

基于 UPLC-MS/MS 和网络药理学分析经典名方广枣三味汤治疗冠心病的药效物质和质量标志物 (Q-Marker)

程友斌¹, 吴悦晗笑², 王 颖², 姜 李², 刘 龙², 喻 晶², 马善鹏², 高 珣²

1. 江苏联合职业技术学院 连云港中医药分院, 江苏 连云港 222000

2. 江苏海洋大学 江苏省海洋药物和现代中药创制重点实验室, 江苏 连云港 222000

摘要:目的 基于 UPLC-MS/MS 技术分析鉴定经典名方广枣三味汤的化学成分, 结合网络药理学预测其治疗冠心病 (CHD) 的质量标志物 (Q-Marker), 并建立相应含量测定方法。方法 采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS/MS 技术解析广枣三味汤的化学成分; 通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 预测化学成分对应靶点, 借助 PubChem 数据库获取 CHD 相关靶点, 利用 STRING 及 DAVID 数据库进行核心靶点与相关通路分析, 最终通过 Cytoscape 3.10.1 构建“中药复方-成分-靶点-疾病”网络, 依据度值筛选功效成分; 结合 Q-Marker “五原则” 预测潜在 Q-Marker, 并建立多指标 HPLC 含量测定方法。结果 经自建数据库匹配与对照品比对, 从广枣三味汤中鉴定出 76 个化学成分, 包括黄酮类 26 个、有机酸类 15 个、生物碱类 8 个、香豆素类 6 个、萜类 4 个及其他类化合物 17 个。网络药理学分析显示, 广枣三味汤的功效成分以黄酮类、生物碱类及有机酸类为主, 主要作用于甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、肿瘤坏死因子 (TNF)、B 细胞淋巴瘤-2 蛋白 (BCL2)、雌激素受体 1 (ESR1)、环氧合酶-2 (PTGS2) 等核心靶点, 通过调控磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 等信号通路发挥抗 CHD 作用。筛选苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸及芦丁为潜在 Q-Marker, 所建立的多指标 HPLC 含量测定方法准确简便。结论 初步明确了广枣三味汤治疗 CHD 的药效物质基础, 筛选出潜在 Q-Marker, 为该方剂的临床合理应用及质量控制提供科学依据。

关键词: 广枣三味汤; UPLC-MS/MS; 网络药理学; 药效物质; 质量标志物; 苦参碱; 槐定碱; 没食子酸; 香草酸; 芦丁
中图分类号: R289.1; R291.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)02-0497-15

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.02.011

Analysis of pharmacodynamic substances and quality markers of classic formula Guangzao Sanwei Decoction in treating coronary heart disease based on UPLC-MS/MS and network pharmacology

CHENG Youbin¹, WU Yuehanxiao², WANG Ying², JIANG Li², LIU Long², YU Jing², MA Shanpeng², GAO Xun²

1. Lianyungang Traditional Chinese Medicine Branch of Jiangsu United Vocational and Technical College, Lianyungang 222000, China

2. School of Pharmacy, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222000, China

Abstract: Objective To analyze and identify the chemical components of the classic prescription Guangzao Sanwei Decoction based on UPLC-MS/MS technology, predict its quality markers (Q-Markers) for the treatment of coronary heart disease (CHD) using network pharmacology, and establish a corresponding content determination method. **Methods** The chemical components of Guangzao Sanwei Decoction were analyzed using UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS/MS technology. The corresponding targets of the chemical components were predicted through the traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP), and the CHD-related targets were obtained from the PubChem database. The core targets and related pathways were analyzed using the STRING and DAVID databases, and a “Chinese herbal formula-component-target-disease” network was constructed using Cytoscape 3.10.1. The effective components were screened based on the degree value. Potential Q-Markers were predicted in combination with the “five principles” of Q-Markers, and a multi-index HPLC content determination method was established. **Results**

收稿日期: 2025-11-10

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (82104349; 82374038); 江苏省中医药科技发展计划面上项目 (MS2023179)

作者简介: 程友斌 (1974—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向为中药质量控制与产品开发。E-mail: 530508207@qq.com

Through self-built database matching and comparison with reference substances, 76 chemical components were identified in Guangzao Sanwei Decoction, including 26 flavonoids, 15 organic acids, eight alkaloids, six coumarins, four terpenoids, and 17 other compounds. Network pharmacology analysis showed that the effective components of Guangzao Sanwei Decoction were mainly flavonoids, alkaloids, and organic acids, which mainly acted on core targets such as glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), tumor necrosis factor (TNF), B-cell lymphoma-2 protein (BCL2), estrogen receptor 1 (ESR1), and cyclooxygenase-2 (PTGS2), and exerted anti-CHD effects by regulating the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathways. Matrine, sophoridine, gallic acid, vanillic acid, and rutin were selected as potential Q-Markers, and the established multi-index HPLC content determination method was accurate and simple. **Conclusion** This study initially clarified the material basis of the therapeutic effect of Guangzao Sanwei Decoction on CHD, screened potential Q-Markers, and provided a scientific basis for the rational clinical application and quality control of this formula.

Key words: Guangzao Sanwei Decoction; UPLC-MS/MS; network pharmacology; pharmacodynamic substances; quality marker; matrine; sophoridine; gallic acid; vanillic acid; rutin

广枣三味汤由广枣、苦参、诃子 3 味药材组成,最早记载于 19 世纪蒙医古籍《秘诀方海》,被广泛应用于心胸疾病的治疗^[1-2]。该方明确主治“血性心刺痛”,在现代医学中多对应于冠心病(CHD)、心绞痛等心血管疾病^[3-4]。现代研究证实,广枣三味汤可显著改善小鼠心肌缺血再灌注损伤^[5];临床数据显示,其不同制剂形式在改善心绞痛症状方面疗效确切,总有效率达 73.33%~86.67%^[6],展现出良好的临床应用潜力。

2023 年,广枣三味汤被正式纳入国家中医药管理局与国家药品监督管理局联合发布的《古代经典名方目录(第二批)》,标志着其在传统医药传承体系中的重要地位,也为该方的现代研究与临床转化应用提供了政策支撑。然而,该方的现代研究目前仍较为薄弱,尤其在药效物质基础与质量标准研究等方面存在显著不足,制约了其进一步开发与应用。网络药理学作为一种整体性研究方法,可系统构建“复方-成分-靶点-通路”多维网络,助力从整体层面阐释中药作用机制,为功效成分筛选提供有效技术手段^[7]。中药质量标志物(Q-Marker)是刘昌孝院士^[8]提出的新概念与新理论,其基于有效性、特有性、质量传递与溯源性、配伍环境及可测性五原则,已成为中药质量控制的核心工具^[9]。

基于此,本研究首先采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS/MS 技术系统分析广枣三味汤的化学成分,借助网络药理学解析其治疗 CHD 的作用机制并筛选功效成分,进一步结合 Q-Marker“五原则”预测其潜在 Q-Marker,最终建立 Q-Marker 多指标 HPLC 含量测定方法。本研究旨在明确广枣三味汤的药效物质基础并筛选潜在 Q-Marker,为其临床应用与质量精准控制提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UPLC-20AD 型高效液相色谱仪,日本岛津公司;MS105DU 型电子分析天平,瑞士梅特勒-托利多公司;DZTW 型调温加热套,上海力辰邦西仪器厂;DFY-200A 型高速万能粉碎机,上海比朗仪器厂;SHZ-D(III)型真空泵,上海羌强实业公司;RE-52AA 型旋转蒸发仪,上海力辰邦西仪器厂;DHG-9080A 型干燥箱,上海博珍仪器厂;Ultimate 3000 型高效液相色谱仪,美国赛默飞公司;Q Exactive Orbitrap™ 质谱仪,美国赛默飞公司;LC-DCY-GP 型氮吹仪,上海力辰邦西仪器厂;5424R 型高速离心机,德国艾本德公司;KQ-300DE 型超声波清洗器,昆山市超声仪器厂;XK-80A 型涡旋仪,江苏莫纳公司。

1.2 试剂和材料

对照品没食子酸(批号 PS000518)、苦参碱(批号 PU0245-0025)、槐定碱(批号 PU0057-0025)、香草酸(批号 PS1367-0100)和芦丁(批号 PU0001-0025),质量分数均≥98%,成都普思生物公司,甲醇、乙腈,色谱纯,上海麦克林公司;磷酸,分析纯,上海麦克林公司;甲酸,分析纯,美国赛默公司;纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司。

广枣、苦参、诃子均自采于云南、广西、河南、山西、内蒙古等产地,具体信息见表 1。实验所用广枣均为漆树科植物南酸枣 *Choerospondias axillaris* (Roxb.) B. L. Burtt & A. W. Hill 的干燥成熟果实,苦参均为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Aiton 的干燥根、诃子均为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 的干燥成熟果实,经江苏海洋大学药学院董自波教授鉴定均为正品。

表 1 广枣三味汤药材产地信息

Table 1 Origin information of Guangzao Sanwei Decoction compatibility medicinal materials

编号	广枣		苦参		诃子	
	批号	产地	批号	产地	批号	产地
S1	240109	云南富宁	240114	山西晋城	230415	云南靖康
S2	230502	广西荔浦	231211	河南洛阳	230415	云南靖康
S3	230516	云南凤庆	231225	山西大同	240222	云南云县
S4	230502	广西荔浦	231112	河南郑州	230415	云南靖康
S5	230516	云南凤庆	231225	山西大同	240222	云南云县
S6	230320	内蒙古包头	YK0003	吉林松原	YD0111	云南怒江州

