

基于UHPLC-Q-Orbitrap和网络药理学的灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的机制研究

李卓伦^{1,2}, 杨彦涛^{1,2}, 孙志^{1,2}, 师莹莹^{1,2}, 高一乔^{1,2}, 贾雪冬^{1,2}, 康建^{1,2}, 周霖^{1,2}, 贾清泉^{1,2}, 张晓坚^{1,2*}

1. 郑州大学第一附属医院药学部, 河南 郑州 450052

2. 河南省精准临床药学重点实验室, 河南 郑州 450052

摘要:目的 系统阐明灯盏生脉胶囊中的化学成分组成, 并初步探究其治疗心绞痛的作用机制。方法 采用超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)技术对灯盏生脉胶囊中的化合物进行准确性, 并结合网络药理学分析在灯盏生脉胶囊中治疗心绞痛过程中起调控作用的靶点及通路。结果 共鉴定出黄酮类、木脂素类、酚酸类、皂苷类和其他类共5类共30种化合物, 其中16种化合物为灯盏生脉胶囊入血成分, 可通过调控丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)通路和p53通路等来发挥治疗心绞痛的作用。结论 为探索灯盏生脉胶囊药效物质基础提供了新的思路, 并为指导临床合理用药提供了科学的理论依据。

关键词: 灯盏生脉胶囊; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; 成分定性分析; 网络药理学; 黄酮类; 木脂素类; 酚酸类; 皂苷类

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)12-3501-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.12.005

Mechanism research of Dengzhan Shengmai Capsules for angina pectoris based on UHPLC-Q-Orbitrap HRMS and network pharmacology

LI Zhuo-lun^{1,2}, YANG Yan-tao^{1,2}, SUN Zhi^{1,2}, SHI Ying-ying^{1,2}, GAO Yi-qiao^{1,2}, JIA Xue-dong^{1,2}, KANG Jian^{1,2}, ZHOU Lin^{1,2}, JIA Qing-quan^{1,2}, ZHANG Xiao-jian^{1,2}

1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

2. Henan Key Laboratory of Precision Clinical Pharmacy, Zhengzhou 450052, China

Abstract: Objective To illuminate the chemical components from Dengzhan Shengmai Capsules (灯盏生脉胶囊), and reveal its mechanism for treatment of angina pectoris. **Methods** An ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/orbitrap high resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) method was employed for the qualitative analysis of components in Dengzhan Shengmai Capsules, and network pharmacology was applied for the targets and pathways study of Dengzhan Shengmai Capsules for angina pectoris. **Results** Thirty compounds in total were successfully identified in this research, including flavones, lignans, phenolic acids, saponins and other categories. Among these compounds, 16 compounds were verified as components in plasma and might play a therapeutic role on angina pectoris through MAPK signaling pathway, p53 signaling pathway and etc. **Conclusion** This research offers a new method for the pharmacodynamics material basis studies of Dengzhan Shengmai Capsules, which provides scientific theory basis for its clinical rational drug use.

Key words: Dengzhan Shengmai Capsules; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS; qualitative analysis; network pharmacology; flavones; lignans; phenolic acids; saponins

灯盏生脉胶囊由灯盏细辛、麦冬、人参和五味子4味药材提取加工制成^[1], 具有益气养阴、活血健脑的功效, 临床上常用于治疗中风后遗症、高脂血症、冠心病心绞痛、缺血性心脑血管疾病等病

收稿日期: 2020-03-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81703666)

作者简介: 李卓伦, 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为中药质量控制。Tel: (0371)66862570 E-mail: lzl19920512@126.com

*通信作者: 张晓坚, 男, 主任药师, 教授, 研究方向为医院药学。Tel: (0371)66862570 E-mail: zhangxiaojian_yxb@163.com

症^[2-4]。但灯盏生脉胶囊药效物质的相关研究匮乏,严重限制了对其在临床上精准用药的指导。因此亟需建立一种高通量、高分辨率、高灵敏度且能科学预测其在人体内作用靶点的方法对灯盏生脉胶囊药效物质基础进行分析。

超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)因其优异的分辨能力、良好的质量准确度和灵敏度,可在一个分析周期内获得大量高精度的一级、二级质谱信息,现已逐步成为中药药效成分快速准确鉴定的重要手段。网络药理学具有整体性、系统性的特点,其融合系统生物学、多向药理学、计算生物学、网络分析等多学科的技术和内容,进行“疾病-表型-基因-药物”多层次网络的构建,从整体的角度探索药物与疾病间的关联,发现药物靶标,指导合理用药^[5-6]。

本实验利用 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术结合网络药理学对灯盏生脉胶囊中化合物成分构成及其相关靶点、疾病进行了鉴定分析。通过利用高分辨质谱获得的精确相对分子质量、保留时间及碎片离子信息,共获得黄酮类、木脂素类、酚酸类、皂苷类和其他类共 5 类 30 种化合物,并结合网络药理学分析心绞痛相关的靶点,构建灯盏生脉胶囊“化合物-靶点-疾病”网络,最终获得对治疗心绞痛起药效作用的化合物。本实验为进一步明确灯盏生脉胶囊药效物质基础和指导临床合理用药奠定了坚实的理论基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UHPLC-Q-Orbitrap 液相色谱-质谱联用系统; Ultimate 3000 超高效液相色谱(Dionex 公司,美国)串联 Q-Exactive 型高分辨质谱(Thermo Fisher Scientific 公司,美国); Waters ACQUITY UPLC®BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, Waters 公司,美国); Master-E 型超纯水机(上海和泰仪器有限公司); New Classic MS 型十万分之一分析天平(瑞士 Mettler Toledo 上海有限公司); MDS-6G 型多通量微波消解/萃取系统(上海新仪微波化学科技有限公司)。

1.2 试剂

灯盏生脉胶囊(云南生物谷药业股份有限公司,批号 Z20026439); 对照品琥珀酸(批号 MUST-17030502)、原儿茶酸(批号 MUST-16032112)、绿原酸(批号 MUST-16031610)、原儿茶醛(批号

MUST-15091608)、咖啡酸(批号 MUST-15090803)、阿魏酸(批号 MUST-15091605)、木犀草素(批号 MUST-16011015)、芹菜素(批号 MUST-16061301)、山柰酚(批号 MUST-16032801)、戈米辛 D(批号 MUST-17120902)、戈米辛 J(批号 MUST-17102802)、人参皂苷 Rg₃(批号 MUST-17030711)、五味子酚(批号 MUST-17040209)、五味子甲素(批号 MUST-17022401)、五味子乙素(批号 MUST-17031606)、五味子丙素(批号 MUST-17031816)均购于成都曼思特生物科技有限公司; 以上对照品经峰面积归一化质量分数大于 99%。甲酸、甲醇及乙腈为色谱纯级,美国 Fisher 公司; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 色谱及质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 以乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱: 0~1 min, 5% A; 1~5 min, 5%~35% A; 5~15 min, 35%~40% A; 15~25 min, 40%~50% A; 25~32 min, 50%~65% A; 32~42 min, 65%~100% A; 42~47 min, 100% A; 47~47.1 min, 100%~5% A; 47.1~50 min, 5% A; 体积流量为 0.2 mL/min; 进样量 5 μL; 柱温 40 °C。

2.1.2 质谱条件 UHPLC-Q Exactive 液质联用仪离子源采用 HESI 源(heated ESI), 辅助气体积流量为 10 arb, 辅助气温度为 300 °C, 离子传输管温度 320 °C; 正离子模式下: 鞘气体积流量为 40 arb, 喷雾电压为 3.50 kV; 负离子模式下: 鞘气体积流量为 38 arb, 喷雾电压为 2.80 kV。扫描方式为正、负离子 Full MS/dd-MS2 模式, 其中包括 1 次一级全扫描(分辨率为 70 000 FWHM)和 1 次数据依赖的二级扫描(分辨率为 17 500 FWHM) 2 个事件, 质荷比窗口宽度设置为 2, 碰撞能梯度为 20、50、100 eV, 扫描范围 m/z 80~1200。

