二氢黄酮 Flavanones	0.44

						339.085 9、			
						351.085 2、			
						363.084 1、			
						369.096 2、			
						381.096 5、			
						399.107 1、			
						417.117 6、			
						435.128 8			
10	4.76	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	433.114 0	-0.02	119.049 2、	异柚葡萄糖苷	二氢黄酮	0.41
						193.013 8、	Isohemiphloin	Flavanones	
						271.061 6、			
						313.072 0、			
						343.082 5、			
						433.114 0			
11	4.81	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₅	[M-H ₂ O-H] ⁻	531.075 8	-4.12	169.013 7、	槲皮素-3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -	黄酮醇	0.38
						300.027 8、	丙二酰基)-β- <i>D</i> -葡	Flavonols	
						316.022 2、	萄糖苷		
						463.088 4	Quercetin		
							3- <i>O</i> -malonylglucosi		
							de		
12	4.85	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.049 7	-0.87	303.049 4	洋槐黄素	黄酮醇	0.27
							Robinetin	Flavonols	
13	5.05	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	[M+H] ⁺	463.086 9	-0.45	287.054 7、	山柰酚葡萄糖	黄酮	0.21
						463.086 7	醛酸苷	Flavones	
							Kaempferol		
							3- <i>O</i> -beta- <i>D</i> -glucuro		
							nide		
14	4.17	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	291.086 1	-0.62	123.044 2、	儿茶素	黄烷醇	0.18
						139.039 0、	Catechin	Flavanols	

						147.044 0、			
						153.018 2、			
						165.054 6、			
						207.066 3、			
						291.086 0			
15	4.25	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	577.135 2	0.14	151.039 0、	原花青素 B2	原花青素	0.17
						161.023 4、	Procyanidin B2	Procyanidin s	
						245.081 6、			
						287.055 8、			
						289.071 9、			
						299.056 4、			
						407.076 7、			
						425.087 6、			
						451.102 8、			
						577.135 4			
16	5.4	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	[M-H] ⁻	317.030 0	-0.76	112.984 5、	杨梅素	黄酮醇	0.15
						137.023 5、	Myricetin	Flavonols	
						151.002 9、			
						165.018 5、			
						178.997 0、			
						317.029 9			
17	4.16	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₂	[M-H] ⁻	465.103 7	-0.34	241.050 7、	花旗松素 7- <i>O</i> -葡萄	二氢黄酮醇	0.16
						285.040 7、	糖苷	Flavanonols	
						303.051 0、	Taxifolin		
						313.055 3、	7- <i>O</i> -beta- <i>D</i> -		
						329.086 8、	glucoside		
						398.109 0、			
						421.114 1、			
						465.073 3、			

						465.098 9、			
						465.107 7			
18	3.98	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M+H] ⁺	579.149 5	-0.27	291.085 9、	原花青素 B1	原花青素	0.13
						301.071 6、	Procyanidin B1	Procyanidin s	
						301.140 6、			
						357.940 3、			
						409.091 3、			
						411.106 4、			
						427.102 4、			
						538.004 8、			
						556.015 1、			
						579.149 5			
19	5.4	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	[M+FA-H] ⁻	521.093 7	0.03	60.992 1、	灯盏花乙素甲酯	黄酮	0.13
						88.987 0、	Scutellarin	Flavones	
						375.010 2、	methylester		
						431.097 1			
20	5.26	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	417.082 8	0.19	255.029 7、	胡桃苷	黄酮	0.11
						284.032 6、	Kaempferol	Flavones	
						285.039 7、	3-arabinofuranoside		
						417.082 8			
21	10.55	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	[M+H] ⁺	299.091 3	-0.19	299.091 2	芹菜素	黄酮	0.11
							二甲醚	Flavones	
							7,4'-Di- <i>O</i> -methylapi genin		
22	5.24	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	[M+H] ⁺	419.097 1	-0.43	73.029 0、	山柰酚-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -吡	黄酮	0.11
						287.054 7	喃阿拉伯糖苷	Flavones	
							Kaempferol		
							3- α - <i>L</i> -arabinopy ranoside		

23	4.97	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	433.079 1	3.31	119.049 3、 151.002 9、 193.013 6、 271.061 1、 313.072 0、 343.082 5	槲皮素-3-O-β-D-木 糖苷 Reynoutrin	黄酮 Flavones	0.10
----	------	---	--------------------	-----------	------	---	-----------------------------------	----------------	------

表 3 头花蓼叶中黄酮类化合物鉴定

Table 3 The identification of flavonoids in the leaves of *P. capitatum*

编号 No.	保留时间 Retention time (min)	分子式 Molecular formula	离子模式 Ion mode	实测值 Metered value (<i>m/z</i>)	误差 Error (×10 ⁻⁶)	二级 碎片离子 Secondary fragment ions (<i>m/z</i>)	化合物 Compound	结构类型 Structural type	峰面积比值 Peak area ratio (%)
1	5.13	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	895.195 1	1.35	300.026 9、 301.035 0、 447.093 4	槲皮苷 二聚体 Quercitrin	黄酮 Flavones	29.94
2	5.11	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M+H] ⁺	303.049 7	-0.6	303.049 7	粘毛黄芩素 I Viscidulin I	黄酮醇 Flavonols	3.96
3	4.86	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+H] ⁺	465.102 8	0	71.049 8、 85.028 9、 129.054 7、 303.050 5、 319.044 8	异槲皮苷 Isoquercitrin	黄酮醇 Flavonols	3.13
4	5.95	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	301.035 3	-0.16	151.002 7、 165.018 5、 178.998 0、 301.035 4	桑色素 Morin	黄酮醇 Flavonols	1.27
5	4.89	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M+Na] ⁺	487.084 7	-0.08	341.026 7、	杨梅苷	黄酮醇	1.17