2 方法与结果

2.1 广枣三味汤的 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS/MS 分析

2.1.1 色谱条件 采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-0.1% 甲酸的乙腈溶液 (B) 梯度洗脱 0~5 min, 5% B; 5~20 min, 5% B→95% B; 20~30 min, 95% B; 30~35 min, 95% B→5% B; 35~40 min, 5% B; 体积流量 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。

2.1.2 质谱条件 正、负离子检测模式, 喷雾电压为正离子模式 3.5 kV, 负离子模式 3.2 kV, 毛细管温度 320 ℃, 探头加热器 350 ℃, 鞘气体积流量 35 Arb, 辅助气体流量 10 Arb, 扫描模式设定为 Full MS-ddMS², 全扫描分辨率 120 000, 扫描范围 *m/z* 100~1 500, 碰撞能量 20~80 eV。

2.1.3 供试品溶液的制备 称取广枣三味汤 (S6) 药材 (广枣 20 g、苦参 10 g、诃子 10 g) 粉碎, 过三号筛。取粗粉, 加入 10 倍量水, 回流提取 90 min, 滤过, 残渣重复提取, 合并滤液, 减压浓缩至适当体积, 冷却至室温后, 加水定容至 250 mL。精密吸取 1 mL 提取液至 10 mL 量瓶, 甲醇定容, 混匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.4 广枣三味汤的化学成分鉴定 广枣三味汤在正、负离子模式下的总离子流图如图 1 所示。为系统鉴定其化学成分, 本研究构建了自建质谱数据库, 具体流程如下: 首先检索中药化学成分数据库 (<https://organchem.csdb.cn/>) 及相关文献, 系统收集广枣、苦参、诃子及同属药材的化学成分信息, 重点整理化合物的中/英文名称、分子式、化学结构、相对分子质量及已报道的质谱数据 (含母离子、特征碎片离子及其可能的加合形式); 对不同文献来源的二级质谱碎片离子信息进行整合与比对, 筛选出多来源共同报道的高丰度特征碎片离子, 形成目标化合物的特征碎片离子集; 将上述化合物信息整理制表后, 借助 CFM-ID、MetFrag 等在线工具对关键化合物的特征碎片离子进行计算机模拟裂解, 验证其裂解途径的化学合理性。实验中少量经对照品验证的化合物, 其质谱行为与数据库信息的良好匹配, 间接证实了自建数据库构建流程的可靠性。

基于该自建数据库, 从广枣三味汤中共鉴定出 76 个化合物, 涵盖 26 个黄酮类、15 个有机酸类、8 个生物碱类、6 个香豆素类、4 个萜类及 17 个其他类化合物, 详细信息见表 2。使用 Xcalibur 4.2 软件对正、负离子模式下各化合物的峰面积进行归一化处理, 计算其相对含量, 结果如图 2 所示: 正离

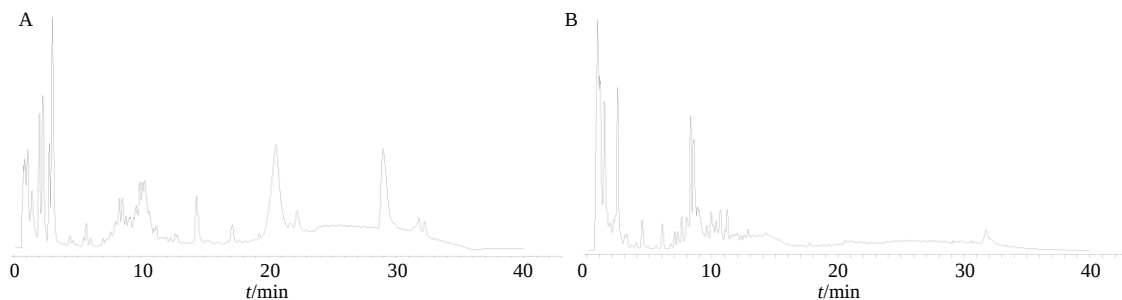


图 1 正离子 (A) 和负离子 (B) 模式下广枣三味汤的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of Guangzao Sanwei Decoction in positive (A) and negative (B) ionization mode

表 2 广枣三味汤的化学成分信息

Table 2 Information on chemical components of Guangzao Sanwei Decoction

序号	化合物	分子式	t/min	m/z		离子模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	类型	来源
				理论值	实测值					
1	甘露醇	C ₆ H ₁₄ O ₆	0.58	181.071 8	181.071 6	N	-0.92	149.045 5、101.024 4	O	Z、K
2	烟酰胺	C ₆ H ₆ N ₂ O	0.72	123.055 2	123.055 2	P	-0.31	96.044 4、80.049 5	O	Z
3	D-(-)-奎宁酸*	C ₇ H ₁₂ O ₆	0.81	191.056 1	191.056 0	N	-0.50	87.008 8、111.008 8、 129.019 4、173.009 6	Or	Z
4	水苏碱	C ₇ H ₁₃ NO ₃	0.84	144.101 9	144.101 7	P	-1.25	84.080 8、102.055 0	Al	Z
5	莽草酸	C ₇ H ₁₀ O ₅	0.87	173.045 6	173.045 5	N	-0.37	83.050 3、93.034 6、 111.088 3、137.024 5	Or	K
6	L-酪氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₃	0.88	182.081 2	182.081 1	N	-0.47	136.075 7、123.044 1	O	Z、S
7	富马酸	C ₄ H ₄ O ₄	0.89	115.003 7	115.003 7	N	-0.16	71.013 8、87.008 8	Or	S、K
8	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	1.06	191.019 8	191.019 7	N	-0.40	111.008 8、87.008 8	Or	Z
9	N-甲基雀花碱	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O	1.07	205.133 6	205.133 4	P	-0.94	108.080 8、146.060 0	Al	S
10	腺苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	1.11	268.104 0	268.103 8	P	-0.67	119.035 0、136.061 7	O	Z
11	没食子酸*	C ₇ H ₆ O ₅	1.16	169.014 2	169.014 1	N	-0.62	107.013 8、125.024 4	Or	Z、S、 K
12	安石榴苷	C ₃₄ H ₂₂ O ₂₂	1.19	783.067 5	783.067 4	N	-0.14	429.024 1、603.004 2	O	K
13	L-苯丙氨酸*	C ₉ H ₁₁ NO ₂	1.42	166.086 2	166.086 0	P	-1.39	103.054 1、120.080 7、 131.048 9、149.059 5	O	Z、 S、K
14	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	1.45	127.039 0	127.038 8	P	-1.31	81.033 5、109.028 4	O	Z
15	苦参碱*	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O	1.57	249.196 2	249.195 9	P	-1.12	148.112 1、176.107 0	Al	S
16	槐定碱	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O	1.57	249.196 2	249.195 9	P	-1.12	112.075 7、218.153 9	Al	S
17	槐果碱*	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O	1.74	247.180 5	247.180 2	P	-1.21	136.111 6、148.112 0、 150.127 8、176.106 9、 245.163 3	Al	S
18	氧化槐果碱*	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₂	2.19	263.175 4	263.175 1	P	-0.99	150.127 7、195.149 2	Al	S
19	氧化苦参碱*	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₂	2.38	265.191 0	265.190 7	P	-1.30	205.133 5、148.112 1	Al	S
20	原儿茶醛	C ₇ H ₆ O ₃	2.96	139.038 9	139.038 6	N	-2.41	93.033 5、111.044 1	Or	Z
21	L-色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	3.25	205.097 2	205.097 5	P	1.58	118.065 1、146.060 0	O	Z
22	没食子酸甲酯	C ₈ H ₈ O ₅	3.8	185.044 5	185.044 3	N	-0.83	107.012 8、126.031 2	Or	Z、K
23	(+)-儿茶素水合物	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	4.14	289.071 7	289.071 6	N	-0.47	125.024 4、109.029 5	Fl	Z
24	儿茶素*	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	4.14	289.071 7	289.071 6	N	-0.47	245.081 9、109.029 5	Fl	Z
25	绿原酸*	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	4.28	353.087 8	353.087 9	N	0.14	161.024 4、191.056 1	Or	Z、 S、K
26	香草酸*	C ₈ H ₈ O ₄	4.78	169.049 6	169.049 4	N	-0.96	125.059 7、93.033 5	Or	Z
27	咖啡酸*	C ₉ H ₈ O ₄	5.01	181.049 5	181.049 5	P	-0.06	117.033 5、135.044 1	Or	Z、S
28	香草醛	C ₈ H ₈ O ₃	6.28	153.054 6	153.054 5	P	-0.56	126.067 5、94.041 3	O	Z
29	表儿茶素*	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	6.33	289.071 7	289.072 0	N	1.01	245.081 9、109.029 5	Fl	Z
30	柯里拉京	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₈	6.47	633.073 4	633.073 8	N	0.71	463.051 8、300.999 0	O	K
31	老鹳草素	C ₄₁ H ₂₈ O ₂₇	6.51	951.074 5	951.073 4	N	-1.15	300.999 0、613.047 1	Fl	K
32	新绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	6.96	355.102 4	355.102 3	N	-0.27	117.033 5、163.039 0	Or	Z、S