2.2 供试品溶液的制备

取灯盏生脉胶囊 3 粒, 去壳后, 取内容物约 1.0 g, 精密称定后, 置于具塞锥形瓶中, 精密量取并加入纯甲醇 50 mL, 密塞并称定质量, 微波萃取(功率 600 W) 17 min, 摇匀后经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得样品溶液。

2.3 对照品溶液的制备

取各对照品约 1.0 mg, 精密称定后, 分别置于

10 mL 量瓶中, 加入纯甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 最终制备成质量浓度为 0.1 mg/mL 的单一对照品储备液; 分别精密量取上述单一对照品储备液适量, 将其混合后加入甲醇稀释, 最终制备成各对照品质量浓度均为 1 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.4 化合物结构分析

依照“2.1”项下优化后的色谱质谱条件进样后, 根据高分辨质谱提供的准分子离子和加荷离子等信息推测并得到各成分的精确相对分子质量, 经 Xcalibur 3.0 软件拟合分子式, 并与数据库进行比对, 以对各色谱峰进行初步推测, 再依据对照品、Mass Frontier 软件或参考文献、Mass Bank、Chemical Book 等数据库提供的保留时间及高能碰撞下产生的多级碎片离子信息, 进一步准确识别化学成分。

2.5 网络药理学分析

2.5.1 灯盏生脉胶囊成分-靶点预测 本研究以药物成分含量高低、是否为入血成分和文献报道有重要药理作用为依据进行生物活性成分筛选, 通过 ChemBioDraw Ultra 12.0 绘制各成分的结构并得到各化合物的 Smile 号、InChIkey 号等相关信息, 利用 TCMSp 数据库、STITCH 数据库查找各成分对应的相关靶点, 并剔除无相关靶点的成分。由于不同数据库对靶点命名存在不规范性, 故借助 Uniprot 数据库将所有靶点名称统一为官方基因名 (official gene symbol)。最后借助 Cytoscape 3.6.1 软件构建“灯盏生脉胶囊”活性成分-靶点相互作用网络, 以节点 (node) 表示成分和作用靶点, 以边 (edge) 表示成分与靶点间的相互作用^[7-9]。

2.5.2 心绞痛相关靶点的收集 以“angina”为检索词, 通过 OMIM 数据库、TDD 数据库、GAD 数据库、GeneCards 数据库、DigSee 数据库和 DisGenet 数据库对心绞痛相关靶点进行检索, 删除重复得到心绞痛相关的疾病靶点^[7-9]。

2.5.3 基于药物和疾病靶点交集网络的关键靶点筛选

(1) 蛋白互作 (protein protein interaction, PPI) 网络的构建: 通过借助 Cytoscape 3.6.1 软件中 BisoGenet 3.0.0 插件所包含的 Database of Interacting Proteins (DIP)、Biological General Repository for Interaction Datasets (BIOGRID)、Human Protein Reference Database (HPRD)、IntAct Molecular Interaction Database (INTACT)、Molecular Interaction Database (MINT)、Biomolecular Interaction Network Database (BIND) 等 6 种蛋白相

互作用关系数据库, 灯盏生脉胶囊“活性成分-靶点”的 PPI 网络和“疾病-靶点”的 PPI 网络得以构建。相关参数设置为: Organism: Homo sapiens (Human); Map input identifiers list to: Gene identifiers only; Data settings: Protein Protein Interaction, 勾选 DIP/BIOGRID/HRPD/INTACT/MINT/BIN^[7-9]。

(2) 关键靶点筛选: 利用 Cytoscape 软件中的 Merge 功能将两个 PPI 网络进行整合提取其交集网络, 并采用 NetworkAnalyzer 功能对网络做拓扑结构分析, 得到的网络连接度 (Degree) 值越高, 表明该节点在网络中越重要; 选择 Degree 大于其中位数两倍以上的节点作为关键候选靶点, 然后基于 CytoNCA 插件计算网络节点的 6 个拓扑特征值度中心性 (degree centrality, DC)、介度中心性 (betweenness centrality, BC)、接近中心性 (closeness centrality, CC)、特征向量中心性 (eigenvector centrality, EC)、网络中心性 (network centrality, NC) 和局部边连通性 (local average connectivity, LAC) 提取分析这些候选节点网络关系, 这 6 个拓扑结构特征值越大, 在网络中越重要, 选择以上 6 个特征值均大于其相应中位数的节点作为核心靶点^[7-9]。

3 结果

本研究鉴定得到黄酮类、木脂素类、酚酸类、皂苷类和其他类共 5 类 30 种化合物, 供试品溶液的总离子流图见图 1, 化合物质谱信息见表 1。

3.1 黄酮类

黄酮类化合物广泛分布于自然界的植物中, 是一类具有 C₆-C₃-C₆ 基本骨架、以 2-苯基色原酮为基本骨架衍生而来的化合物, 其在质谱条件下的裂解通常围绕三碳链进行, 具有相似的裂解规律。本

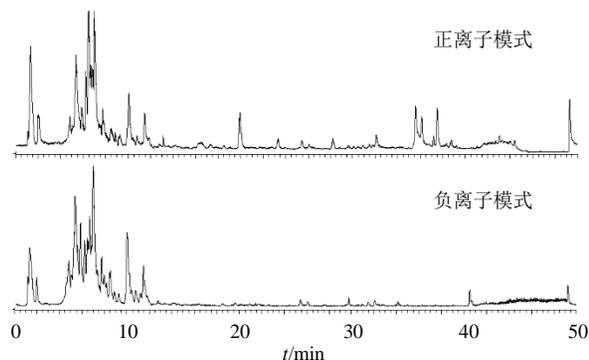


图 1 供试品溶液总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatography of test solution