						487.084 8	Myricitrin	Flavonols	
6	4.86	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₅	[M-H ₂ O-H] ⁻	531.075 7	-4.17	300.027 0、 316.022 3、 463.088 7	槲皮素-3- <i>O</i> - (6"- <i>O</i> - 丙二酰基)- β - <i>D</i> -葡萄 糖苷	黄酮醇 Flavonols	0.66
							Quercetin 3- <i>O</i> -malonylglucoside		
7	4.97	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	[M+H] ⁺	435.092 2	0.04	73.029 0、 303.049 8	槲皮素-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -木 糖苷	黄酮 Flavones	0.52
							Reynoutrin		
8	4.17	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	[M+H-H ₂ O] ⁺	291.086 2	-0.3	123.044 4、 139.039 1、 147.044 1、 165.054 9、 207.065 2、 291.085 8	儿茶素 Catechin	黄烷醇 Flavanols	0.51
9	5	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	433.077 7	0.18	271.024 5、 300.027 6、 301.034 9、 433.077 6	海波拉亭 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> - 吡喃木糖苷 Hypoletin-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> - -xylopyranoside	黄酮 Flavones	0.48
10	4.06	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	[M-H] ⁻	577.135 4	0.4	137.023 0、 161.024 0、 245.081 1、 287.055 7、 289.072 2、 299.055 2、 407.076 8、 425.089 1、 451.104 3、 577.135 4	原花青素 B4 Procyanidin B4	原花青素 Procyanid ins	0.34

11	4.94	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M+H] ⁺	595.165 9	0.33	85.029 0、 287.055 1、 449.107 5	山柰酚-3- <i>O</i> - 芸香糖苷 Nicotiflorin	黄酮 Flavones	0.23
12	5.13	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M+H] ⁺	595.165 6	-0.18	147.065 7、 163.059 8、 239.091 3、 275.112 8、 287.055 0、 303.049 8、 345.058 8、 413.085 4、 449.107 9、 595.155 4	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖 鼠李糖苷 Ternatumoside II	黄酮醇 Flavonols	0.21
13	4.94	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	593.151 7	0.81	255.029 8、 284.032 7、 285.040 3、 593.151 6	山柰酚 3- <i>O</i> - 洋槐糖苷 Biorobin	黄酮醇 Flavonols	0.20
14	4.87	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	[M-H] ⁻	615.099 6	0.68	151.002 8、 178.997 9、 301.035 3、 615.100 0	槲皮素 3- <i>O</i> - (6"-没食 子酰基) - β - <i>D</i> - 葡萄糖苷 Quercetin 3- <i>O</i> (6"-galloyl) - β - <i>D</i> -glucopyranos ide	黄酮醇 Flavonols	0.15
15	5.41	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	[M-H ₂ O-H] ⁻	499.086 2	-3.84	284.032 9、 285.040 4、 431.098 7、 499.086 7	芹菜素 7- <i>O</i> - (6"- <i>O</i> - 丙二酸单酰) - β - <i>D</i> - 葡萄糖苷 Apigenin-7- <i>O</i> -6"-mal onylglucoside	黄酮 Flavones	0.12

注：化合物峰面积的比值=（该化合物峰面积/样本中所有化合物峰面积之和）×100%。

Note: Peak area ratio of the compound = (the compound peak area /the sum of all compounds peak area in sample) × 100%.

2.3 头花蓼茎、花、叶中黄酮类化合物相对含量的比较

如前所述，头花蓼茎、花、叶中黄酮类化合物分布最丰富。在峰面积比值大于 0.1% 的黄酮类化合物中，头花蓼茎含有 12 个黄酮类化合物，其中槲皮苷、槲皮素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、儿茶素、2"-O-没食子酰基金丝桃苷和原花青素 B4 在茎中峰面积的比值大于 1% (见表 1)；头花蓼花中含有 23 个黄酮类化合物，其中槲皮苷、金丝桃苷、槲皮素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、6-羟基木犀草素和槲皮素-3-O-葡萄糖醛酸苷在花中峰面积的比值大于 1% (见表 2)；头花蓼叶中含有 15 个黄酮类化合物，其中槲皮苷、粘毛黄芩素 I、异槲皮苷、桑色素和杨梅苷在叶中峰面积的比值大于 1% (见表 3)。图 4 结果表明，头花蓼茎、花及叶中黄酮类化合物分布的含量达 58.41%~86.73%，其中叶中分布含量最高；酚类及萜类化合物分布含量较接近；糖及糖苷类化合物分布含量在花与茎中差别不明显。这些数据结果提示头花蓼茎、花及叶黄酮类化合物种类和含量的差异可导致临床疗效的不同。因此就治疗淋球菌感染而言，将头花蓼茎、花及叶中峰面积比值大于 0.1% 的黄酮类化合物进行网络药理学与分子对接比较分析。

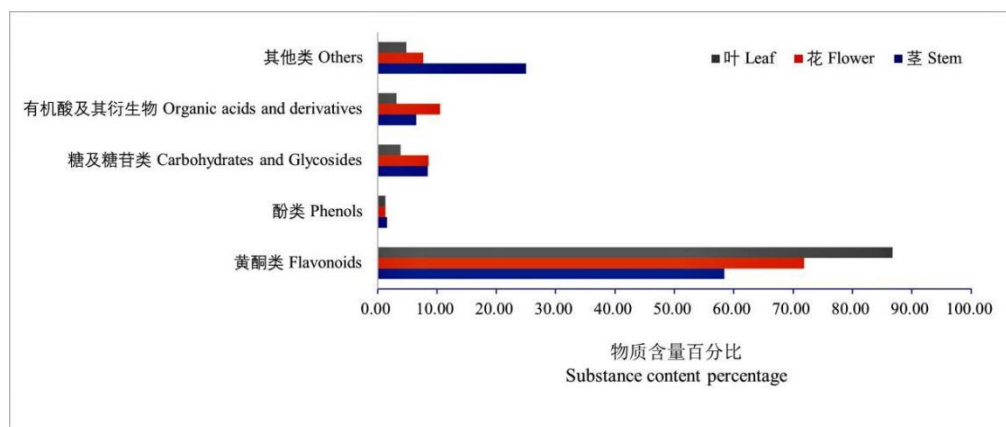


图 4 头花蓼茎、花、叶样本中化合物含量分布图

Fig.4 The statistical graph of the content of compounds in the stem, flower and leaf samples of *P. capitatum*