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	m/z		离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	类 型	来源
				理论值	实测值					
33	(-)-白果内酯	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	7.01	325.092 9	325.092 8	N	-0.26	162.105 0、236.105 4	Te	K
34	东莨菪内酯	C ₁₀ H ₈ O ₄	7.73	191.034 9	191.034 9	P	-0.2	176.011 5、148.016 6	Co	Z
35	桃叶珊瑚苷	C ₁₅ H ₂₂ O ₉	7.78	391.124 6	391.124 9	N	0.76	165.055 7、139.040 1	Te	Z
36	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	8.06	193.050 6	193.050 4	N	-1.03	134.037 3、178.027 2	Or	Z
37	木兰花碱	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	8.65	342.170 0	342.169 7	P	-0.79	237.091 0、297.112 1	Al	K
38	牡荆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	8.75	431.098 3	431.096 6	N	-3.99	239.071 4、311.056 1	Fl	Z
39	5-羟基-1-四 氢萘酮	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	8.88	163.075 4	163.075 2	P	-0.92	107.049 1、135.080 4	Co	Z
40	5,7-二羟基- 4-甲基香豆 素	C ₁₀ H ₈ O ₄	8.99	193.049 5	193.049 4	P	-0.76	137.059 7、103.054 2	Co	Z
41	鞣花酸*	C ₁₄ H ₆ O ₈	8.99	303.013 5	303.013 2	N	-1.08	201.018 2、275.018 6	Or	Z、K
42	苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₂	9.09	123.041 1	123.043 9	N	-1.30	96.057 0、82.077 7	Or	K
43	芦丁*	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	9.17	611.160 6	611.159 8	N	-1.32	303.0499、345.0605	Fl	Z、 S、K
44	金丝桃苷*	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	9.19	465.102 8	465.102 8	N	0.07	303.049 9、229.049 5	Fl	Z
45	诃子林鞣酸	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₇	9.28	955.105 8	955.106 1	N	0.34	337.020 1、465.067 5	Or	K
46	对羟基苯甲 酸甲酯	C ₈ H ₈ O ₃	9.42	153.054 6	153.054 5	P	-0.76	121.028 4、109.064 8	O	Z
47	木犀草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	9.43	447.093 3	447.093 4	N	0.30	151.003 9、285.043 2	Fl	K
48	染料木苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	9.54	433.112 9	433.112 6	P	-0.72	271.060 1、215.070 3	Fl	S
49	壬二酸	C ₉ H ₁₆ O ₄	9.91	187.097 6	187.097 6	N	0	125.097 2、97.065 9	Or	K
50	苯乙酮	C ₈ H ₈ O	10.23	121.064 7	121.064 7	P	-0.39	93.069 9、79.054 2	O	Z
51	紫云英苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	10.38	447.093 3	447.092 9	N	-0.86	284.032 6、227.035 0	Fl	Z
52	4-甲氧基苯 甲醛	C ₈ H ₈ O ₂	10.39	137.059 7	137.059 5	P	-1.58	109.064 8、94.041 3	O	Z
53	滨蒿内酯	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	10.48	207.065 2	207.065 1	P	-0.68	151.075 4、179.070 3	Co	Z
54	杨梅素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	10.51	317.030 3	317.030 3	P	0.04	178.998 6、151.003 7	Fl	Z
55	香草醛乙 酸酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	11.08	195.065 2	195.065 0	P	-0.88	125.059 7、153.054 6	O	Z
56	7-甲氧基香 豆素	C ₁₀ H ₈ O ₃	11.76	177.054 6	177.054 5	P	-0.83	121.064 8、149.059 7	Co	Z
57	大豆苷元	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	11.94	255.065 2	255.066 4	N	4.65	199.075 4、227.070 3	Fl	S
58	木犀草素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	12.69	285.040 4	285.040 4	N	-0.08	151.003 7、133.029 5	Fl	Z、S
59	柠檬油素	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	12.81	207.065 2	207.064 9	P	-1.57	151.075 4、179.070 3	Co	Z
60	柚皮素*	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	13.07	271.061 1	271.061 2	N	0.18	151.003 7、119.050 2	Fl	Z、S
61	白杨素	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	13.08	255.065 2	255.065 2	N	-0.02	153.018 2、231.065 2	Fl	Z
62	甲基异茜 草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	13.08	255.065 2	255.065 2	P	-0.02	153.069 9、199.039 0	O	S
63	槲皮素*	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	13.21	301.035 4	301.035 1	N	-0.84	151.003 7、119.050 2	Fl	Z、K
64	山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	13.23	285.040 5	285.040 4	N	-0.30	151.003 7、229.050 6	Fl	Z
65	具栖冬青苷	C ₃₆ H ₅₈ O ₁₀	13.38	695.401 2	695.401 2	N	0.06	487.342 9、469.332 3	Te	K
66	芒柄花黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	13.72	269.080 8	269.080 7	N	-0.56	118.041 3、213.091 0	Fl	S
67	染料木素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	14.02	269.045 6	269.045 6	N	0.05	201.055 7、241.050 6	Fl	S

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	m/z		离子模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	类型	来源
				理论值	实测值					
68	金合欢素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	14.03	285.075 7	285.075 7	N	-0.13	151.038 9、123.044 0、 175.039 0	Fl Fl	S
				355.154 0	355.153 8	P	-0.62	201.054 6、242.057 4		
69	异黄腐醇	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	14.03	285.075 7	285.075 7	N	-0.13	257.080 8、299.091 4	Fl	S
70	高丽槐素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	14.03	355.154 0	355.153 8	P	-0.62	151.038 9、123.044 0、 175.039 0	Fl	S
71	黄腐醇	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	14.03	315.051 1	315.051 1	N	0.08	179.033 9、257.080 8	Fl	S
72	异鼠李素*	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	15.11	423.181 3	423.181 2	P	-0.23	300.027 6、151.003 7	Fl	Z、S
73	苦参新醇 F	C ₂₅ H ₂₈ O ₆	16.77	233.153 6	233.153 4	P	-0.72	261.149 6、313.144 5	Fl	S
74	异土木香 内酯	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	17.71	191.106 7	191.106 6	N	-0.56	159.116 8、187.148 1	Fl	Z
75	蒿本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	18.12	439.211 5	439.211 5	P	-0.08	163.111 7、149.059 7	O	S
76	苦参酮	C ₂₆ H ₃₀ O ₆	18.34	181.071 8	181.071 6	N	-0.92	303.159 1、179.033 9	Fl	S

N-负离子模式[M-H]⁻; P-正离子模式[M+H]⁺; *-与对照品比对; Fl-黄酮类; Te-萜类; Al-生物碱类; Or-有机酸类; O-其他类; Co-香豆素类; Z-广枣; S-苦参; K-诃子。

N-negative mode [M-H]⁻; P-positive mode [M+H]⁺; *-compare with reference substance; Fl-flavonoids; Te-terpenoids; Al-alkaloids; Or-organic acids; O-others; Co-coumarins; Z-C. axillaris; S-S. flavescens K-T. chebula.

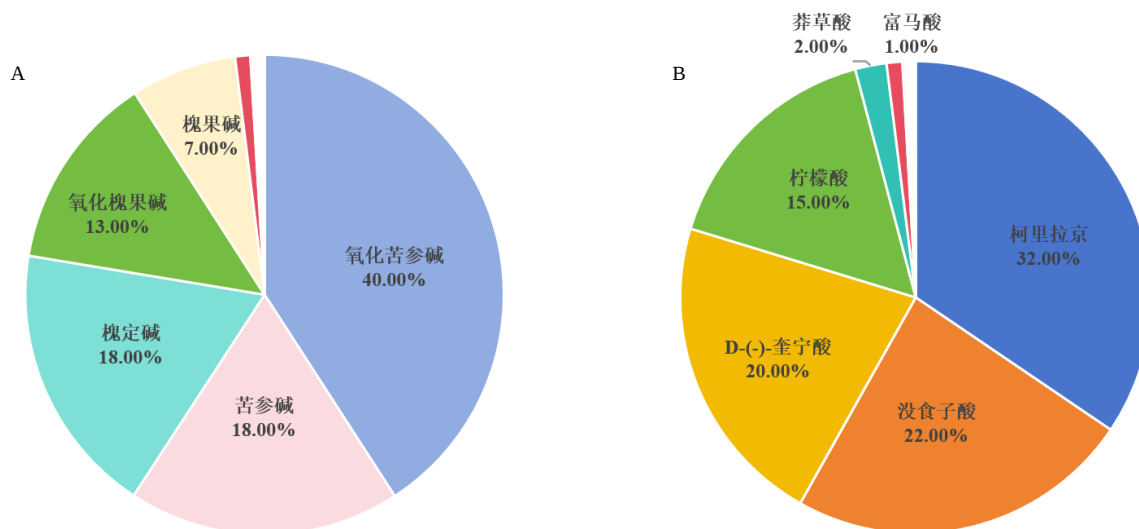


图 2 正离子 (A) 和负离子 (B) 模式下广枣三味汤化学成分的相对含量饼状图

Fig. 2 Pie chart of relative content of chemical constituents in Guangzao Sanwei Decoction under positive (A) and negative (B) ion modes

子模式下相对含量较高的化合物以氧化苦参碱、苦参碱、槐定碱、氧化槐果碱、槐果碱为主; 负离子模式下相对含量较高的化合物主要为柯里拉京、没食子酸、D-(-)-奎宁酸、柠檬酸、莽草酸、富马酸等。

2.1.5 黄酮类成分的质谱裂解表征 化合物 70 于 14.03 min 处检测到准分子离子峰 m/z 285.0759 9 [M+H]⁺, 据此拟合分子式为 C₁₆H₁₂O₅。二级质谱分析显示, 其产生的特征碎片离子分别为 175.039 02、

151.038 88、123.043 99。母离子裂解过程中, 失去 C₆H₆O₂ 的碎片离子基团, 产生 m/z 175.039 02 [M+H-C₆H₆O₂]⁺ 的碎片离子。经过碰撞诱导解离后, 母离子还可失去 C₈H₆O₄ 产生 m/z 151.038 88 [M+H-C₈H₆O₄]⁺ 的碎片离子, 该碎片离子进一步失去 CO, 产生 m/z 123.043 99 [M+H-C₈H₆O₄-CO]⁺ 的碎片离子。通过对精确相对分子质量和特征碎片的系统分析, 结合文献报道^[10-11], 鉴定该化合物为黄酮类化合物高丽槐素, 其裂解途径见图 3。