表 1 灯盏生脉胶囊鉴定的成分

Table 1 Chemical components of Dengzhan Shengmai Capsules

序号	名称	分子式	离子 模式	t_R /min	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归 属
1	葡萄糖醛酸 ^[10]	C ₆ H ₁₀ O ₇	N	1.34	193.035 37	193.034 33	-5.418	193.03 [M-H] ⁻ , 175.02 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 157.01 [M-H-H ₂ O-H ₂ O] ⁻ , 131.02 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 113.02 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -H ₂ O] ⁻ , 85.03 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -H ₂ O-CO] ⁻	
2	苹果酸 ^[11]	C ₄ H ₆ O ₅	N	1.62	133.014 24	133.012 92	-9.937	133.01 [M-H] ⁻ , 115.00 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 89.02 [M-H-H-CO ₂] ⁻ , 71.01 [M-H-CO ₂ -H ₂ O] ⁻	
3	枸橼酸 ^[11]	C ₆ H ₈ O ₇	N	1.99	191.019 72	191.018 74	-5.161	191.02 [M-H] ⁻ , 173.01 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 129.02 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 111.01 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -H ₂ O] ⁻	
4	琥珀酸 ^R	C ₄ H ₆ O ₄	N	2.24	117.019 33	117.017 88	-12.408	117.02 [M-H] ⁻ , 99.01 [M-H-H ₂ O] ⁻ , 73.03 [M-H-CO ₂] ⁻	c
5	龙胆酸	C ₇ H ₆ O ₄	N	4.58	153.019 33	153.018 08	-8.182	153.02 [M-H] ⁻ , 109.03 [M-H-CO ₂] ⁻ , 91.02 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 81.03 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	
6	原儿茶酸 ^R	C ₇ H ₆ O ₄	N	4.75	153.019 33	153.018 05	-8.378	153.02 [M-H] ⁻ , 109.03 [M-H-CO ₂] ⁻ , 91.02 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 81.03 [M-H-CO ₂ -CO] ⁻	a, c
7	绿原酸 ^R	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	N	5.43	353.087 80	353.087 43	-1.063	353.09 [M-H] ⁻ , 191.06 [M-H-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 173.04 [M-H-H ₂ O-C ₉ H ₆ O ₃] ⁻ , 161.02 [M-H-H ₂ O-C ₇ H ₁₂ O ₆] ⁻ , 135.04 [M-H-H ₂ O-C ₇ H ₁₀ O ₆ -CO] ⁻ , 109.03 [M-H-H ₂ O-C ₇ H ₁₀ O ₆ -CO-C ₂ H ₂] ⁻	a
8	原儿茶醛 ^R	C ₇ H ₆ O ₃	P	5.53	139.038 97	139.038 60	-2.666	139.04 [M+H] ⁺ , 121.03 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 111.04 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 93.03 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 65.04 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺	a, c
9	邻苯二甲酸	C ₈ H ₆ O ₄	N	5.86	165.019 33	165.018 17	-7.041	165.02 [M-H] ⁻ , 137.02 [M-H-CO] ⁻ , 121.03 [M-H-H ₂ O-CO] ⁻ , 109.03 [M-H-H ₂ O-CO-CO] ⁻ , 93.03 [M-H-H ₂ O-CO-CO] ⁻ , 77.04 [M-H-H ₂ O-CO-CO] ⁻	
10	咖啡酸 ^R	C ₉ H ₈ O ₄	N	5.89	179.034 98	179.033 94	-5.820	179.03 [M-H] ⁻ , 135.04 [M-H-CO ₂] ⁻ , 117.03 [M-H-H ₂ O-CO ₂] ⁻ , 107.05 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -CO] ⁻ , 89.04 [M-H-H ₂ O-CO ₂ -H ₂ O-CO] ⁻	a, c
11	野黄芩苷 ^[12]	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	P	6.49	463.087 10	463.085 42	-3.633	463.09 [M+H] ⁺ , 287.05 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁺ , 269.04 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -H ₂ O] ⁺ , 241.05 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -H ₂ O-CO] ⁺ , 169.01 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₈ H ₆ O] ⁺ , 123.01 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₈ H ₆ O-CO] ⁺ , 119.05 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₇ H ₄ O ₅] ⁺ , 95.01 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₈ H ₆ O-CO-H ₂ O-CO] ⁺	a
12	阿魏酸 ^R	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	P	6.93	195.065 18	195.064 64	-2.796	195.07 [M+H] ⁺ , 177.05 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 149.06 [M+H-H ₂ O-CO] ⁺ , 145.03 [M+H-H ₂ O-CH ₃ OH] ⁺ , 117.03 [M+H-H ₂ O-CH ₃ OH-CO] ⁺ , 89.04 [M+H-H ₂ O-CH ₃ OH-CO-CO] ⁺	
13	灯盏甲素 ^[13]	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	P	6.99	447.092 18	447.090 55	-3.663	447.09 [M+H] ⁺ , 271.06 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆] ⁺ , 153.02 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₈ H ₆ O] ⁺ , 119.05 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₇ H ₄ O ₄] ⁺ , 91.05 [M+H-C ₆ H ₈ O ₆ -C ₇ H ₄ O ₄ -CO] ⁺	

续表 1

序号	名称	分子式	离子模式	t_R /min	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
14	咖啡酸甲酯 ^[14]	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	N	7.85	193.050 63	193.049 85	-4.051	193.05 [M-H] ⁻ , 178.03 [M-H-CH ₃] ⁻ , 161.02 [M-H-CH ₃ OH] ⁻ , 133.03 [M-H-CH ₃ OH-CO] ⁻ , 105.03 [M-H-CH ₃ OH-CO-CO] ⁻	a
15	水杨酸 ^[15]	C ₇ H ₆ O ₃	N	8.00	137.024 41	137.023 3	-9.395	137.02 [M-H] ⁻ , 93.03 [M-H-CO ₂] ⁻	c
16	木犀草素 ^R	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	P	8.46	287.055 01	287.053 89	-3.917	287.05 [M+H] ⁺ , 269.04 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 153.02 [M+H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ , 135.04 [M+H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁺ , 117.03 [M+H-C ₇ H ₄ O ₄ -H ₂ O] ⁺ , 89.04 [M+H-C ₇ H ₄ O ₄ -H ₂ O-CO] ⁺	a, c
17	咖啡酸乙酯 ^[14]	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	N	9.31	207.066 28	207.065 64	-3.101	207.07 [M-H] ⁻ , 179.03 [M-H-C ₂ H ₄] ⁻ , 161.02 [M-H-C ₂ H ₄ -H ₂ O] ⁻ , 135.04 [M-H-C ₂ H ₄ -CO ₂] ⁻ , 133.03 [M-H-C ₂ H ₄ -H ₂ O-CO] ⁻ , 121.03 [M-H-C ₂ H ₄ -CO ₂ -CH ₂] ⁻ , 105.03 [M-H-C ₂ H ₄ -H ₂ O-CO-CO] ⁻ , 93.03 [M-H-C ₂ H ₄ -CO ₂ -CH ₂ -CO] ⁻	a
18	芹菜素 ^R	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	P	10.03	271.060 09	271.058 81	-4.759	271.06 [M+H] ⁺ , 243.07 [M+H-CO] ⁺ , 229.05 [M+H-CO-H ₂ O] ⁺ , 153.02 [M+H-C ₈ H ₆ O] ⁺ , 145.03 [M+H-C ₆ H ₆ O ₃] ⁺ , 119.05 [M+H-C ₇ H ₄ O ₄] ⁺ , 91.05 [M+H-C ₇ H ₄ O ₄ -CO] ⁺	a
19	山柰酚 ^R	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	P	10.42	287.055 01	287.053 80	-4.231	287.05 [M+H] ⁺ , 165.02 [M+H-C ₇ H ₆ O ₂] ⁺ , 153.02 [M+H-C ₈ H ₆ O ₂] ⁺ , 121.03 [M+H-C ₈ H ₆ O ₄] ⁺	a, c
20	人参皂苷Ro ^[16]	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	P(Na)	11.06	979.487 30	979.482 97	-4.422	979.49 [M+Na] ⁺ , 641.40 [M+Na-C ₁₂ H ₁₈ O ₁₁] ⁺ , 361.07 [M+Na-C ₃₆ H ₅₈ O ₈] ⁺ , 269.06 [M+Na-C ₃₆ H ₅₈ O ₈ -C ₂ H ₄ O ₄] ⁺ , 185.04 [M+Na-C ₃₆ H ₅₈ O ₈ -C ₆ H ₈ O ₆] ⁺	c
21	乙酸松油酯 ^[17]	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	P	11.86	197.153 60	197.152 95	-3.330	197.15 [M+H] ⁺ , 179.14 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 161.13 [M+H-H ₂ O-H ₂ O] ⁺ , 137.13 [M+H-C ₂ H ₄ O ₂] ⁺ , 119.09 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-C ₃ H ₆] ⁺ , 105.07 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-C ₃ H ₆ -CH ₂] ⁺ , 95.09 [M+H-H ₂ O-H ₂ O-C ₅ H ₆] ⁺	d
22	戈米辛D ^R	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₀	P	22.02	531.222 47	531.220 64	-3.452	485.22 [M+H-CH ₂ O ₂] ⁺ , 401.16 [M+H-CH ₂ O ₂ -C ₃ H ₈ O] ⁺ , 383.15 [M+H-CH ₂ O ₂ -C ₃ H ₈ O-H ₂ O] ⁺ , 371.15 [M+H-CH ₂ O ₂ -C ₃ H ₈ O-CH ₂ O] ⁺ , 353.14 [M+H-CH ₂ O ₂ -C ₃ H ₈ O-CH ₂ O-H ₂ O] ⁺	d
23	戈米辛J ^R	C ₂₂ H ₂₈ O ₆	P	22.44	389.195 86	389.194 55	-3.379	389.20 [M+H] ⁺ , 357.17 [M+H-CH ₃ O] ⁺ , 325.14 [M+H-CH ₃ O-CH ₃ O] ⁺ , 319.12 [M+H-C ₃ H ₁₀] ⁺ , 287.09 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ OH] ⁺ , 259.10 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ OH-CO] ⁺ , 227.07 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ OH-CO-CH ₃ OH] ⁺ , 199.08 [M+H-C ₃ H ₁₀ -CH ₃ OH-CO-CH ₃ OH-CO] ⁺	d
24	人参皂苷Rg ₃ ^R	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	N	25.44	783.490 01	783.486 15	-4.934	783.49 [M-H] ⁻ , 621.44 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 459.39 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 375.29 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₂] ⁻ , 161.04 [M-H-C ₃₆ H ₆₂ O ₈] ⁻	c