2.4 头花蓼不同入药部位-黄酮类成分-淋球菌感染靶点网络分析

在 OMIM 和人类基因数据库中检索与淋球菌感染相关的靶点共 161 个。分别绘制头花蓼茎黄酮类成分 165 个靶点、花黄酮类成分 233 个靶点及叶黄酮类成分 166 个靶点与淋球菌感染靶点的维恩图后得到头花蓼茎黄酮类成分与淋球菌感染的交集靶点 10 个，头花蓼花黄酮类成分与淋球菌感染的交集靶点 13 个，头花蓼叶黄酮类成分与淋球菌感染的交集靶点 10

个（见图 5）。

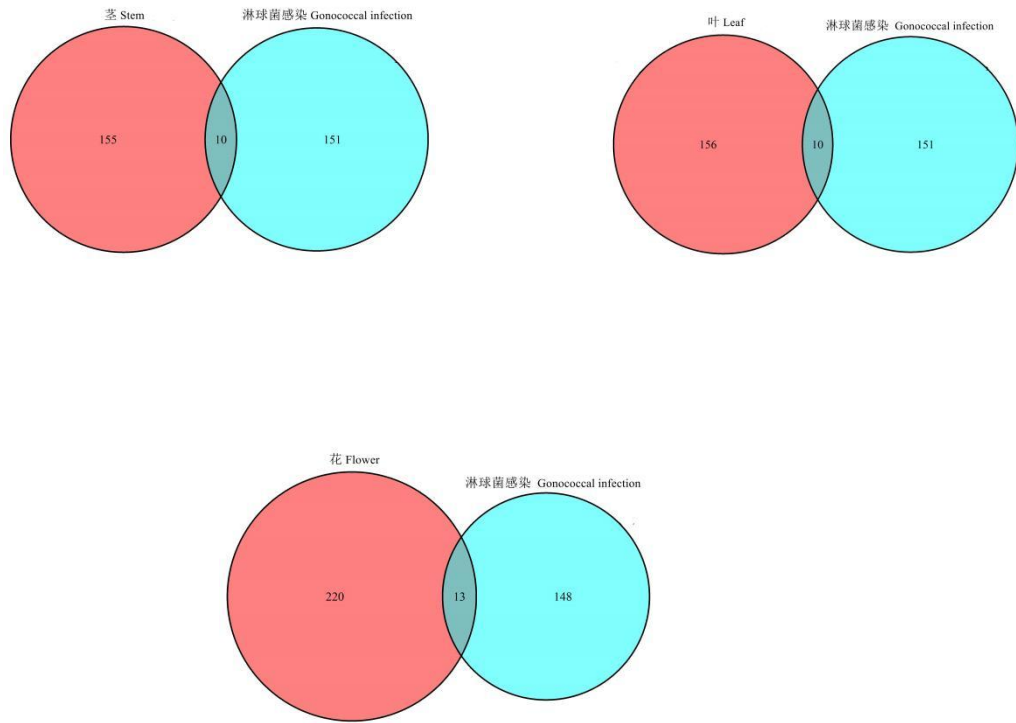


图 5 头花蓼茎、花及叶黄酮类成分治疗淋球菌感染交集靶点韦恩图

Fig.5 The venn graph of the targets of flavonoids treating gonococcal infection in the stems, flowers and leaves of *P. capitatum*

由 Cytoscape v3.9.1 软件构建“头花蓼茎、花、叶-黄酮类成分-淋球菌感染靶点”网络图（见图 6）。图 6 显示，头花蓼茎-黄酮类成分-淋球菌感染靶点网络包括 24 个节点，102 条相互作用关系；头花蓼花-黄酮类成分-淋球菌感染靶点网络包括 37 个节点，161 条相互作用关系；头花蓼叶-黄酮类成分-淋球菌感染靶点网络包括 27 个节点，90 条相互作用关系。其中，菱形表示淋球菌感染，椭圆形表示黄酮类成分，三角形表示头花蓼茎，V 字形表示头花蓼叶，平行四边形表示头花蓼花，长方形表示头花蓼入药部位治疗淋球菌感染靶点，连线表示头花蓼入药部位、黄酮类成分、淋球菌感染靶点之间的相互作用关系。

