

整合文献计量学、血清药物化学及网络药理学辨识经典名方化肝煎关键质量属性研究

聂欣¹, 庞兰¹, 鲜静¹, 张星¹, 赵晨希², 章津铭^{1*}, 傅超美^{1*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 安徽誉隆亚东药业有限公司, 安徽 亳州 236800

摘要: **目的** 基于有效性初步辨识化肝煎治疗胃炎的关键质量属性。**方法** 通过文献计量学分析探析化肝煎主要临床适应证;采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 技术对化肝煎体外化学成分及体内入血移行成分进行分析鉴定;使用 Cytoscape 软件,构建化肝煎“入血成分-胃炎靶点-通路”网络图,通过拓扑学分析,得到网络中与主要临床适应证密切相关的核心功效成分。结合文献数据支撑,确定化肝煎的关键质量属性。**结果** 化肝煎临床上主要用于治疗各种类型的胃炎。体外共鉴定出化肝煎中泽泻醇 B、贝母辛、圣草次苷、苯甲酰氧化芍药苷等 75 个成分,体内共检测到 16 个化肝煎入血原型成分,分别为莽草酸、丹皮酚、芍药苷、牡丹皮苷 E、西贝母碱、贝母素甲、贝母素乙、贝母辛、对羟基苯甲酸、香风草苷、香草乙酮、6-去甲基桔皮素、甜橙黄酮、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素。化肝煎治疗胃炎涉及 AKT1、TNF、VEGFA、MAPK1、EGFR 等 95 个潜在靶点,可能通过调控 C 型凝集素受体、PI3K-Akt、白细胞介素-17、肿瘤坏死因子等信号通路发挥治疗作用。甜橙黄酮、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素、丹皮酚、芍药苷作为化肝煎的关键质量属性。**结论** 辨识的化肝煎关键质量属性可为经典名方复方制剂研发提供依据。

关键词: 化肝煎;文献计量学;血清药物化学;网络药理学;关键质量属性;胃炎;UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS;C 型凝集素受体;磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶;白细胞介素-17;肿瘤坏死因子;甜橙黄酮;3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮;川陈皮素;丹皮酚;芍药苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)02-0382-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.02.008

Integrated bibliometrics, serum pharmacochimistry and network pharmacological analysis used to preliminarily identify critical quality attributes of classic prescription Huaganjian

NIE Xin¹, PANG Lan¹, XIAN Jing¹, ZHANG Xing¹, ZHAO Chen-xi², ZHANG Jin-ming¹, FU Chao-mei¹

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Anhui Yulong Yadong Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

Abstract: **Objective** The critical quality attributes of Huaganjian (化肝煎) were preliminarily identified according to efficacy. **Methods** The principal clinical indications of Huaganjian were analyzed by bibliometrics. UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS was used to identify chemical components of Huaganjian and migrating components absorbed into blood. A network of Huaganjian that involved migrating components, gastritis targets, and signal pathways was constructed. Topological analysis was performed to recognize the core active ingredients closely related to gastritis treatment in the network, combined with relevant literature, critical quality attributes of Huaganjian were confirmed. **Results** Huaganjian was always used to treat various types of gastritis. A total of 75 chemical components of Huaganjian were identified, such as alisol B, peimisine, eriocitrin, benzoyloxypaeoniflorin and so on. Sixteen prototype components, including shikimic acid, paeonol, paeoniflorin, mudanpioside E, imperline, peimine, peiminine, peimisine, 4-hydroxybenzoic acid, didymin, acetovanillone, 6-demethoxytangeretin, sinensetin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3',4'-

收稿日期: 2021-08-02

基金项目: 四川省科技厅计划项目—重点研发项目(2020YFS0567)

作者简介: 聂欣, 硕士, 从事中药新制剂和新剂型研究。E-mail: niexin@stu.cdutcm.edu.cn

*通信作者: 章津铭, 教授, 从事中药新制剂和新剂型研究。E-mail: cducmzjm@126.com

傅超美, 教授, 从事中药新制剂和新剂型研究。E-mail: chaomeifu@126.com

heptamethoxyflavone, tangeritin, absorbed into blood were associated with 95 potential targets (AKT1, TNF, VEGFA, MAPK1, EGFR, etc.) of gastritis treatment. Huaganjian may exert therapeutic effects by modulating PI3K-Akt signaling pathway, C-type lectin receptor signaling pathway, interleukin-17 signaling pathway, and tumor necrosis factor signaling pathway and so on. Sinensetin, 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavonoid, nobiletin, paeonol and paeoniflorin were determined as the critical quality attributes of Huaganjian. **Conclusion** The critical quality attributes of Huaganjian identified in this study can provide a basis for the research and development of compound preparation.