续表 1

序号	名称	分子式	离子模式	t_R /min	理论值	实测值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	归属
25	人参皂苷 Rg ₂ ^[18]	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	N	26.06	783.490 01	783.485 96	-5.176	783.49 [M-H] ⁻ , 621.44 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 459.39 c [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₅] ⁻ , 375.29 [M-H-C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₀ O ₅ -C ₆ H ₁₂] ⁻ , 161.04 [M-H-C ₃₆ H ₆₂ O ₈] ⁻	
26	甲基麦冬黄酮 B ^[19]	C ₁₉ H ₁₈ O ₅	N	29.45	325.108 14	325.107 88	-0.821	325.11 [M-H] ⁻ , 310.09 [M-H-CH ₃] ⁻ , 281.08 [M-H-CH ₃ -CHO] ⁻ , 203.04 [M-H-C ₈ H ₁₀ O] ⁻ , 179.03 [M-H-C ₁₀ H ₁₀ O] ⁻ , 149.02 [M-H-C ₁₀ H ₁₀ O-CH ₂ O] ⁻ , 135.04 [M-H-C ₁₀ H ₁₀ O-CO ₂] ⁻	
27	五味子酚 ^[20]	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	P	30.92	403.211 51	403.210 14	-3.410	403.21 [M+H] ⁺ , 388.19 [M+H-CH ₃] ⁺ , 371.18 [M+H-CH ₃ OH] ⁺ , 356.16 [M+H-CH ₃ OH-CH ₃] ⁺ , 333.13 [M+H-C ₅ H ₁₀] ⁺ , 302.11 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O] ⁺ , 287.09 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃] ⁺ , 271.10 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O] ⁺ , 242.09 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O-CHO] ⁺ , 227.07 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O-CHO-CH ₃] ⁺	
28	五味子甲素 ^R	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	P	36.13	417.227 16	417.225 56	-3.847	417.23 [M+H] ⁺ , 402.20 [M+H-CH ₃] ⁺ , 386.21 [M+H-CH ₃ O] ⁺ , 347.15 [M+H-C ₅ H ₁₀] ⁺ , 316.13 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O] ⁺ , 301.11 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃] ⁺ , 285.11 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O] ⁺	
29	五味子乙素 ^R	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	P	37.52	401.195 86	401.194 67	-2.979	401.20 [M+H] ⁺ , 386.17 [M+H-CH ₃] ⁺ , 371.18 [M+H-CH ₂ O] ⁺ , 331.12 [M+H-C ₅ H ₁₀] ⁺ , 300.10 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O] ⁺ , 285.08 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃] ⁺ , 269.08 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₃ O-CH ₃ O] ⁺	
30	五味子丙素 ^R	C ₂₂ H ₂₄ O ₆	P	38.14	385.164 56	385.163 30	-3.284	385.16 [M+H] ⁺ , 355.15 [M+H-CH ₂ O] ⁺ , 315.09 [M+H-C ₅ H ₁₀] ⁺ , 285.08 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₂ O] ⁺ , 257.08 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₂ O-CO] ⁺ , 227.07 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₂ O-CO-CH ₂ O] ⁺ , 199.07 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₂ O-CO-CH ₂ O-CO] ⁺ , 184.05 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₂ O-CO-CH ₂ O-CO-CH ₃] ⁺ , 155.05 [M+H-C ₅ H ₁₀ -CH ₂ O-CO-CH ₂ O-CO-CH ₃ -CHO] ⁺	

R 表示经对照品比对 a-灯盏细辛 b-麦冬 c-人参 d-五味子 N-正离子模式 P-负离子模式 /-未归属

R means compounds by comparing with reference substance a-*Erigeron breviscapus*; b: *Ophiopogonis Radix*; c: *Ginseng*; d: *Schisandra chinensis*
N-negative mode P-positive mode /- not belong to any medicinal materials in Dengzhan Shengmai Capsules

实验共鉴定得到黄酮类化合物 5 种, 包括野黄芩苷(11)、木犀草素(16)、芹菜素(18)、山柰酚(19)及甲基麦冬黄酮 B(26)。

以总离子流图中 16 号峰为例, 该化合物在正离子模式下获得分子离子峰 287.05, 经 Xcalibur 软件拟合得到其对应分子式 C₁₅H₁₀O₆。通过分析其二级质谱谱图数据得到 269.04、153.02、135.04、117.03、89.03 等多个拥有较好响应的碎片离子峰, 分别对应

[M+H-H₂O]⁺、[M+H-C₈H₆O₂]⁺、[M+H-C₇H₇O₄]⁺、[M+H-C₇H₇O₄-H₂O]⁺和 [M+H-C₇H₇O₄-H₂O-CO]⁺。经与对照品保留时间及二级碎片离子信息进行对比, 并结合对应对照品化合物结构式进行验证, 最终确定 16 号峰对应化合物为木犀草素。木犀草素裂解途径见图 2。

3.2 木脂素类

药材五味子中富含木脂素类化合物, 此类木脂素

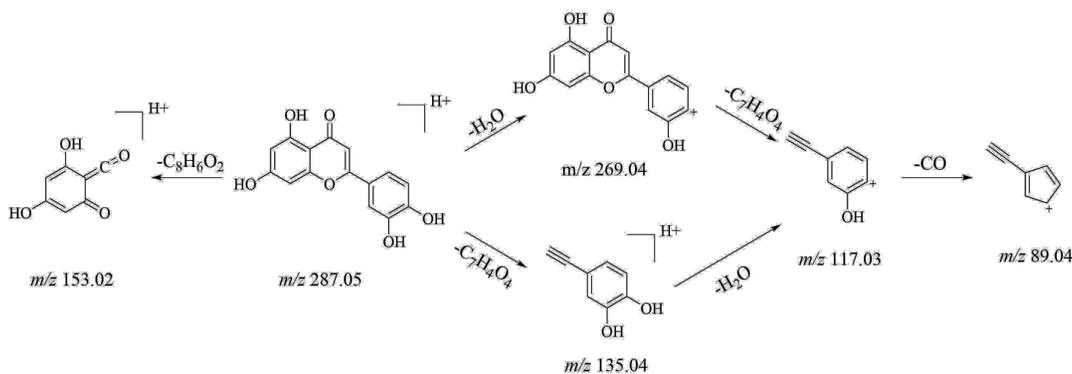


图2 木犀草素裂解途径

Fig. 2 Fragmentation pathway of luteolin

通常具有联苯环辛二烯结构，可在人体内发挥肝保护和抗氧化作用。本实验共鉴定出木脂素类化合物6种，包括戈米辛D(22)、戈米辛J(23)、五味子酚(27)、五味子甲素(28)、五味子乙素(29)、五味子丙素(30)。

以总离子流图中28号峰为例，该化合物在正离子模式下获得分子离子峰417.23，经Xcalibur软件拟合得到其对应分子式 $C_{24}H_{32}O_6$ 。通过分析其二级质谱谱图数据得到402.20、386.21、347.15、316.13、301.11、285.11等多个拥有较好响应的碎片离子峰，分别对应 $[M+H-CH_3]^+$ 、 $[M+H-CH_3O]^+$ 、 $[M+H-C_5H_{10}]^+$ 、 $[M+H-C_5H_{10}-CH_3O]^+$ 、 $[M+H-C_5H_{10}-CH_3O-CH_3]^+$ 、 $[M+H-C_5H_{10}-CH_3O-CH_3O]^+$ 。经与对照品保留时间及二级碎片离子信息进行对比，并结合对应对照品化合物结构式进行验证，最终确定28号峰对应化合物为五味子甲素。五味子甲素裂解途径见图3。

3.3 酚酸类

酚酸类化合物是在一个苯环上有多个酚羟基取代的芳香羧酸类化合物，其具有很强的抗氧化、抗菌消炎和调血脂等药理作用。本实验共鉴定出酚酸类化合物6种，包括龙胆酸(5)、原儿茶酸(6)、绿原酸(7)、咖啡酸(10)、阿魏酸(12)、水杨酸(15)。