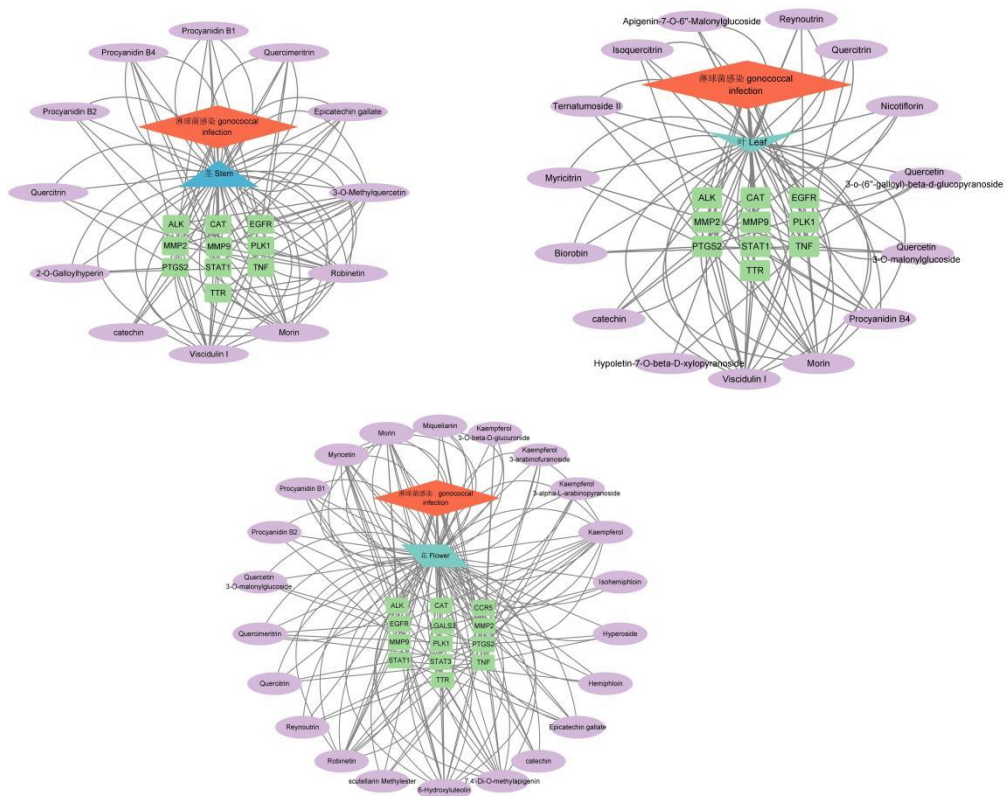


图 6 头花蓼茎、花及叶黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点网络图

Fig.6 The target-network graph of flavonoids treating gonococcal infection in the stems, flowers and leaves of

P. capitatum

分别将头花蓼茎、花及叶黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点导入 String 数据库，构建 PPI 网络图，并将“TSV”文件经 R 语言脚本分析其 degree 值，从而判断其核心靶点。图 7 显示，头花蓼茎黄酮类成分与淋球菌感染的交集靶点中 degree 值大于 10 的关键靶点为 EGFR、TNF- α 、MMP-2、MMP-9、PTGS2 和 STAT1；头花蓼花黄酮类成分与淋球菌感染的交集靶点中 degree 值大于 14 的关键靶点为 EGFR、STAT3、TNF- α 、MMP-9、MMP-2、PTGS2 和 STAT1；头花蓼叶黄酮类成分与淋球菌感染的交集靶点中 degree 值大于 10 的关键靶点为 EGFR、TNF- α 、MMP-2、MMP-9、PTGS2 和 STAT1。由此可见，头花蓼茎、花及叶黄酮类成分与淋球菌感染共同的关键靶点为 EGFR、TNF- α 、MMP-2、MMP-9 和 PTGS2。

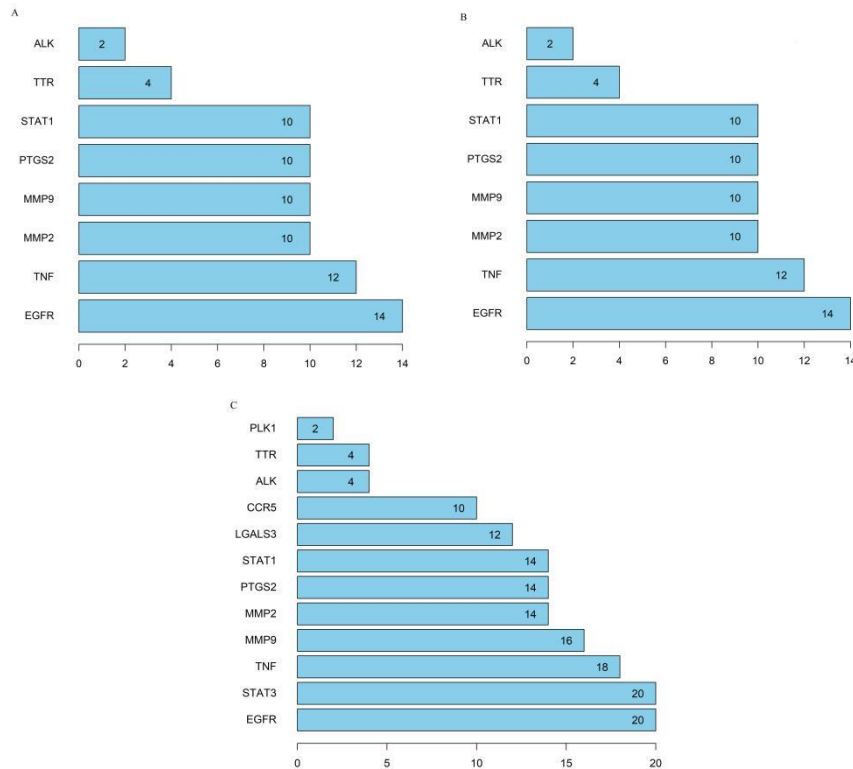


图7 头花蓼茎 (A)、叶 (B) 及花 (C) 黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点相互作用关系柱状图

Fig. 7 The histogram of interactive relationship of the targets of flavonoids treating gonococcal infection in the stems (A), leaves(B) and flowers(C) of *P. capitatum*

2.5 头花蓼茎、花、叶黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点的功能富集分析

头花蓼茎黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点 GO 功能富集分析结果显示，GO 富集分析产生了 41 条生物学过程，其中肿瘤坏死因子受体结合、蛋白酪氨酸激酶活化剂活性、肿瘤坏死因子受体亚家族结合、过氧化酶活性、氧化还原酶活性等生物学过程富集最显著（见表 4）。KEGG 通路富集分析结果表明，共富集信号通路 29 条，其中膀胱癌、癌症蛋白多糖等信号通路富集最显著（见表 5）。

头花蓼叶黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点 GO 功能富集分析结果显示，GO 富集分析产生 41 条生物学过程，其中肿瘤坏死因子受体结合、蛋白酪氨酸激酶活化剂活性、肿瘤坏死因子受体亚家族结合、过氧酶活性、氧化还原酶活性等生物学过程富集最显著（见表 4）。KEGG 通路富集分析结果表明，共富集信号通路 29 条，其中膀胱癌、癌症蛋白多糖等信号通路富集最显著（见表 5）。

头花蓼花黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点 GO 功能富集分析结果显示，GO 富集分析产生了 43 条生物学过程，其中蛋白磷酸酶结合、磷酸酶结合、肿瘤坏死因子受体结合、蛋白酪氨酸激酶活化剂活性、肿瘤坏死因子受体亚家族结合等生物学过程富集最显著（见表 4）。