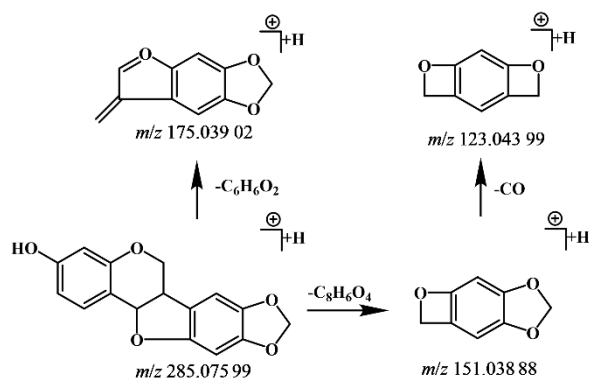
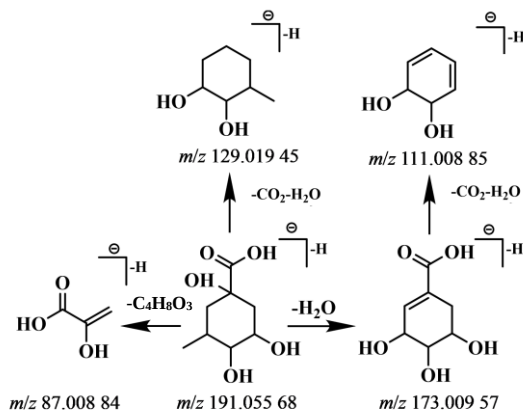


图 3 高丽槐素的质谱裂解规律

Fig. 3 Mass spectrometric fragmentation pattern of sophoricoside

2.1.6 有机酸类成分的质谱裂解表征 化合物 **3** 在负离子模式的一级质谱分析时, 于 0.81 min 出现准分子离子峰 m/z 191.055 68, 推测分子式为 $C_7H_{12}O_6$ 。在碰撞诱导解离作用下, 母离子依次失去一个 H_2O 、 CO_2 、 H_2O , 得到 m/z 173.009 57 $[M-H-H_2O]^-$ 、111.008 85 $[M-H-H_2O-CO_2-H_2O]^-$ 的碎片离子。此外, 母离子还可失去一个 CO_2 、 H_2O , 得到 m/z 129.019 45 $[M-H-H_2O]^-$ 的碎片离子, 离子碎片 m/z 87.008 84 则由母离子失去 $C_4H_8O_3$ 产生。依据精确相对分子质量、特征碎片, 并参考文献^[12], 判断该化合物为有机酸类化合物 *D*-(-)-奎宁酸, 其裂解规律见图 4。

2.1.7 生物碱类成分的质谱裂解表征 化合物 **17** 在正离子模式的一级质谱分析时, 于 1.74 min 出现准分子离子峰 m/z 247.180 34, 推测分子式为 $C_{15}H_{22}N_2O$ 。该准分子离子峰发生裂解, 丢失 1 个 C_2H_4 和 C_2H_5N , 产生 m/z 176.106 89 $[M+H-C_2H_4-$

图 4 *D*-(-)-奎宁酸的质谱裂解规律Fig. 4 Mass spectrometric fragmentation pattern of *D*-(-)-quinic acid

$C_2H_5N]^+$ 的碎片离子。母离子还可失去一个 H_2 , 得到 m/z 245.16334 $[M+H-H_2]^+$ 的碎片离子, 再分别失去 1 个 C_6H_7NO 、 C_5H_5NO 、 C_5H_7NO , 产生 m/z 136.111 59 $[M+H-C_6H_7NO]^+$ 、150.127 79 $[M+H-C_5H_5NO]^+$ 、148.112 05 $[M+H-C_5H_7NO]^+$ 的碎片离子。综合精确相对分子质量、特征碎片信息以及文献^[13-14], 判断该化合物为生物碱类化合物槐果碱, 裂解规律见图 5。

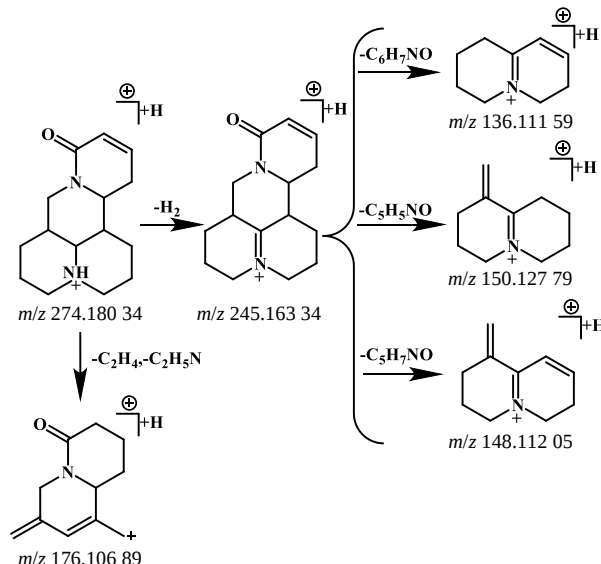


图 5 槐果碱的质谱裂解规律

Fig. 5 Mass spectrometric fragmentation pattern of cytisine

2.1.8 氨基酸类成分的质谱裂解表征 化合物 **13** 在正离子模式的一级质谱分析时, 于 1.42 min 出现准分子离子峰 m/z 166.086 11, 推测分子式为 $C_9H_{11}NO_2$ 。该准分子离子峰发生裂解, 丢失 1 个 $HCOOH$ 产生 m/z 120.080 66 $[M+H-HCOOH]^+$ 。母离子还可失去 1 个 NH_3 分子产生 m/z 149.059 51 $[M+H-NH_3]^+$, 接着再分别失去 1 个 $HCOOH$ 、 H_2O 分子得到 m/z 103.054 12 $[M+H-NH_3-HCOOH]^+$ 、131.048 87 $[M+H-NH_3-H_2O]^+$ 的碎片离子。通过精确相对分子质量、特征碎片, 并结合相关文献^[15], 判断该化合物为氨基酸类化合物 *L*-苯丙氨酸, 其裂解规律见图 6。

2.1.9 核苷类成分的质谱裂解表征 化合物 **10** 在正离子模式的一级质谱分析时, 于 1.11 min 出现准分子离子峰 m/z 268.103 79, 推测分子式为 $C_{10}H_{13}N_5O_4$ 。母离子随着 *N*-糖苷键处发生裂解, 脱去 1 分子核糖, 形成 m/z 136.061 68 $[M+H-C_5H_8O_4]^+$ 的碎片离子, 含氮六元环进一步开环, 丢失 NH_3 分子, 生成 m/z 119.034 99 $[M+H-C_5H_8O_4-NH_3]^+$ 碎

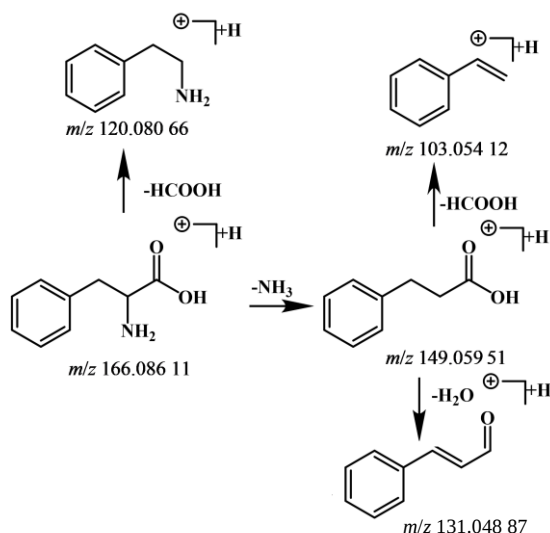


图 6 L-苯丙氨酸的质谱裂解规律

Fig. 6 Mass spectrometric fragmentation pattern of L-phenylalanine

片离子。通过对精确相对分子质量和特征碎片，并结合相关文献^[16-17]，判断该化合物为核苷类化合物腺苷，其裂解规律见图 7。

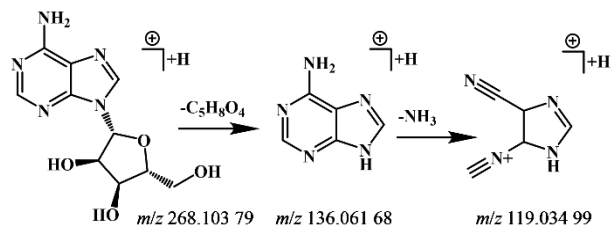


图 7 腺苷的质谱裂解规律

Fig. 7 Mass Spectrometric Fragmentation Pattern of Adenosine

2.2 网络药理学研究

2.2.1 广枣三味汤成分靶点预测 将“2.1.4”项下鉴定的广枣三味汤 76 个化学成分输入中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <http://tcmsp.com>), 设置口服给药生物利用度 (OB) 值 $\geq 30\%$, 药物相似度 (DL) 值 ≥ 0.18 , 获取符合条件的 56 个活性成分潜在作用靶点, 利用 Excel 删除重复项工具进行去重, 共获得 350 个化合物靶点。

2.2.2 CHD 靶点获取 通过 Pubchem 数据平台 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), 以“coronary heart disease”为检索词, 系统检索并整合冠心病靶点信息, 利用 Excel 删除重复项工具进行去重, 共获得 2 158 个冠心病相关靶点。

2.2.3 “成分-交集靶点”网络的构建 采用 Venny2.1.0 在线平台 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 对广枣三味汤成分靶点与 CHD 靶点取交集, 绘制化合物靶点和疾病靶点的韦恩图 (图 8), 共获得 139 个交集靶点。