Key words: Huaganjian; bibliometrics; serum pharmacochimistry; network pharmacological analysis; critical quality attributes; gastritis; UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS; C-type lectin receptor; PI3K-Akt; interleukin-17; tumor necrosis factor; sinensetin; 3,5,6,7,8,3',4'-heptamethoxyflavonoid; nobiletin; paeonol; paeoniflorin

《人用药物注册技术要求国际协调委员会药物研发指导原则》(ICHQ8)中提出,药品关键质量属性(critical quality attributes, CQA)是在适当的限度、范围或分布之内的物理、化学、生物或微生物性质或特征,用以保证产品质量^[1]。CQA 贯穿经典名方制剂研发到临床应用的整个生命周期, CQA 的辨识可为经典名方制剂制备工艺评价和全过程质量控制研究提供依据^[2]。目前经典名方 CQA 的辨识仅基于化学轮廓表征以及指标成分含量测定,未关联其成分有效性^[3]。而经典名方源于临床,用于临床,其核心生命力在于临床疗效。因此,要在保证疗效前提下,提取和确认经典名方的 CQA。

中药复方在不同的病理状态下药效取向不同,表达的药效物质不同,因此挖掘临床应用信息对 CQA 的辨识至关重要。然而经典名方临床应用历史悠久,在研发过程中应注重缕清历代发展脉络,尊重历史演变规律,在“遵古”的基础上充分考虑当前实际临床应用情况,古为今用,推动经典名方服务现代临床。因此,本实验拟采用文献计量学寻找经典名方优势适应证,为基于有效性辨识经典名方 CQA 辨识奠定基础。目前,诸多研究采用质谱技术分析中药复方提取物主要化学成分并结合网络药理学方法预测有效成分^[4-5]。此研究方法存在一定的局限性。虽然中药成分复杂多样,但是只有被吸收入血的成分才能够最大程度发挥其药效作用。中药血清药物化学是通过口服给药后,按照“中药复杂化学成分-血中移行成分-体内直接作用物质-药效物质基础”的研究思路,对血中移行成分进行鉴定分析的方法,目前被认为是最符合人体药动学的药效物质筛选方法。因此,本研究拟采用血清药物化学对经典名方潜在的药效物质基础进行筛选,采用网络药理学对经典名方的有效成分进行预测。

本实验的研究对象化肝煎始记载于明代医家张景岳所著《景岳全书》,善解肝气之郁,平气逆而散

郁火^[6],被列于国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录(第一批)》中,编号:62^[7]。本研究拟通过应用科学文献可视化分析软件 CiteSpace 5.7.R3 软件对化肝煎文献进行文献计量学分析,考证其主要临床适应证,在此基础上,整合血清药物化学、网络药理学,辨识化肝煎的 CQA,为好“方”转化为好“药”奠定基础。本研究辨识的 CQA,可为经典名方化肝煎制剂制备工艺评价和全过程质量控制研究提供依据。本研究建立的质量控制指标筛选模式,可为其他经典名方研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Zorbax Eclipse Plus 色谱柱(100 mm×3.1 mm, 1.8 μm),美国 Agilent 公司;UltiMate 3000 型高效液相色谱仪、Q-Exactive Orbitrap-MS 质谱仪,美国 Thermo Fisher 科技公司;AR224CN 电子天平,万分之一,奥豪斯仪器(常州)有限公司;CPA225D 电子天平,十万分之一,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.2 试药

化肝煎 7 味药饮片均购自四川省新荷花中药饮片股份有限公司,具体产地及批号信息见表 1。

对照品 23-乙酰泽泻醇 B(CAS 号 26575-95-1,批号 wkq16040904)、槲皮素(CAS 号 117-39-5,批号 wkq20061112)、苯甲酰芍药苷(CAS 号 38642-49-8,批号 wkq19012812)、贝母素乙(CAS 号 18059-10-4,批号 wkq20042003)、贝母素甲(CAS 号 23496-41-5,批号 wkq20020303)、没食子酸(CAS 号 149-91-7,批号 wkq19010307)、绿原酸(CAS 号 327-97-9,批号 wkq19010201)、柚皮苷(CAS 号 10236-47-2,批号 wkq18031209)、辛弗林(CAS 号 94-07-5,批号 wkq20012307)、栀子苷(CAS 号 24512-63-8,批号 wkq19011702)、芍药苷(CAS 号 23180-57-6,批号 wkq19013007)、丹皮酚(CAS 号