KEGG 通路富集分析结果表明，共富集信号通路 44 条，其中癌症蛋白多糖信号通路富集最显著（见表 5）。综上，头花蓼茎、花及叶黄酮类成分共同富集最显著的 KEGG 通路为癌症蛋白多糖，涉及靶点为 TNF- α 、EGFR、MMP-2 和 MMP-9。

表 4 头花蓼茎、花及叶黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点 GO 功能显著富集分析

Table 4 The analysis of GO functional significant enrichment of the targets of flavonoids treating gonococcal infection in the stems, flowers and leaves of *P. capitatum*

入药部位 Medicinal part	显著富集 GO 功能描述 Significant enrichment GO description	富集 P 值 Enrichment P value	富集基因名称 Enrichment gene symbol	
茎 Stem	肿瘤坏死因子受体结合 Tumor necrosis factor receptor binding	0.000 1	TNF、STAT1	
	蛋白酪氨酸激酶活化剂活性 Protein tyrosine kinase activator activity	0.000 1	EGFR、ALK	
	肿瘤坏死因子受体亚家族结合 Tumor necrosis factor receptor superfamily binding	0.000 3	TNF、STAT1	
	过氧酶活性 peroxidase activity	0.000 4	PTGS2、CAT	
	氧化还原酶活性 Oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor	0.000 4	PTGS2、CAT	
	叶 Leaf	肿瘤坏死因子受体结合 Tumor necrosis factor receptor binding	0.000 1	TNF、STAT1
		蛋白酪氨酸激酶活化剂活性 Protein tyrosine kinase activator activity	0.000 1	ALK、EGFR
肿瘤坏死因子受体亚家族结合 Tumor necrosis factor receptor superfamily binding		0.000 3	TNF、STAT1	
过氧酶活性 peroxidase activity		0.000 4	PTGS2、CAT	
氧化还原酶活性 Oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor		0.000 4	PTGS2、CAT	
花 Flower		蛋白磷酸酶结合 protein phosphatase binding	<0.000 1	EGFR、STAT1、 STAT3、LGALS3

磷酸酶结合 Phosphatase binding	<0.000 1	EGFR、STAT1、 STAT3、LGALS3
肿瘤坏死因子受体结合 Tumor necrosis factor receptor binding	0.000 2	TNF、STAT1
蛋白酪氨酸激酶活化剂活性 Protein tyrosine kinase activator activity	0.000 2	EGFR、ALK
肿瘤坏死因子受体亚家族结合 Tumor necrosis factor receptor superfamily binding	0.000 5	TNF、STAT1

表 5 头花蓼茎、花及叶黄酮类成分治疗淋球菌感染靶点 KEGG 通路显著富集分析

Table 5 The analysis of KEGG pathway significant enrichment of the targets of flavonoids treating gonococcal infection in the stems, flowers and leaves of *P. capitatum*

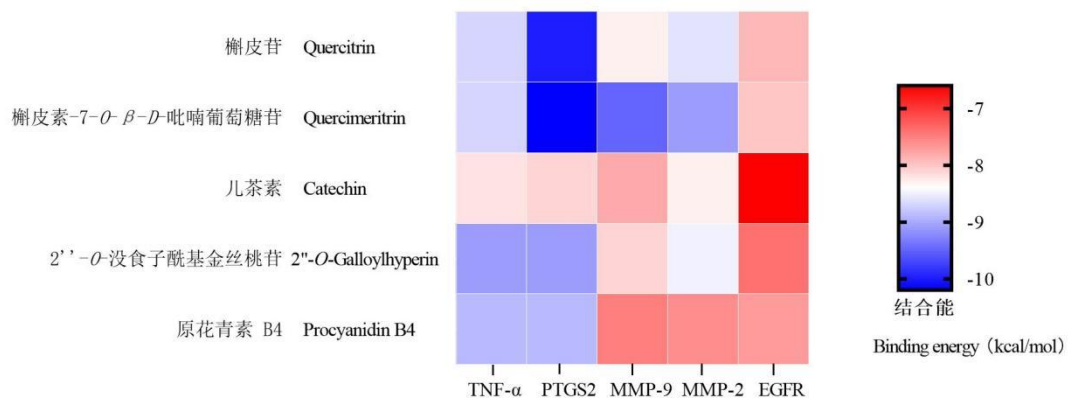
入药部位 Medicinal part	显著富集 KEGG 通路描述 Significant enrichment KEGG pathway description	富集 P 值 Enrichment P value	富集基因名称 Enrichment gene symbol
茎 Stem	膀胱癌 Bladder cancer	<0.000 1	EGFR、MMP9、 MMP2
	癌症蛋白多糖 Proteoglycans in cancer	<0.000 1	TNF、EGFR、 MMP9、MMP2
	利什曼病 Leishmaniasis	<0.000 1	PTGS2、TNF、STAT1
	癌症 PD-L1 表达及 PD-1 核查点通路 PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	0.000 1	EGFR、ALK、STAT1
	IL-17 信号通路 IL-17 signaling pathway	0.000 1	PTGS2、TNF、MMP9
叶 Leaf	膀胱癌 Bladder cancer	<0.000 1	MMP9、MMP2、 EGFR
	癌症蛋白多糖 Proteoglycans in cancer	<0.000 1	TNF、MMP9、 MMP2、EGFR
	利什曼病 Leishmaniasis	<0.000 1	PTGS2、TNF、STAT1
	癌症 PD-L1 表达及 PD-1 核查点通路 PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	0.000 1	ALK、EGFR、STAT1

	IL-17 信号通路 IL-17 signaling pathway	0.000 1	PTGS2、TNF、MMP9
花 Flower	癌症蛋白多糖 Proteoglycans in cancer	0.000 3	TNF、EGFR、MMP9、 MMP2、STAT3
	癌症 PD-L1 表达及 PD-1 核查点通路 PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer	0.000 3	EGFR、ALK、 STAT1、STAT3
	糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	0.000 3	TNF、MMP2、 STAT1、STAT3
	人类巨细胞病毒感染 Human cytomegalovirus infection	0.000 3	PTGS2、TNF、EGFR、 CCR5、STAT3
	弓形体病 Toxoplasmosis	0.000 3	TNF、STAT1、 CCR5、STAT3