以总离子流图中7号峰为例，该化合物在负离子模式下获得分子离子峰353.09，经Xcalibur软件拟合得到其对应分子式 $C_{16}H_{18}O_9$ 。通过分析其二级质谱谱图数据得到191.06、173.04、161.02、135.04、109.03等多个拥有较好响应的碎片离子峰，分别对应 $[M-H-C_9H_6O_3]^-$ 、 $[M-H-C_9H_6O_3-H_2O]^-$ 、 $[M-H-C_7H_{12}O_6]^-$ 、 $[M-H-C_7H_{10}O_6-CO]^-$ 、 $[M-H-C_7H_{10}O_6-CO-C_2H_2]^-$ 。经与对照品保留时间及二级碎片离子信息进行对比，并结合对应对照品化合物结构式进行验证，最终确定7号峰对应化合物为绿原酸。绿原酸的裂解途径见图4。

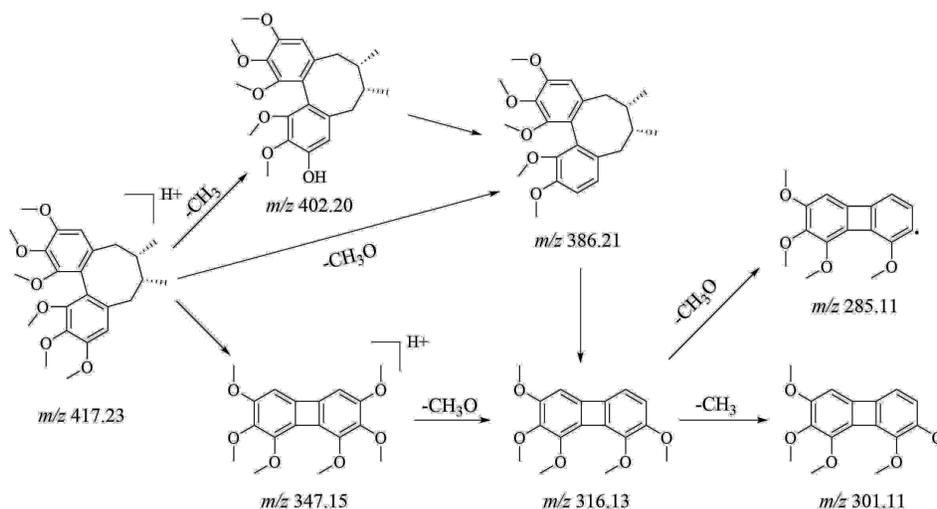


图3 五味子甲素裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathway of schizandrin A

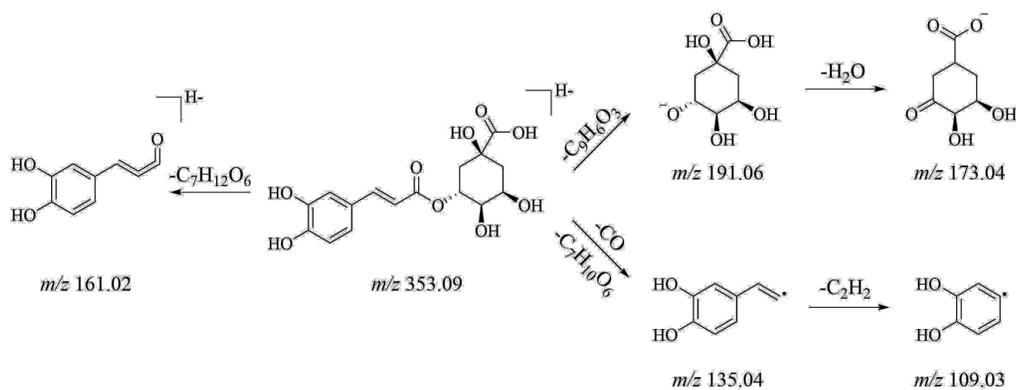


图4 绿原酸裂解途径

Fig. 4 Fragmentation pathway of chlorogenic acid

3.4 皂苷类

皂苷类化合物是苷元为三萜或螺旋甾烷类化合物的一类糖苷，其主要分布于陆地高等植物中，具有广泛的药理活性^[14]。本实验共鉴定出皂苷类化合物3种，包括人参皂苷R_o(**20**)、人参皂苷R_{g₃}(**24**)、人参皂苷R_{g₂}(**25**)。

以总离子流图中24号峰为例，该化合物在负离子模式下获得分子离子峰783.49，经Xcalibur软件拟合得到其对应分子式C₄₂H₇₂O₁₃。通过分析其二级质谱谱图数据得到621.44、459.39、375.29、161.04等多个拥有较好响应的碎片离子峰，分别对应[M-H-C₆H₁₀O₅]⁻、[M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₅]⁻、[M-H-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₀O₅-C₆H₁₂]⁻、[M-H-C₃₆H₆₂O₈]⁻。经与对照品保留时间及二级碎片离子信息进行对比，并结合对应对照品化合物结构式进行验证，最终确定24号峰对应化合物为人参皂苷R_{g₃}。

人参皂苷R_{g₃}的裂解途径见图5。

3.5 其他类

此外，本实验还从灯盏生脉胶囊中检测出葡萄糖醛酸、苹果酸、枸橼酸、琥珀酸、原儿茶醛、邻苯二甲酸、咖啡酸甲酯、咖啡酸、灯盏甲素、乙酸松油酯等，相关信息见表1。

3.6 网络药理学分析

3.6.1 灯盏生脉胶囊入血成分相关靶点 通过TCMSP数据库、STITCH数据库及SwissTarget Prediction数据库对灯盏生脉胶囊所含成分及相关靶点进行预测，共得到16个入血成分（琥珀酸、原儿茶酸、绿原酸、原儿茶醛、咖啡酸、阿魏酸、木犀草素、芹菜素、山柰酚、戈米辛D、戈米辛J、人参皂苷R_{g₃}、五味子酚、五味子甲素、五味子乙素、五味子丙素）及其相关255个作用靶点，并依此构建了灯盏生脉胶囊的“成分-靶点”相互作用网络图(图6)。