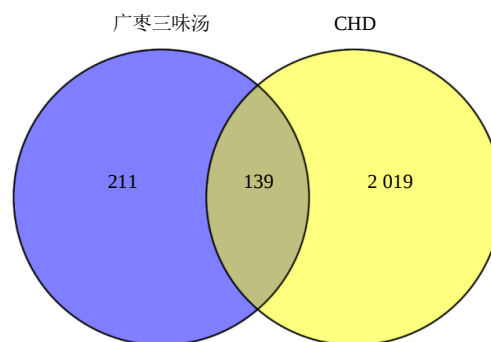
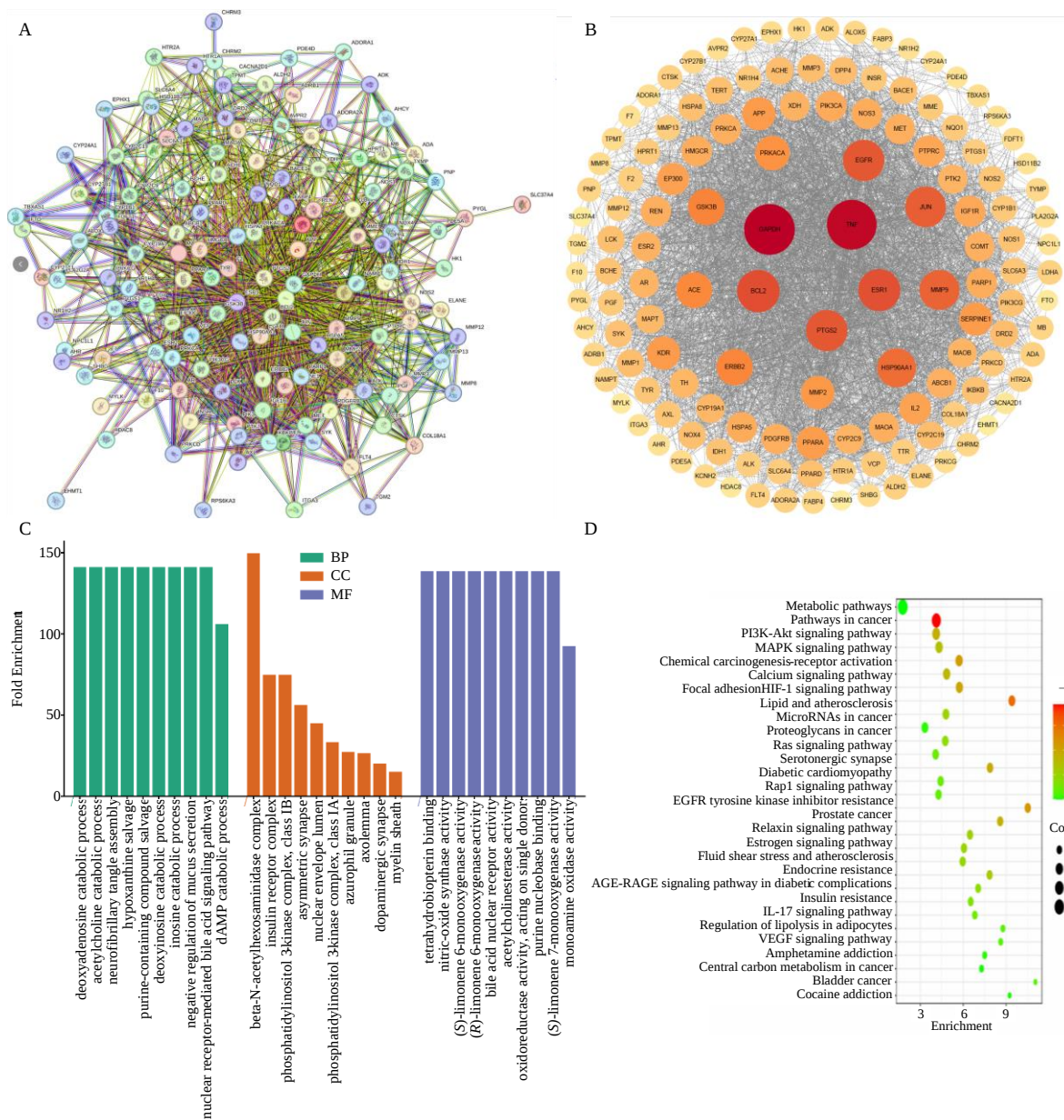


图 8 广枣三味汤主要成分与 CHD 的交集靶点韦恩图

Fig. 8 Venn diagram of intersection targets of main components of Guangzao Sanwei Decoction and CHD

2.2.4 核心靶点和通路富集分析 将得到的 139 个交集靶点导入 STRING (<https://string-db.org/>) 数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络 (图 9-A)。将 PPI 网络分析结果以 TSV 格式导出, 并导入 Cytoscape 3.10.1 进行拓扑参数筛选。结果显示甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、肿瘤坏死因子 (TNF)、B 细胞淋巴瘤-2 蛋白 (BCL2)、雌激素受体 1 (ESR1)、环氧化酶-2 (PTGS2) 等蛋白具有显著更高的连接度值, 是广枣三味汤干预 CHD 的关键作用靶点 (图 9-B)。急性心肌缺血再灌注过程中, GAPDH 的异常表达或聚集会抑制线粒体自噬, 导致氧化应激损伤加剧及心肌细胞死亡。通过敲低或敲除 GAPDH 表达, 可增强自噬活性、减少线粒体损伤, 进而改善心肌细胞存活与心脏功能^[18]。TNF 是一种具有多效性的促炎细胞因子, 研究表明^[19], TNF 参与急性心肌缺血诱导的炎症反应, 可以影响 CHD 的发展。细胞凋亡与多种心血管疾病以及 CHD 的发生有关, BCL2 在细胞凋亡中发挥着关键作用^[20], 与 CHD 的调控息息相关。ESR1 具有调血脂、抗动脉硬化粥样硬化、抗炎抗氧化、抑制心肌纤维化和血管平滑肌抗凝血和抗血栓形成等作用^[21]。PTGS2 激活产生前列腺素 E₂ (PGE₂), 引发细胞凋亡、内皮损伤、免疫应答抑制等一系列的细胞信号传导途径, 促进血小板聚集, 进而引发急性冠状动脉综合征^[22]。



A-潜在靶点 PPI 网络图; B-潜在靶点可视化 PPI 网络图; C-GO 富集分析图; D-KEGG 富集分析图。

A-potential target PPI network diagram; B-visualized PPI network diagram of potential targets; C-GO enrichment analysis diagram; D-KEGG enrichment analysis diagram.

图 9 广枣三味汤核心靶点和核心通路分析

Fig. 9 Core targets and core pathways analysis of Guangzao Sanwei Decoction

将交集靶点输入到 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>), 设置属性为 “*Homo sapiens*”, 分别进行基因本体 (GO) 注释和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。GO 富集分析共得到 497 个条目, 其中包括 223 条生物过程 (BP), 主要涉及对肽基-酪氨酸磷酸化、胶原分解代谢过程、细胞凋亡过程的负调控等; 细胞组成 (CC) 占 175 条, 包括细胞外区、溶酶体腔和神经元细胞体等; 分子功能 (MF) 占 99 条, 主

要涉及蛋白质酪氨酸激酶胶原受体活性、Boss 受体活性和胰岛素受体活性等 (图 9-C)。KEGG 富集分析结果显示广枣三味汤治疗 CHD 主要涉及癌症信号通路、磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路等 (图 9-D)。PI3K-Akt 信号通路可减轻内质网的应激反应, 保护细胞内线粒体的功能, 抑制缺血性心脏损伤导致的心肌细胞凋亡并提高细胞活性^[23-24]。MAPK 信号通路参与炎症反应、细胞

存活与死亡等病理生理过程,在 CHD 的发生与发展中亦发挥关键作用^[25]。

2.2.5 功效成分筛选 通过 Cytoscape 3.10.1 软件,设置物种为人,置信度阈值 0.7,构建“中药复方-化学成分-作用靶点-疾病”网络图,共获得 203 个节点,1381 条边(图 10)。根据度值大小对活性成

分贡献进行排序,结果显示黄酮类成分如染料木苷、表儿茶素、(+)-儿茶素水合物、紫云英苷、儿茶素、芦丁,有机酸类成分如没食子酸、D-(-)-奎宁酸、莽草酸、柠檬酸、香草酸,生物碱类成分如氧化槐果碱、苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱等为广枣三味汤治疗 CHD 的主要药效成分。