2.6 头花蓼黄酮类核心活性成分与关键靶点分子对接

将峰面积比值大于 1% 的头花蓼茎、花及叶黄酮活性成分与关键靶点进行分子对接（见图 8）。一般来说，结合能越小，对接的构象越稳定；结合能 < -5.0 kcal/mol 表示药物与靶点之间有较好的结合活性。分子对接结果表明（图 8），各组结合能均小于 -5.0 kcal/mol，表明头花蓼核心黄酮类成分与关键靶点有较好的结合活性。其中，槲皮苷、槲皮素-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷、杨梅苷分别与 PTGS2 对接的结合能最低，提示对接的构象较稳定。因此，选取结合能 ≤ -10.0 kcal/mol 的对接结果进行可视化展示（见图 9）。

A



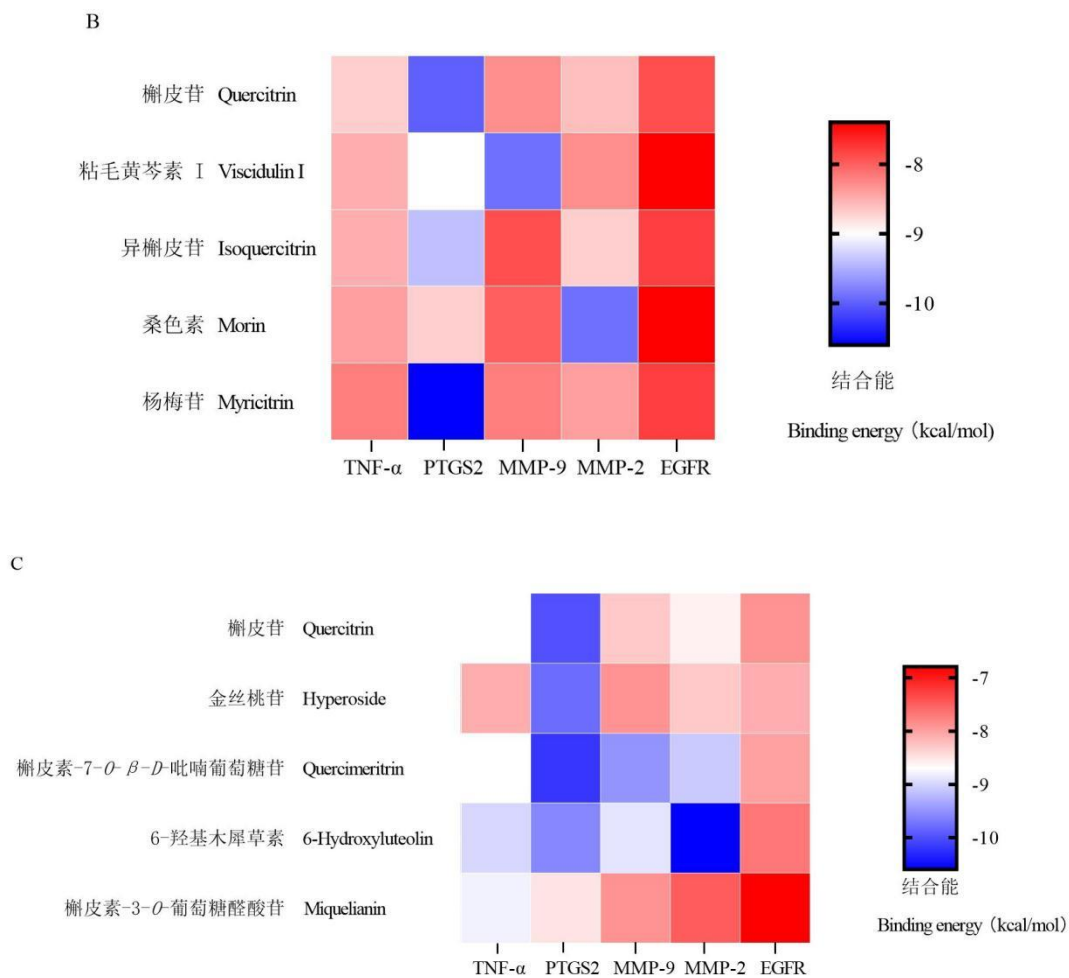


图 8 头花蓼茎 (A)、叶 (B) 及花 (C) 关键黄酮活性成分与关键靶点对接结合能热图

Fig.8 The heatmap of binding energy of molecular docking between key targets and major active flavonoids in the stems(A), leaves(B) and flowers(C) of *P. capitatum*

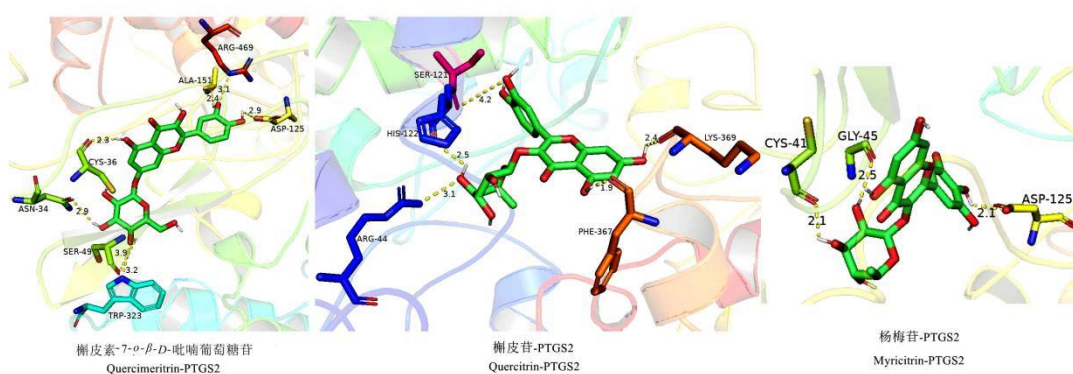


图 9 头花蓼不同入药部位核心活性成分与关键靶点对接模式图

Fig.9 The mode graph of molecular docking between key targets and nuclear active ingredients in different parts of *P. capitatum*