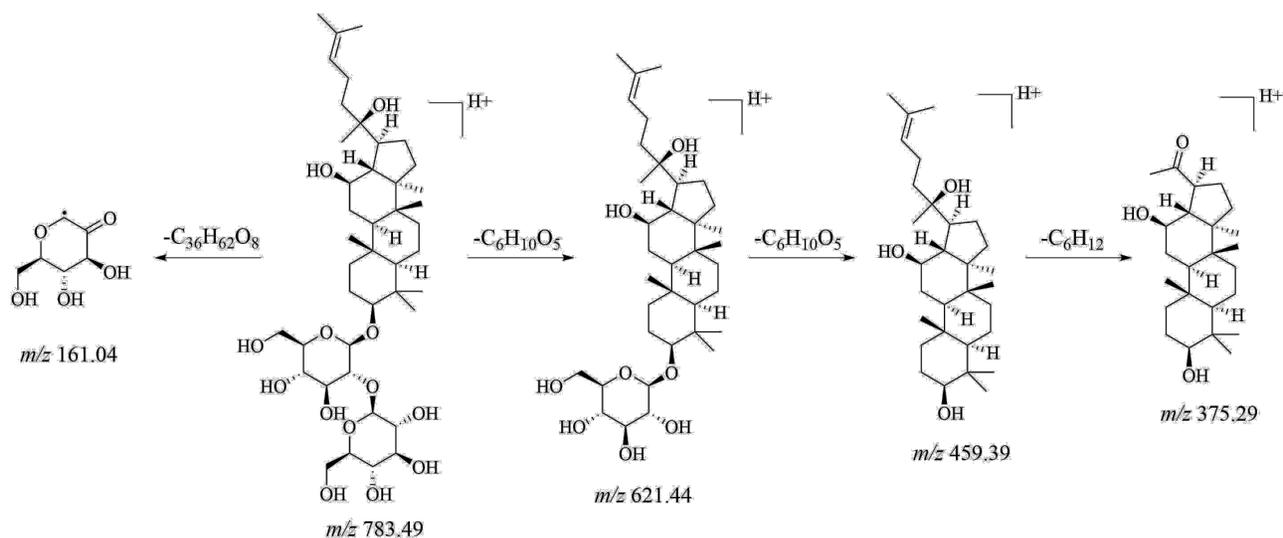


图5 人参皂苷R_{g₃}裂解途径

Fig. 5 Fragmentation pathway of ginsenoside R_{g₃}

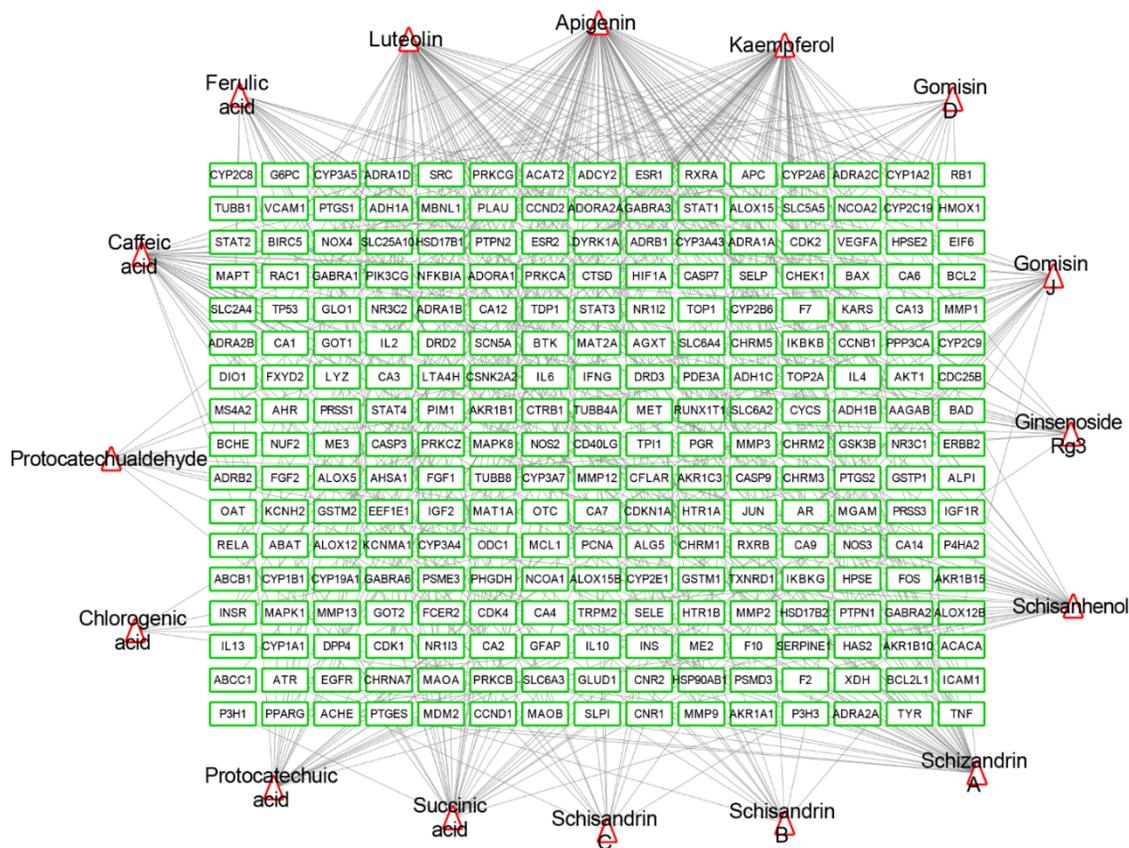


图 6 灯盏生脉胶囊入血成分“成分-靶点”网络图

Fig. 6 “Compound-Target” network of ingredients of Dengzhan Shengmai Capsules in blood

该网络包含 271 个节点和 500 条边，其中红色三角形代表 16 个入血成分，绿色矩形代表 255 个作用靶点。

3.6.2 PPI 网络的构建

(1) 灯盏生脉胶囊“入血成分-靶点”PPI 网络：灯盏生脉胶囊入血成分靶点的蛋白互作网络中包含 6787 个节点和 164 190 条边，表明有 6787 个相互作用蛋白及 164 190 种相互作用关系。

(2) 心绞痛相关“疾病-靶点”PPI 网络：利用 OMIM 数据库、TDD 数据库、GeneCards 数据库、Disgenet 数据库对心绞痛相关疾病靶点进行检索，删除重复后共得到 251 个作用靶点，并依此构建疾病靶点的蛋白互作网络。在心绞痛相关靶点蛋白互作网络中有 6643 个相互作用蛋白和 147 457 条相互作用关系。

3.6.3 核心靶点筛选 为了揭示灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的药理学机制，本研究将 251 个疾病相关靶点与 255 个成分相关作用靶点进行比对，共得到 36 个灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的潜在直接作用靶点，包括 MAPT、ADRB1、PLAU、TNF、SELP、NOS3、SLC6A2、AR、AKT1、VEGFA、MMP9、IL10、IL6、

TP53、MMP1、PPARG、HMOX1、ICAM1、IL2、IFNG、SLC2A4、CD40LG、MMP3、ESR1、SCN5A、F10、F7、SERPINE1、INS、NOS2、F2、SELE、VCAM1、NR3C2、HTR1B 和 KCNH2。

此外，将灯盏生脉胶囊“入血成分-靶点”的 PPI 网络与心绞痛“疾病-靶点”的 PPI 网络整合取交集，交集网络中共包含 4456 个节点和 120 926 条边；对交集网络进行拓扑结构分析，degree 值的中位数为 33，故选择 degree ≥ 66 (2 倍中位数值) 的节点作为候选靶点，最终共筛选得到 1089 个候选靶点；对候选靶点的相互作用网络进行提取分析，并以“BC、CC、EC、LAC、NC”分别大于其相应中位数为筛选条件，即 BC ≥ 439.461、CC ≥ 0.51、EC ≥ 0.019 3、LAC ≥ 17.961、NC ≥ 19.786，进一步筛选核心靶点，最终得到灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的核心靶点共 368 个。

3.6.4 灯盏生脉胶囊治疗心绞痛预测靶点富集分析 通过 DAVID 对灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的 368 个核心靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。图 7~9 显示了在生物过程、分子功能和细胞组件中排名前 20 的条目。

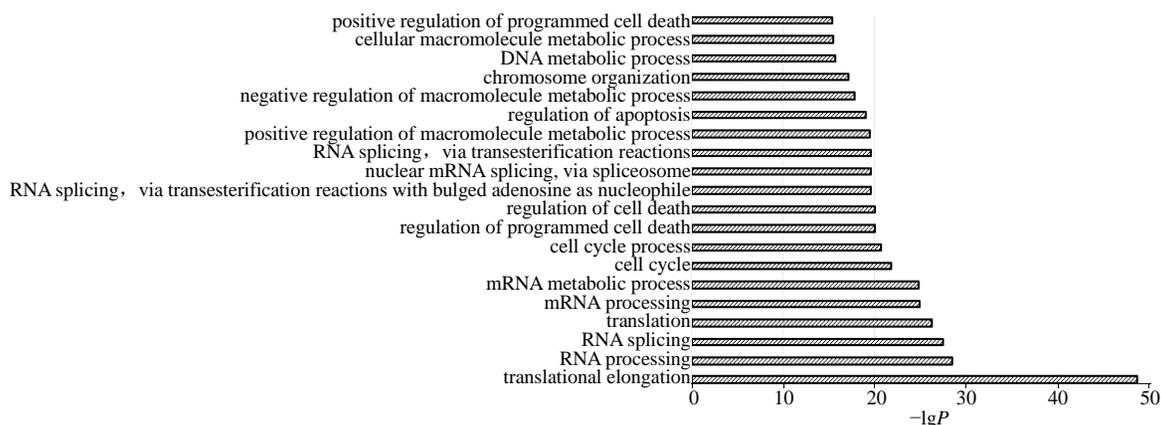


图 7 灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的核心靶点的生物过程 GO 分析

Fig. 7 Gene Ontology (GO) biological process analysis on key targets of Dengzhan Shengmai Capsules against angina