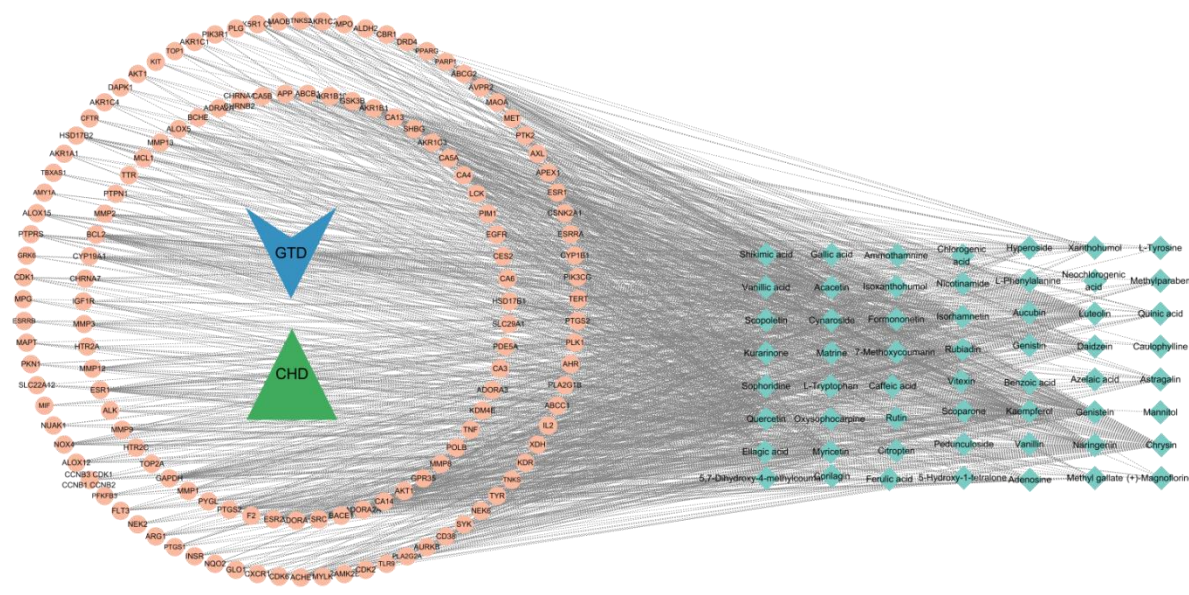


图 10 广枣三味汤与 CHD 的“中药复方-成分-靶点-疾病”网络图

Fig. 10 Network diagram of “Traditional Chinese Medicine Compound-Chemical Constituents-Action Targets-Disease” for Guangzao Sanwei Decoction and CHD

2.3 广枣三味汤 Q-Marker 预测

基于 Q-Marker 的“五原则”(有效性、特有性、传递与溯源、配伍环境、可测性),本研究筛选适用于广枣三味汤质量控制的潜在 Q-Marker。现代药理研究证实,儿茶素可有效抑制氧化应激及炎症反应,改善血管内皮损伤与心肌损伤^[26];莽草酸具有抗炎、镇痛作用,可改善心肌损伤并抑制血栓形成^[27];苦参碱具备显著的抗纤维化、心脏保护及抗炎功效,能有效抑制心肌细胞坏死,减轻炎性细胞浸润,缓解组织水肿^[28-30];槐定碱具有抗心律失常活性^[31];没食子酸、香草酸及芦丁均为天然抗氧化剂,可高效清除 DPPH 自由基^[32],且对心胸类疾病具有潜在治疗价值^[33]。结合网络药理学分析与文献调研结果,判定儿茶素、莽草酸、苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸及芦丁均符合 Q-Marker 有效性原则。

通过 HERB 数据库 (<http://herb.ac.cn/v2/>) 检索评估成分特有性,结果显示:儿茶素、莽草酸、苦

参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸、芦丁分别分布于 26、27、22、13、308、29、291 种药材中。其中,儿茶素、莽草酸、苦参碱、槐定碱及香草酸在其他中药中分布较少,符合特有性原则;尽管没食子酸与芦丁的分布范围较广,但网络药理学预测显示二者可通过多靶点、多途径参与 CHD 治疗,基于有效性优先原则,仍将其纳入潜在 Q-Marker 范围。

相关研究证实,儿茶素、苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸、芦丁可在血清或血浆中检出原型成分或其代谢产物^[34-37],可有效满足传递与溯源原则。同时,上述成分均源自广枣三味汤的组成药材,网络药理学预测结果表明,其可通过多靶点-多通路协同作用模式调控疾病相关通路,充分体现了与复方“配伍环境”的关联性,符合配伍环境原则。

UPLC-MS/MS 相对定量分析结果显示,苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸及芦丁在同类成分中相对含量较高,可实现精准定量,满足可测性原则。综上,最终确定苦参碱、槐定碱、没食子酸、

香草酸及芦丁为广枣三味汤的潜在 Q-Marker。

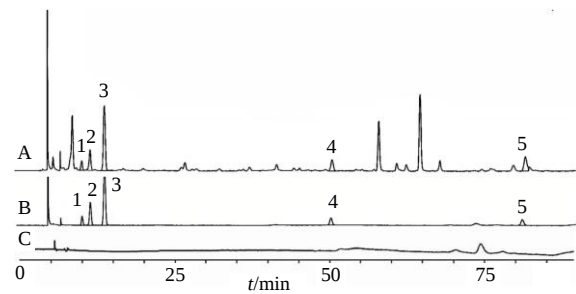
2.4 Q-Marker 多指标含量测定

2.4.1 供试品溶液的制备 称取广枣三味汤(S6)药材(广枣 20 g、苦参 10 g、诃子 10 g)粉碎,过三号筛。取粗粉,加入 12 倍量水,加热回流提取 2 次,每次 120 min,合并滤液,减压浓缩至适当体积,冷却至室温后,加水定容至 250 mL,即得广枣三味汤提取液。精密吸取 1 mL 提取液于 50 mL 量瓶,用水定容,摇匀,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸和芦丁对照品适量,分别置于 20 mL 棕色量瓶中,用甲醇溶解和定容,配制质量浓度为 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的各对照品储备液。精密吸取上述各储备液适量,用甲醇配制成苦参碱、苦参碱、没食子酸、香草酸、芦丁质量浓度分别为 15.0、50.0、10.0、2.5、5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.4.3 色谱条件 采用 Inertsil ODS-3 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相为 0.1% 磷酸的水(A)-乙腈(B)梯度洗脱 0~6 min, 5% B; 6~60 min, 5% B $\rightarrow$ 17% B; 60~80 min, 17% B; 80.0~80.01 min, 17% B $\rightarrow$ 5% B; 80.01~90.00 min, 5% B。检测波长 210 nm, 体积流量 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL 。

2.4.4 专属性考察 取空白溶液(甲醇)、混合对照品溶液、供试品溶液,按照“2.4.2”项下方法进样分析,记录色谱图。结果如图 11 所示,空白溶液对样品待测物质检测无干扰,样品中各待测峰与相



1-苦参碱; 2-槐定碱; 3-没食子酸; 4-香草酸; 5-芦丁。

1-matine; 2-sophoridine; 3-gallic acid; 4-vanillic acid; 5-rutin.

图 11 供试品溶液 (A)、混合对照品溶液 (B) 和空白溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 11 HPLC spectrograms of sample solution (A), mixed reference substance solution (B), and blank solvent (C) 邻峰之间的分离度均大于 1.5, 表明该方法专属性良好。

2.4.5 线性关系考察 分别配制苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸和芦丁的系列混合对照品溶液,按“2.4.2”液相方法进样测定,记录峰面积。以溶液质量浓度作为横坐标(X),峰面积作为纵坐标(Y)拟合标准曲线,取“2.4.2”项下对照品溶液逐级稀释,按照“2.4.3”项下色谱条件进行测定,当信噪比(S/N) ≥ 3 确定 LOD; 当 $S/N \geq 10$, 确定此浓度为 LOQ。结果见表 3。

2.4.6 精密度考察 将混合对照品溶液按“2.4.2”液相方法连续进样 6 次,记录峰面积,分别计算出苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸和芦丁的峰面积相对标准偏差(RSD)分别为 4.3%、4.4%、1.5%、2.8%、1.9%,表明仪器精密度良好。

表 3 线性与范围

Table 3 Linearity and range

成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOD/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOQ/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
苦参碱	$Y=6\,761.96\,X-4\,699.62$	0.999 0	3.02~30.21	2.50	3.02
槐定碱	$Y=5\,440.73\,X-10\,555.50$	0.997 5	10.05~100.53	8.00	10.05
没食子酸	$Y=74\,828.59\,X+10\,878.47$	0.999 1	2.06~20.65	1.50	2.06
香草酸	$Y=48\,585.83\,X-1\,209.24$	0.999 1	0.50~5.05	0.10	0.25
芦丁	$Y=22\,338.31\,X-2\,273.03$	0.999 4	1.01~10.06	0.55	1.01

2.4.7 稳定性考察 取同一批广枣三味汤样品(S6),按照“2.4.1”项下方法制备供试品溶液,分别于室温下放置 0、4、8、12、24、48 h 后,按“2.4.3”项下方法进样分析,计算苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸和芦丁的峰面积 RSD 分别为 3.9%、3.7%、1.2%、2.7%、3.9%,说明供试品溶液在 48 h

内稳定性良好。

2.4.8 重复性考察 平行配制 6 份供试品(S6)溶液,按“2.4.3”液相方法进样测定,计算出苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸和芦丁的含量 RSD 分别为 4.1%、1.3%、1.0%、0.5%、3.1%,表明该方法重复性良好。

2.4.9 加样回收率考察 精密吸取已知含量样品(S6),按 100%水平加入适量的对照品溶液,平行 6 份,分别制备供试品溶液,按“2.4.3”液相方法进样测定,计算加样回收率和 RSD。结果显示,苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸和芦丁的平均加样回收率分别为 96.68%、100.57%、105.38%、101.29%、98.54%,RSD 分别为 2.6%、1.9%、2.6%、0.7%、3.5%,表明该方法准确度良好。

2.4.10 样品测定 称取 S1~S6 广枣三味汤粗粉,按“2.4.1”制备供试品溶液,平行配制 3 份,按“2.4.3”项下方法进样测定,分别计算各化合物含量。测定结果见表 4。6 批供试品溶液中苦参碱的质量分数为 0.832~4.660 mg·g⁻¹;槐定碱的质量分数为 10.480~19.659 mg·g⁻¹;没食子酸的质量分数为 1.353~4.060 mg·g⁻¹;香草酸的质量分数为 0.003~1.200 mg·g⁻¹;芦丁的质量分数为 0.061~1.550 mg·g⁻¹。