3 讨论与结论

自古至今，入药部位不同，乃至功效不同之中药已广泛应用于临床之中。比如，明代李时珍《本草纲目》有述“麻黄发汗之气，驶不能御，而根节止汗”“麻黄根止汗效如神”等，可见麻黄与麻黄根功效的不同之处^[15]。从金元四大家之一李东恒所著《脾胃论》至李时珍《本草纲目》，当归不同入药部位，其功效不同已被广泛文献记载^[16]。这些论断说明，不同入药部位中药功效的差异，主要在于活性成分的不同。课题组首次采用转录组测序与代谢组学技术研究当归头与当归尾，发现了当归头与尾明显存在差异表达基因，并与阿魏酸代谢途径相关^[16]。基于贵州著名民族药头花蓼富含黄酮类成分，其不同入药部位黄酮类成分的含量差异将导致功效的不同，因此采用网络药理学与分子对接研究头花蓼不同入药部位黄酮类成分治疗淋球菌感染的作用机制。

头花蓼成分种类繁多，结构复杂，含量不一，代谢途径交错复杂，充分利用高通量、高灵敏度和高分辨率的 UPLC-Q-Orbitrap-HRMS 鉴定头花蓼茎、花及叶样本中的化合物，发现头花蓼茎、花、叶样本中黄酮类化合物含量丰富，均高于其他结构类型的化合物。尤其是在峰面积比值大于 1% 的黄酮类化合物中，头花蓼茎 5 种黄酮类化合物中 2 种为黄酮结构物质，头花蓼花 5 种黄酮类化合物中 4 种为黄酮结构物质，头花蓼叶 5 种黄酮类化合物中 1 种为黄酮结构物质，三组均含有槲皮苷黄酮结构物质。研究结果表明，槲皮苷在头花蓼茎、花及叶中的相对含量明显高于其他黄酮类化合物。多项研究表明，槲皮苷是一种广泛存在于植物中的黄酮单体化合物，具有抗炎抗菌、抗氧化、抗肿瘤、降血糖、降血脂等多种药理作用，可用于治疗尿道感染^[17, 18]。

根据 PPI 网络分析结果可知，TNF- α 、PTGS2、MMP-9、MMP-2 和 EGFR 是头花蓼茎、花及叶黄酮类成分与淋球菌感染的共有关键靶点。淋球菌是一种革兰氏阴性双球菌，通过感染尿道上皮细胞，诱导 TNF- α 、IL-6 等炎性细胞因子分泌^[19]。TNF- α 主要源于活化的巨噬细胞和淋巴细胞，与靶器官 TNF-R1 和 TNF-R2 结合，传递信号，激活多种炎症反应^[19]。PTGS2 是前列腺素合成酶 2，淋球菌所触发的尿道上皮细胞 PTGS2 的表达，可抑制程序性细胞死亡，并激活磷脂酰肌醇 3-激酶/Akt 信号通路^[20]。同时，PTGS2 的过表达也依赖于 NF- κ B 的激活，以促进炎性细胞因子和抗凋亡基因的转录^[21]。MMPs 为基质金属蛋白酶，属于锌指依赖的内肽酶家族成员，能引起细胞外基质重构，进而导致诸多疾病的发生。淋球菌感染能改变输卵管上皮细胞 MMP-9 和 MMP-2 的表达方式^[22]。MMP-2 和 MMP-9 的过表达能引起异常细胞外基质降解和炎症反应，导致淋球菌在生殖道和尿道内的播散性扩散^[22]。EGFR 是构成酪氨酸激酶受体 ErbB 家族四成员之一的一种跨膜糖蛋白^[23]。EGFR 的激活将导致受体酪

氨酸激酶的自身磷酸化,启动下游信号通路的级联反应,涉及细胞增殖、分化等过程的调控。Swanson 等研究表明^[23],通过阻止基质金属蛋白酶的激活,且能抑制淋球菌所诱发的生殖道上皮细胞 EGFR 的反式激活,进而减少淋球菌的侵入。

进一步 KEGG 通路富集分析发现,头花蓼茎、花及叶治疗淋球菌感染靶点富集最显著的通路为癌症蛋白多糖。此通路富集涉及的靶点为 EGFR、TNF- α 、MMP-2 和 MMP-9,与 PPI 网络核心靶点结果相一致。此外,还涉及 IL-17 信号通路、TNF 信号通路等炎症反应通路。研究表明,TLRs 是被病原体激活的一种膜受体,于 1999 年首次在巨噬细胞和树突细胞上被发现。据发现,TLR2/4 可介导淋球菌所诱导的子宫内膜炎;通过下调子宫内膜上皮细胞 TLR2/4 的表达,可抑制 NF- κ B 信号通路,减少 TNF- α 、IL-6、IL-8、PGE₂ 等炎症细胞因子的产生,有助于缓解淋球菌所诱发的子宫内膜炎症^[24]。炎症反应是发生淋球菌感染的主要病因之一。经分子对接结果表明,头花蓼茎、花及叶中峰面积比值大于 1% 的黄酮类活性成分与核心靶点对接的结合能均低于 -5 kcal/mol,对接构象较稳定,提示头花蓼茎、花及叶中黄酮类活性成分通过作用于核心靶点而达到治疗淋球菌感染的目的。

此外,从头花蓼茎、花及叶化合物分布相对含量角度进行分析,黄酮类化合物分布含量差异较明显,有机酸及衍生物分布含量差异明显,酚类、萜类化合物分布含量较接近,糖及糖苷类化合物分布含量在花与茎中差别不明显,因此头花蓼不同入药部位功效差异主要是由于黄酮类化合物及有机酸化合物所致。