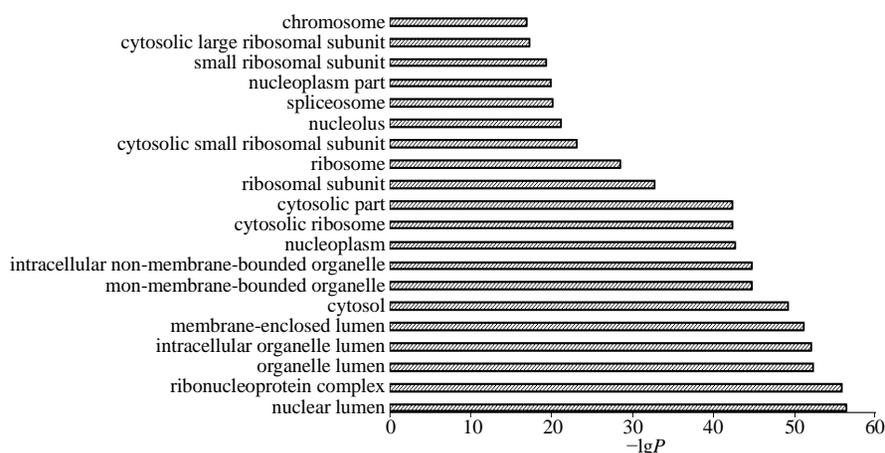


图 8 灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的核心靶点的细胞组件 GO 分析

Fig. 8 Gene Ontology (GO) cellular components analysis on key targets of Dengzhan Shengmai Capsules against angina

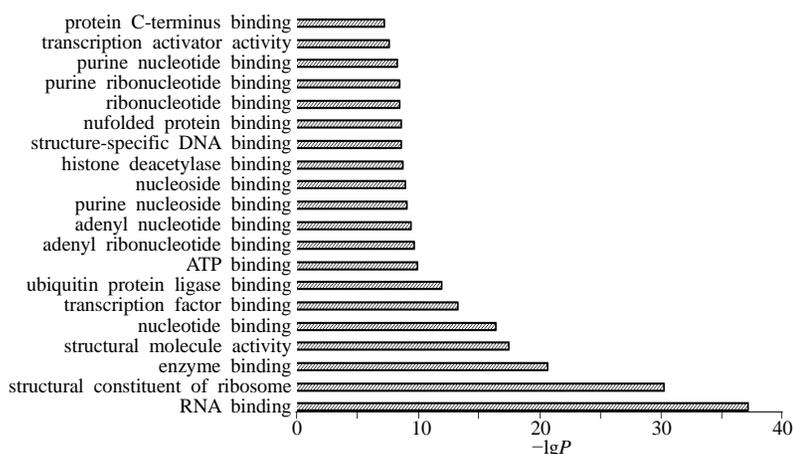


图 9 灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的核心靶点的分子功能 GO 分析

Fig. 9 Gene Ontology (GO) molecular function analysis on key targets of Dengzhan Shengmai Capsules against angina

KEGG 富集分析得到灯盏生脉胶囊对心绞痛有显著影响的通路,表 2 列出了 $P < 0.05$ 的 30 条显著富集

的通路,结果表明,灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的通路主要有 MAPK 信号通路、p53 信号通路等^[21-23]。

表2 KEGG富集分析
Table 2 KEGG enrichment analysis

条目	通路	数目	P 值	基因
hsa03010	ribosome	42	6.95×10^{-34}	<i>RPL18, RPL14, RPL13, RPL15, RPS15A, RPL38, RPS2, RPS3, RPS27, RPL7, RPL31, RPL6, RPS3A, RPLP0, RPLP1, RPL3, RPL10, RPL5, RPL11, RPL4, RPL7A, RPS20, RPS27A, RPSA, RPS9, RPL23A, RPL24, RPS6, RPS4X, RPS5, RPS8, RPS7, RPS18, RPS19, RPL23, RPL18A, RPS16, RPL22, RPS13, RPL37A, RPS10, RPS11</i>
hsa04110	cell cycle	32	4.04×10^{-16}	<i>YWHAZ, PRKDC, SFN, CDKN2A, RAD21, MCM7, MYC, CUL1, CDK1, CREBBP, YWHAB, TP53, SMAD3, SMAD2, RB1, MCM2, MCM3, YWHAE, CDK2, SMC3, MCM5, CDKN1A, YWHAG, HDAC2, EP300, HDAC1, GSK3B, YWHAQ, PCNA, MDM2, ABL1, SMC1A</i>
hsa03040	spliceosome	27	1.26×10^{-11}	<i>U2AF2, HSPA1A, HSPA1B, SF3B3, SF3B2, HSPAIL, PRPF19, HNRNPM, SF3B1, HNRNPK, PRPF8, PCBP1, DHX15, HNRNPC, SNRNP70, HSPA8, PRPF40A, MAGOH, SNW1, CDC5L, DDX5, SF3A1, RBMX, HNRNPA1, HNRNPU, EIF4A3, SNRNP200, PUF60</i>
hsa04722	neurotrophin signaling pathway	23	1.06×10^{-8}	<i>YWHAZ, GRB2, RELA, YWHAB, TP53, NFKBIA, NFKB1, YWHAE, AKT1, MAPK1, YWHAG, MAP3K3, JUN, GSK3B, MAP3K1, NTRK1, MAPK3, YWHAQ, SHC1, TRAF6, ABL1, IKBKB, CRK</i>
hsa04120	ubiquitin mediated proteolysis	23	7.02×10^{-8}	<i>VHL, BTRC, DDB1, CBL, PML, UBE2I, PARK2, STUB1, BRCA1, PRPF19, CUL3, CUL2, CUL5, CUL7, CUL4A, HUWE1, MAP3K1, MDM2, CUL4B, SMURF1, TRAF6, FBXW11, CUL1</i>
hsa04114	oocyte meiosis	20	1.76×10^{-7}	<i>CDK1, PPP2R1A, AR, YWHAZ, BTRC, YWHAB, AURKA, PPP1CC, YWHAE, CDK2, SMC3, MAPK1, PPP1CA, YWHAG, PPP2CA, MAPK3, YWHAQ, SMC1A, FBXW11, CUL1</i>
hsa04010	MAPK signaling pathway	30	3.26×10^{-6}	<i>TRAF2, GRB2, HSPA1A, NFKB1, HSPA1B, DAXX, HSPAIL, AKT1, TNFRSF1A, MAP3K3, MAP3K1, TRAF6, MYC, CHUK, HSPA8, PRKCA, EGFR, RELA, TP53, FLNA, MAPK1, ARRB2, ARRB1, JUN, NTRK1, IKBKG, MAPK3, HSPB1, MAP3K14, IKBKB, CRK</i>
hsa04012	ErbB signaling pathway	15	1.82×10^{-5}	<i>PRKCA, EGFR, GRB2, CBL, SRC, AKT1, MAPK1, CDKN1A, JUN, GSK3B, MAPK3, SHC1, ABL1, CRK, MYC</i>
hsa05130	pathogenic <i>Escherichia coli</i> infection	12	2.57×10^{-5}	<i>PRKCA, ACTG1, ACTB, YWHAZ, TUBB, YWHAQ, TUBA4A, ABL1, TUBA1A, NCL, TUBA1C, CTNNB1</i>
hsa04621	NOD-like receptor signaling pathway	12	5.84×10^{-5}	<i>HSP90AB1, MAPK1, HSP90B1, HSP90AA1, RELA, MAPK3, IKBKG, NFKBIA, NFKB1, TRAF6, IKBKB, CHUK</i>