表 4 不同批次广枣三味汤含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Content determination results of different batches of Guangzao Sanwei Decoction ($\bar{x} \pm s, n=3$)

批次	质量分数/(mg·g ⁻¹)				
	苦参碱	槐定碱	没食子酸	香草酸	芦丁
S1	0.832±0.051	18.010±0.903	1.353±0.091	0.004±0.000	0.061±0.000
S2	0.929±0.062	15.872±0.781	2.051±0.120	0.004±0.000	0.075±0.010
S3	2.885±0.172	19.659±1.140	4.030±0.240	0.106±0.010	0.170±0.021
S4	2.735±0.160	10.977±0.660	1.531±0.140	0.003±0.001	0.090±0.011
S5	4.600±0.221	10.480±0.610	4.060±0.262	0.105±0.010	0.172±0.020
S6	4.660±0.281	13.040±0.712	3.430±0.203	1.200±0.100	1.550±0.110

3 讨论

广枣三味汤是蒙医经典名方,在心血管疾病治疗中疗效显著,但其药效物质基础与质量控制研究仍不够深入,制约了该方的临床推广与现代化开发进程。近年来,网络药理学技术通过可视化呈现中药成分与作用靶点的关联,为系统阐明药物作用机制、筛选活性成分提供了有效手段^[38]。本研究首先采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS/MS 技术系统鉴定广枣三味汤的化学成分,结合网络药理学分析,揭示其治疗 CHD 的作用机制与 PI3K-Akt、MAPK 等信号通路及 GAPDH、TNF、BCL2、ESR1、PTGS2 等靶点的调控密切相关。网络药理学结果筛选出黄酮类[如染料木苷、表儿茶素、(+)-儿茶素水合物、紫云英苷、儿茶素、芦丁等]、有机酸类[如没食子酸、D-(-)-奎宁酸、莽草酸、柠檬酸、香草酸等]、生物碱类(如氧化槐果碱、苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱等)化合物为主要功效成分。研究表明,黄酮类成分儿茶素可调节心肌细胞增殖与凋亡,减轻炎症反应,抑制心肌细胞损伤并保护心肌组织,进而改善心功能;同时可调控氧化应激反应及血管平滑肌细胞收缩功能,协调血管舒缩平衡,从而对 CHD 发挥良好治疗作用^[39]。Ras 同源基因家族成员 A 蛋白(RhoA)/Rho 关联含卷曲螺旋蛋白激酶(ROCK)信号通路是 Th17、Treg 等 T 淋巴细胞发

育、激活与分化的关键调控因子,在心血管疾病发生发展中具有重要作用;生物碱类成分苦参碱可通过抑制 RhoA-ROCK 信号通路调节 CHD 患者 Th17/Treg 平衡,缓解 CHD 所致心肌损伤^[40]。本研究结果初步阐明了广枣三味汤治疗 CHD 的药效物质基础,为其临床应用提供了科学依据。

Q-Marker 指中药材或中药产品中固有或经加工制备形成的、与中药功能属性密切相关的、可作为反映中药有效性与安全性的标示性物质。该概念强调成分与药效的关联性,可精准表征中药质量,实现从“成分控制”向“功效控制”的升级^[41-42]。本研究进一步依据 Q-Marker“五原则”内涵,筛选出苦参碱、槐定碱、没食子酸、香草酸及芦丁作为广枣三味汤治疗 CHD 的潜在 Q-Marker。文献佐证显示,贾雨祺等^[43]从心血管保护的传统功效切入,预测生物碱类成分可作为苦参的潜在 Q-Marker,本研究筛选的苦参碱、槐定碱与该文献预测结果吻合;赵鹿等^[44]从涩肠止泻、敛肺止咳、降火利咽等传统功效出发,提出鞣质类、酚酸类、多糖类及黄酮类化合物可作为诃子 Q-Marker 的核心候选,本研究筛选的没食子酸、芦丁与之部分一致,同时凸显了这些成分与 CHD 治疗药效的紧密关联。在潜在 Q-Marker 确定后,本研究进一步建立了多指标 HPLC 含量测定方法。该方法操作简便、结果准确、

重复性良好, 可依据含量差异对不同批次广枣三味汤进行质量分级, 验证了多指标 Q-Marker 筛选的科学性, 为该复方后续质量控制体系的构建提供了可靠参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 邓套图格, 王梅兰. 浅谈心房颤动的蒙西医治疗 [J]. 中国民族医药杂志, 2016, 22(7): 31-32.
Deng T, Wang M L. Discussion on Mongolian and western medicine treatment of atrial fibrillation [J]. J Med Pharm Chin Minor, 2016, 22(7): 31-32.
- [2] 特日格乐. 蒙成药骚血谱清散应用概况 [J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(10): 50-51.
Te R. Overview of application of Mongolian patent medicine Saouxue Puqing Powder [J]. J Med Pharm Chin Minor, 2020, 26(10): 50-51.
- [3] 中国医学百科全书编辑委员会. 中国医学百科全书-蒙医学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 277.
Editorial Committee of Chinese Medical Encyclopedia. Chinese Medical Encyclopedia: Mongolian Medicine [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1992: 277.
- [4] 阜新蒙古族自治县蒙医研究所编译. 蒙医金匮 [M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1997: 67.
Fuxin Mongolian Autonomous County Mongolian Medicine Research Institute, compiled and translated. Mongolian Medical Golden Treasury [M]. Hohhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1997: 67.
- [5] 张钟月, 周树宏, 高倩, 等. 蒙药吉如很古日古木-7 和广枣三味汤对心肌缺血再灌注小鼠的保护作用研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2025, 27(8): 2331-2339.
Zhang Z Y, Zhou S H, Gao Q, et al. Study on the protective effects of the Mongolian prescription jiruhen gurigumu-7 and Guangzao Sanwei Tang on myocardial ischemia-reperfusion mice [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med, 2025, 27(8): 2331-2339.
- [6] 金桃. 复方广枣胶囊治疗冠心病心绞痛的临床研究 [J]. 中国民族民间医药, 2011, 20(16): 12-13.
Jin T. Clinical study on compound Guangzao capsule in the treatment of angina pectoris of coronary heart disease [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2011, 20(16): 12-13.
- [7] 徐蓓蕾, 孙文斌, 王昊, 等. 基于指纹图谱和网络药理学的秦皮质量标志物(Q-Marker)预测分析 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 5019-5032.
Xu B L, Sun W B, Wang H, et al. Predictive analysis of quality markers of *Fraxini Cortex* based on fingerprint and network pharmacology [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(15): 5019-5032.
- [8] 刘昌孝. 中药质量标志物(Q-Marker)研究发展的 5 年回顾 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.
Liu C X. Five-year review on development of quality markers of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(9): 2511-2518.
- [9] 常鑫鑫, 陈香茗, 李倩, 等. 基于指纹图谱结合网络药理学的知母质量标志物预测分析 [J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(5): 603-612.
Chang X X, Chen X M, Li Q, et al. Q-marker prediction analysis of *Anemarrhenae rhizoma* based on fingerprint and network pharmacology [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2023, 40(5): 603-612.
- [10] Zhang L, Xu L, Xiao S S, et al. Characterization of flavonoids in the extract of *Sophora flavescens* Ait. by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector and electrospray ionization mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 44(5): 1019-1028.
- [11] 于丹丹. 液质联用技术用于牛大力根化学成分的稳定性和定量研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2018.
Yu D D. Qualitative and quantitative analysis of major constituents in roots of *Millettia speciosa* Champ. by UPLC-QTOF-MS/MS and UPLC-MS/MS [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2018.
- [12] 姜玮, 李银, 马雪, 等. 醒脾养儿颗粒化学成分鉴定 [J]. 中成药, 2024, 46(4): 1395-1401.
Jiang W, Li Y, Ma X, et al. Identification of chemical constituents of Xingpi Yanger Granules [J]. Chin Tradit Pat Med, 2024, 46(4): 1395-1401.
- [13] 梁洁, 陆春莲, 黄冬芳, 等. UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术分析荔枝叶不同极性部位化学成分及体外降血糖活性比较 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(11): 166-179.
Liang J, Lu C L, Huang D F, et al. UPLC-Q-Orbitrap HRMS for analysis of chemical constituents of *Litchi chinensis sonn* leaves and comparison of hypoglycemic active parts *in vitro* [J]. Mod Food Sci Technol, 2024, 40(11): 166-179.
- [14] 张日美, 廖嘉穗, 胡军华, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 加味清络颗粒生物碱类化学成分分析及多指标含量测定 [J]. 中草药, 2024, 55(10): 3255-3266.
Zhang R M, Liao J S, Hu J H, et al. Chemical composition analysis and multi-index content determination of alkaloids in Jiawei Qingluo Granules by HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(10): 3255-3266.