综上,本研究首次确定了头花蓼黄酮类化合物种类分布最高的部位为花,头花蓼黄酮类化合物含量分布最高的部位为叶。通过网络药理学与分子对接对比了头花蓼茎、花和叶黄酮类成分治疗淋球菌感染作用机制的异同,尤其是头花蓼茎、花及叶中峰面积比值大于 1% 的黄酮类成分与 PPI 网络共有核心靶点结合的比较,但后续还需通过动物实验和分子生物学实验进行进一步验证。

参考文献

- 1 Zhen CS. Research on the effects of estradiol on the mouse splenic mononuclear cell gonorrhea infection model based on JAK/STAT signal pathway[D]. Guangzhou: Southern Medical University(南方医科大学), 2023.
- 2 Shaughnessy J, Ram S, Rice PA. Biology of the gonococcus: disease and pathogenesis[J]. Methods Mol Biol, 2019, 1997: 1-27.
- 3 Quillin SJ, Seifert HS. Neisseria gonorrhoeae host adaptation and pathogenesis[J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16: 226-240.
- 4 Zeng XF, Liu C, Yang XY, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and clinical

- applications of *Polygonum capitatum* and prediction analysis on potential Q-Marker[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2023,54:3378-3390.
- 5 Yuan Y,Yang Y,Yan JY,et al.Mechanism of *Polygonum capitatum* in treatment of *Helicobacter pylori* associated gastritis by network pharmacology,microarray data analysis and molecular docking[J].Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报),2023,39:961-969.
 - 6 Song XH,Zhang S,Huang J,et al.Study on the therapeutic mechanism of quercetin,galllic acid,and quercitrin in *Polygonum capitatum* on *Helicobacter pylori* gastritis and gastric cancer based on network pharmacology[J].Anhui Med Pharma J(安徽医药),2023,27:2131-2134.
 - 7 Zhang LY,Lin CX,Tang JL,et al.Study on effective sites of anti-gonococcus in *Polygonum capitatum* extract[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2019,50:436-440.
 - 8 Huang Y,Zhou Z,Yang W,et al.Comparative pharmacokinetics of gallic acid,protocatechuic acid,and quercitrin in normal and pyelonephritis rats after oral administration of a *Polygonum capitatum* extract[J].Molecules,2019,24:3873.
 - 9 Liu Y,Hu J,Xie YM,et al.Determination of seven components in *Polygonum capitatum* by UPLC-MRM-MS[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2015,27:73-76.
 - 10 Zuo AP,Long HX.The research of quercetin content in different parts of *Polygonum capitatum*[J].Inter Med Chin(内科),2010,5:258-259.
 - 11 Yang J,Zhang Y,Li W H,et al.Assessment of the anti-rheumatoid arthritis activity of *Gastrodia elata*(Tian-ma) and Radix Aconitic Lateralis Preparata(Fu-zi) via network pharmacology and untargeted metabolomics analyses[J].Int J Rheum Dis,2021,24:380-390.
 - 12 Yu XY,Zhang LY,Xie Y,et al.Principal component analysis to determine optimal harvesting time of *Polygonum capitatum* and initial processing method[J].Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2013,19:90-92.
 - 13 Liu MM,Li ZY,Cui QH,et al.Integrated serum pharmacochemistry and investigation of the anti-influenza A virus pneumonia effect of Qingjin Huatan decoction[J].J Ethnopharmacol,2024,323:117701.
 - 14 Zhao YK,Huang DD,Wang X,et al.Quality standard of *Polygonum capitatum*[J].Chin Tradit Pat Med(中成药),2020,42:408-415.
 - 15 Jiang S.The biological synthesis and molecular regulatory mechanisms of the differential metabolites in the "homologous heterogeneous" parts of *Ephedra sinica*[D].Jinzhong:Shanxi University(山西大学),2023.
 - 16 Yang J,Zhang C,Li W H,et al.Comprehensive analysis of transcriptomics and metabolomics between the

heads and tails of *Angelica sinensis*: genes related to phenylpropanoid biosynthesis pathway[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2021, 24: 1417-1427.

- 17 Li D Y, Yue L X, Wang S G, et al. Quercitrin restrains the growth and invasion of lung adenocarcinoma cells by regulating gap junction protein beta 2[J]. Bioengineered, 2022, 13: 6126-6135.
- 18 Predes D, Maia LA, Matias I, et al. The flavonol quercitrin hinders GSK3 activity and potentiates the Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23: 12078.
- 19 Placzkiewicz J, Adamczyk-Poplawska M, Kozłowska E, et al. Both *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria sicca* induce cytokine secretion by infected human cells, but only *Neisseria gonorrhoeae* upregulates the expression of long non-coding RNAs[J]. Pathogens, 2022, 11: 394.
- 20 Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, et al. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents[J]. Rheumatology (Oxford), 2010, 49: 1215-1228.
- 21 Binnicker MJ, Williams RD, Apicella MA. Gonococcal porin IB activates NF-kappa B in human urethral epithelium and increases the expression of host antiapoptotic factors[J]. Infect Immun, 2004, 72: 6408-6417.
- 22 Rodas P I, Perez D, Jauffret C, et al. Modified profile of matrix metalloproteinase 2 and 9 production by human fallopian tube epithelial cells after infection *in vitro* with *Neisseria gonorrhoeae*[J]. J Infect Dis, 2017, 215: 452-455.
- 23 Swanson KV, Griffiss JM, Edwards VL, et al. *Neisseria gonorrhoeae* induced transactivation of EGFR enhances gonococcal invasion[J]. Cell Microbiol, 2011, 13: 1078-1090.
- 24 Yang Y, Liu S, Liu J, et al. Inhibition of TLR2/TLR4 alleviates the *Neisseria gonorrhoeae* infection damage in human endometrial epithelial cells via Nrf2 and NF-K beta signaling[J]. J Reprod Immunol, 2020, 142: 103192.

收稿日期: 2024-05-07 接受日期:

基金项目: 贵州省基础研究计划资助项目(黔科合基础-ZK[2023]一般003); 毕节市科技创新平台及人才团队(毕科合(2023)66号)

*通信作者 Tel: 13368158615; E-mail: zy10511@126.com