续表 2

条目	通路	数目	P 值	基因
hsa04662	B cell receptor signaling pathway	13	7.76×10^{-5}	AKT1、MAPK1、GRB2、RELA、JUN、GSK3B、MAPK3、IKBKG、CD81、NFKBIA、NFKB1、IKBKB、CHUK
hsa04520	adherens junction	13	1.01×10^{-4}	EGFR、ACTG1、ACTB、MAPK1、EP300、MAPK3、CREBBP、SMAD3、SMAD2、IQGAP1、SRC、CTNNB1、VCL
hsa04510	focal adhesion	22	1.42×10^{-4}	PRKCA、EGFR、ACTB、GRB2、ITGA4、PPP1CC、PTEN、SRC、FLNA、PXN、CTNNB1、VCL、AKT1、ACTG1、MAPK1、PPP1CA、GSK3B、JUN、MAPK3、SHC1、CRK、FNI
hsa04622	RIG-I-like receptor signaling pathway	12	2.08×10^{-4}	TRAF2、IKBKE、DDX3X、TBK1、MAP3K1、RELA、IKBKG、NFKBIA、NFKB1、TRAF6、IKBKB、CHUK
hsa04660	T cell receptor signaling pathway	14	7.28×10^{-4}	AKT1、MAPK1、GRB2、GSK3B、JUN、RELA、CBL、MAPK3、IKBKG、NFKBIA、NFKB1、MAP3K14、IKBKB、CHUK
hsa03030	DNA replication	8	7.56×10^{-4}	RPA1RPA2、MCM7、PCNA、MCM2、MCM3、MCM5、RPA3
hsa04350	TGF-beta signaling pathway	12	1.23×10^{-3}	MAPK1、PPP2R1A、EP300、SP1、PPP2CA、MAPK3、CREBBP、SMAD3、SMAD2、SMURF1、MYC、CUL1
hsa04210	Apoptosis	12	1.23×10^{-3}	AKT1、TRAF2、TNFRSF1A、RELA、NTRK1、IKBKG、TP53、NFKBIA、NFKB1、IKBKB、MAP3K14、CHUK
hsa04620	Toll-like receptor signaling pathway	13	1.30×10^{-3}	AKT1、MAPK1、IKBKE、TBK1、JUN、RELA、MAPK3、IKBKG、NFKBIA、NFKB1、TRAF6、IKBKB、CHUK
hsa04310	Wnt signaling pathway	16	2.16×10^{-3}	PRKCA、PPP2R1A、BTRC、CREBBP、TP53、SMAD3、SMAD2、CTNNB1、EP300、GSK3B、JUN、PPP2CA、RUVBL1、FBXW11、MYC、CUL1
hsa04920	adipocytokine signaling pathway	10	2.23×10^{-3}	AKT1、TRAF2、TNFRSF1A、RELA、IKBKG、NFKBIA、NFKB1、IKBKB、CHUK、STAT3
hsa05120	epithelial cell signaling in helicobacter pylori infection	10	2.47×10^{-3}	EGFR、RELA、JUN、IKBKG、NFKBIA、NFKB1、IKBKB、MAP3K14、CHUK、SRC
hsa05218	melanoma	10	3.34×10^{-3}	EGFR、AKT1、MAPK1、CDKN1A、CDKN2A、MAPK3、TP53、MDM2、RBI、PTEN
hsa03050	proteasome	8	3.79×10^{-3}	PSMC5、PSMA6、PSMD11、PSMC2、PSMA3、PSMD1、PSMD2、PSMD4
hsa04540	gap junction	11	4.90×10^{-3}	PRKCA、EGFR、CDK1、MAPK1、TUBB、GRB2、MAPK3、TUBA4A、TUBA1A、TUBA1C、SRC
hsa04062	chemokine signaling pathway	17	6.89×10^{-3}	GRB2、RELA、NFKBIA、NFKB1、STAT3、PXN、AKT1、MAPK1、ARRB2、ARRB1、GSK3B、IKBKG、MAPK3、SHC1、IKBKB、CRK、CHUK
hsa04623	cytosolic DNA-sensing pathway	8	9.13×10^{-3}	IKBKE、TBK1、RELA、IKBKG、NFKBIA、NFKB1、IKBKB、CHUK
hsa03420	nucleotide excision repair	7	1.11×10^{-2}	RPA1、RPA2、CUL4A、DDB1、PCNA、CUL4B、RPA3
hsa04115	p53 signaling pathway	8	2.72×10^{-2}	CDK1、CDKN1A、CDKN2A、TP53、MDM2、SFN、PTEN、CDK2
hsa04910	insulin signaling pathway	12	3.20×10^{-2}	AKT1、MAPK1、PPP1CA、GRB2、GSK3B、CBL、MAPK3、SHC1、PPP1CC、IKBKB、RPS6、CRK

4 讨论

灯盏生脉胶囊对心绞痛疗效确切,但对其药效物质的相关研究匮乏,限制了对其在临床上精准用药的指导。本实验通过对灯盏生脉胶囊进行定性分析,共鉴定得到31种化合物,包括黄酮类化合物5种、木脂素类化合物6种、酚酸类化合物6种、皂苷类化合物3种和其他类10种。通过网络药理学对其中16个入血成分进行分析,共得到灯盏生脉胶囊治疗心绞痛的368个核心靶点及MAPK信号通路和p53信号通路等主要通路,充分体现了中药多成分、多靶点、多通路协同作用发挥治疗效果的特点。本实验为探索灯盏生脉胶囊药效物质基础提供了新的思路,并为指导临床合理用药提供了科学的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 871-872.
- [2] 赵芳, 付金凤. 灯盏生脉胶囊的鉴别研究 [J]. 黑龙江医药, 2009, 22(2): 130-131.
- [3] 陈雄, 申锦林, 邹岳萍. 灯盏生脉胶囊的临床应用研究进展 [J]. 中医药导报, 2011, 17(9): 93-95.
- [4] 喻露, 阿依努尔, 杜泽慧, 等. 灯盏生脉胶囊对血管性认知功能障碍患者的疗效及部分机制 [J]. 世界中医药, 2019, 14(8): 2109-2112.
- [5] 陈海彬, 周红光, 李文婷, 等. 网络药理学: 中药复方作用机制研究新视角 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(7): 2873-2876.
- [6] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇 [J]. 药学学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [7] 张霞, 张芳, 赵建军, 等. 甘草中黄酮类化合物的网络药理学研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(11): 1529-1534.
- [8] 孙志, 左莉华, 师莹莹, 等. 冠心舒通胶囊治疗冠心病的“成分-靶点-通路”研究 [J]. 中国药学杂志, 2019, 54(3): 200-207.
- [9] 贺丰, 朱立国, 赵赫, 等. 基于网络药理学的“川芎-延胡索”药对作用机制研究 [J]. 世界中医药, 2019, 14(10): 2582-2587.
- [10] 罗林明, 石雅宁, 姜懿纳, 等. 人参抗肿瘤作用的有效成分及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 582-596.
- [11] 张金秋. 人参加工过程中有机酸和氨基酸对人参皂苷降解的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2015.
- [12] 郭欣, 林珊, 吴丽明, 等. 灯盏细辛化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41(2): 393-402.
- [13] 刘光丽, 徐文龙, 王张. HPLC法同时测定灯盏细辛注射液中10种成分 [J]. 中成药, 2017, 39(12): 2521-2524.
- [14] 任琦, 王义明, 罗国安. 灯盏细辛研究进展 [J]. 江西中医学院学报, 2012, 24(4): 97-100.
- [15] 张浩. 人参活性成分蛋白质、氨基酸、有机酸及核苷类成分研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [16] 杨秀伟, 王洪平, 徐崑, 等. 不同产地人参根和根茎中人参皂苷的含量分析 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(1): 30-36.
- [17] 吴建国, 董礼, 李梅, 等. GC法测定用于生脉注射液中五味子药材挥发性成分指纹图谱的建立 [J]. 中国中医急症, 2018, 27(5): 817-819, 823.
- [18] 王世伦, 金键. 人参主要化学成分及皂苷提取方法研究进展 [J]. 人参研究, 2019, 31(3): 54-57.
- [19] 彭婉, 马骁, 王建, 等. 麦冬化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 477-488.
- [20] 陈舒舒, 石婧婧, 邹立思, 等. UFLC-Q-TRAP-MS/MS同时测定五味子中木脂素及有机酸类成分 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(10): 2104-2111.
- [21] 李园, 王连心, 谢雁鸣. 注射用丹参多酚酸盐联合阿司匹林治疗稳定型心绞痛机制的生物分子网络研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(24): 4521-4532.
- [22] 羊暑艳, 万沁. MDM2/p53通路与心血管疾病的研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(22): 3379-3381.
- [23] 常宏, 田立茹, 李佳凝, 等. p53信号通路在心衰衰竭中的作用机制 [J]. 华北理工大学学报: 医学版, 2019, 21(1): 76-80.

[责任编辑 王文倩]