- [15] 段媛媛. 山豆根化学成分分析及苦参碱致肝损伤作用机制研究 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2023.
Duan Y Y, Analysis of chemical constituents of *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizome* and study on the mechanism of matrine-induced liver injury [D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2023.
- [16] 黄李璐, 夏厚林, 冯丽萍, 等. 木芙蓉叶乙酸乙酯部位抗氧化与抗炎作用研究及 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(9): 1528-1539.
Huang L L, Xia H L, Feng L P, et al. Anti-oxidation and anti-inflammatory effects and UPLC-Q-Orbitrap HRMS analysis of ethyl acetate extract from *Hibisci mutabilis* Folium [J]. Nat Prod Res Dev, 2023, 35(9): 1528-1539.
- [17] 吴娟, 龚友兰, 滕建裕, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 联和 GNPS 技术对凤凰雪茶的化学成分分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(9): 1484-1498.
Wu J, Gong Y L, Teng J Y, et al. Chemical composition analysis of Fenghuang Xuecha based on UPLC-Q-TOF-MS/MS coupled with GNPS [J]. Nat Prod Res Dev, 2024, 36(9): 1484-1498.
- [18] 陈凯, 陈敏娜, 王琼, 等. 基于网络药理学及分子对接技术的复方丹参滴丸治疗心绞痛潜在分子机制探讨 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(7): 1282-1293.
Chen K, Chen M N, Wang Q, et al. Potential molecular mechanism of Compound Danshen Dripping Pills in treatment of angina pectoris based on network pharmacology and molecular docking [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(7): 1282-1293.
- [19] Zhu W S, Guo W, Zhu J N, et al. Hsp90aa1: A novel target gene of miR-1 in cardiac ischemia/reperfusion injury [J]. Sci Rep, 2016, 6: 24498.
- [20] 张平, 张再伟, 邵靓. TGF- β 1、CTGF 对慢性心衰心肌纤维化进展的临床意义 [J]. 昆明医科大学学报, 2014, 35(11): 45-47, 55.
Zhang P, Zhang Z W, Shao J Clinical significance of TGF- β 1 and CTGF in the progression of myocardial fibrosis in chronic heart failure [J]. J Kunming Med Univ, 2014, 35(11): 45-47, 55.
- [21] 柏哲, 祝海毅, 何德英, 等. 黄芩有效成分治疗冠心病的实验研究进展 [J]. 中国中医急症, 2019, 28(5): 927-929, 937.
Bai Z, Zhu H Y, He D Y, et al. Experimental research progress of effective components of *Scutellaria baicalensis* Georgi in treating coronary heart disease [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2019, 28(5): 927-929, 937.
- [22] Liang Z W, Chen Y, Gu R F, et al. Asiaticoside prevents oxidative stress and apoptosis in endothelial cells by activating ROS-dependent p53/bcl-2/caspase-3 signaling pathway [J]. Curr Mol Med, 2023, 23(10): 1116-1129.
- [23] 彭静, 刘林慧, 高萍, 等. 哌甲酯靶点导向的网络药理学研究: 揭示中药治疗注意缺陷多动障碍的分子机制与用药规律 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(9): 2507-2517.
Peng J, Liu L H, Gao P, et al. Methylphenidate target-guided network pharmacology study: Unveiling molecular mechanisms and medication patterns of traditional Chinese medicine in treatment of attention deficit hyperactivity disorder [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(9): 2507-2517.
- [24] Li H, Hung A, Yang A W H. Herb-target virtual screening and network pharmacology for prediction of molecular mechanism of Danggui Beimu Kushen Wan for prostate cancer [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 6656.
- [25] 王晓, 刘博, 张译心, 等. 黄连总生物碱与三七皂苷组合物对大鼠糖尿病心肌缺血再灌注损伤的影响 [J]. 中南药学, 2021, 19(6): 1092-1097.
Wang X, Liu B, Zhang Y X, et al. Effect of total alkaloids of *Rhizoma Coptidis* and *Panax notoginseng* saponins on myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats [J]. Cent South Pharm, 2021, 19(6): 1092-1097.
- [26] 张文强, 文亮, 李慧, 等. 儿茶素经 PI3K-Akt-eNOS 信号通路对冠心病大鼠心肌损伤及抗炎作用分析 [J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(9): 1619-1623.
Zhang W Q, Wen L, Li H, et al. Analysis of myocardial injury and anti-inflammatory effect of catechin in coronary heart disease rats through PI3K-Akt-eNOS signaling pathway [J]. Prog Mod Biomed, 2023, 23(9): 1619-1623.
- [27] Bertelli A A E, Mannari C, Santi S, et al. Immunomodulatory activity of shikimic acid and quercetin in comparison with oseltamivir (Tamiflu) in an *in vitro* model [J]. J Med Virol, 2008, 80(4): 741-745.
- [28] Ma W X, Xu J, Zhang Y, et al. Matrine pre-treatment suppresses AGES-induced HSCMCs fibrotic responses by regulating Poldip2/mTOR pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2019, 865: 172746.
- [29] Liu Z W, Wang Y, Zhu H T, et al. Matrine blocks AGES-induced HSCMCs phenotypic conversion via suppressing Dll4-Notch pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 835: 126-131.
- [30] Niu Y J, Dong Q M, Li R H. Matrine regulates Th1/Th2 cytokine responses in rheumatoid arthritis by attenuating the NF- κ B signaling [J]. Cell Biol Int, 2017, 41(6): 611-621.
- [31] 李在邠, 赵德化, 盛宝恒. 槐定碱抗实验性心律失常作用 [J]. 第四军医大学学报, 1986(1): 35-38.
Li Z B, Zhao D H, Sheng B H. Effects of sophoridine on

- experimental arrhythmias [J]. J Fourth Mil Med Univ, 1986(1): 35-38.
- [32] 杨新周, 郝志云, 董毅, 等. 野生中草药的抗氧化活性研究 [J]. 云南化工, 2014, 41(2): 4-6.
Yang X Z, Hao Z Y, Dong Y, et al. Study on antioxidative activities of two wild herbs [J]. Yunnan Chem Technol, 2014, 41(2): 4-6.
- [33] Ratnam D V, Ankola D D, Bhardwaj V, et al. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective [J]. J Control Release, 2006, 113(3): 189-207.
- [34] 孙杰, 刘萍, 范俊沛, 等. 血浆苦参碱 UPLC-MS/MS 测定方法建立及山豆根浸膏粉经口毒代动力学研究 [J]. 毒理学杂志, 2024, 38(5): 373-377, 382.
Sun J, Liu P, Fan J P, et al. Determination of matrine in rat plasma after oral administration of mountain bean root extract powder and its toxicokinetic by UPLC-MS/MS [J]. J Toxicol, 2024, 38(5): 373-377, 382.
- [35] 詹正学, 蒋世月, 李静. 丹红注射液联合氧化苦参碱治疗冠心病心绞痛的疗效及对心率变异性、Q-T 离散度、心肌缺血总负荷的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(7): 60-63.
Zhan Z X, Jiang S Y, Li J. Effect of Danhong injection combined with oxymatrine on angina pectoris of coronary disease and its influence on total ischemia burden, heart rate variability and Q-T dispersion [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2020, 38(7): 60-63.
- [36] 张景正, 钟嫒, 鲍真真, 等. 氧化苦参碱通过 Wnt/ β -catenin 信号通路诱导结肠癌 HCT116 细胞凋亡和焦亡作用研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(10): 2017-2023.
Zhang J Z, Zhong Y, Bao Z Z, et al. Oxymatrine induces apoptosis and pyroptosis in colon cancer cells via Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(10): 2017-2023.
- [37] Unno T, Araki Y, Inagaki S, et al. Fructooligosaccharides increase in plasma concentration of (-)-epigallocatechin-3-gallate in rats [J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(49): 14849-14855.
- [38] 王栋, 柳威, 吕霄潼, 等. 基于网络药理学与分子对接探讨脉络通颗粒治疗心绞痛的作用机制 [J]. 科学技术与工程, 2025, 25(30): 12826-12839.
Wang D, Liu W, Lü X T, et al. Potential mechanism of Mailuotong Granules in treating angina pectoris based on network pharmacology and molecular docking [J]. Sci Technol Eng, 2025, 25(30): 12826-12839.
- [39] 姜晓礼, 姜国湖, 薛亚楠, 等. 基于 LKB1/AMPK 信号通路探讨儿茶素对冠心病大鼠心功能障碍的改善作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(12): 2961-2965.
Jiang X L, Jiang G H, Xue Y N, et al. Based on LKB1/AMPK signaling pathway, the improvement effect and mechanism of catechin on cardiac dysfunction in rats with coronary heart disease were discussed [J]. Chin J Gerontol, 2024, 44(12): 2961-2965.
- [40] 哈斯高娃, 乌吉斯古楞. 苦参碱调节 RhoA-ROCK 信号通路对冠心病模型大鼠 Th17/Treg 细胞平衡的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(3): 349-357.
Ha S, Wu J. Impact of matrine on Th17/treg cell balance in coronary heart disease rats by regulating the RhoA-ROCK signaling pathway [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2024, 35(3): 349-357.
- [41] Li Y X, Sheng Y Y, Xia W X, et al. Integrated metabolomics and serum pharmacochimistry reveal Q-markers of Zhigancao decoction for antiarrhythmic efficacy [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 353: 120331.
- [42] 中华中医药学会《中药质量标志物研究技术指南》编写组. 中药质量标志物研究技术指南 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2249-2252.
The Compilation Group of the Technical Guide for Research on Quality Markers of Traditional Chinese Medicine. Technical guide for research on quality markers of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(7): 2249-2252.
- [43] 贾雨祺, 刘新月, 孙鹏, 等. 苦参的化学成分、药理作用、毒性研究进展及质量标志物 (Q-marker) 预测分析 [J/OL]. 中华中医药学刊, 1-20 [2026-01-14]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20250811.1123.011>.
Jia Y Q, Liu X Y, Sun P, et al. Research progress on chemical composition, pharmacological effects, toxicity, and quality marker prediction analysis of *Sophora flavescens* Aiton [J/OL]. Chin Arch Trad Chin Med, 1-20 [2026-01-14] <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20250811.1123.011>.
- [44] 赵鹿, 廖翠萍, 杨秀娟, 等. 诃子的研究进展及质量标志物的预测 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2732-2744.
Zhao L, Liao C P, Yang X J, et al. Research progress in *Terminalia chebula* and its predictive analysis on Q-marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(10): 2732-2744.

[责任编辑 孙英杰]