表 1 化肝煎中各饮片基原及批号信息

Table 1 Information about plant origin and batch number of decocting pieces in Huaganjian

饮片	基原	产地	批号
陈皮	芸香科柑橘属植物橘 <i>Citrus reticulata</i> Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮	四川	1907057
青皮	芸香科柑橘属植物橘及其栽培变种的干燥幼果或未成熟果实的果皮	四川	1812088
白芍	毛茛科芍药属植物芍药 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall. 的干燥根	安徽	1905073
牡丹皮	毛茛科芍药属植物牡丹 <i>P. suffruticosa</i> Andr. 的干燥根皮	安徽	1907038
炒栀子	茜草科栀子属植物栀子 <i>Gardenia jasminoides</i> Ellis 的干燥成熟果实	江西	1907021
泽泻	泽泻科泽泻属植物泽泻 <i>Alisma orientale</i> (Sam.) Juzep. 的干燥块茎	四川	1906083
浙贝母	百合科贝母属植物浙贝母 <i>Fritillaria thunbergii</i> Miq. 的干燥鳞茎	浙江	1908027

552-41-0, 批号 wkq18042001)、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮(CAS 号 1178-24-1, 批号 wkq19010710)、甜橙黄酮(CAS 号 2306-27-6, 批号 wkq19021405)、橙皮苷(CAS 号 520-26-3, 批号 wkq19013105)、香蜂草苷(CAS 号 14259-47-3, 批号 wkq19010204), 以上对照品购自四川省维克奇生物科技有限公司; 对照品芸香柚皮苷(CAS 号 14259-46-2, 批号 MUST-18030408) 购自成都曼思特生物科技有限公司; 对照品川陈皮素(CAS 号 478-01-3, 批号 CHB-C-047) 购自成都克洛玛生物科技有限公司; 各对照品质量分数均 $\geq 98\%$ 。色谱纯乙腈, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 色谱纯甲酸、无水乙醇, 成都市科隆化学品有限公司; 屈臣氏超纯水, 广州屈臣氏食品饮料有限公司。

1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量(200 $\pm$ 20) g, 共 3 只, 购于重庆恩斯维尔生物科技有限公司, 动物的许可证号 SCXK(湘)2019-0004, 所有动物实验遵循成都中医药大学有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 文献计量学研究化肝煎主要临床适应证

以化肝煎为主题(精确)对 CNKI 数据库进行检索, 以 Refworks 的格式, 将纳入研究的文献导出, 并使用 CiteSpace 5.7.R3 软件自带的格式转换工具完成数据的格式转换。设置软件时间分区自 1982 至 2021 年, 每年 1 个分区, 节点类型为关键词, 阈值设置为 50, 剪切方式选择修剪片段网络法, 对文献数据进行可视化分析, 生成关键词共现图谱。为了更加具体了解化肝煎临床应用现状, 本研究采用 Excel 进一步对化肝煎临床研究文献进行了统计分析。

共检索出文献 280 篇, 通过人工方法筛选出 130 篇相关文献作为研究对象。对纳入研究的 130 篇文献进行分类。经分析发现, 仅有 5 篇为药理学试验性文章, 57 篇为医家经验体会, 68 篇为临床研究。关键词作为学术论文的重要组成部分和精髓, 其关键词共现能够敏锐、直接地反映出某一领域的研究热点与前沿^[8-9]。以化肝煎相关研究关键词为网络节点, 分析生成 316 个节点、706 条连线、网络密度为 0.014 2 的关键词共现图谱。由图 1 可知, 化肝煎文献中的关键词多与胃相关, 研究主要集中于胃部疾病, 化肝煎研究热点主要集中在“肝胃郁热证”“炎症因子”“胆汁返流性胃炎”“胃肠激素”等方面。

化肝煎用于治疗胃病的临床研究文献占比为 75%, 其中化肝煎治疗胃炎的临床研究文献占治疗胃病临床研究文献的 68.6%。由图 2 可知化肝煎临床上常施用于治疗各种类型胃炎, 如胆汁返流性胃



图 1 化肝煎研究关键词共现图谱

Fig. 1 Keywords co-occurrence network based on Huaganjian research

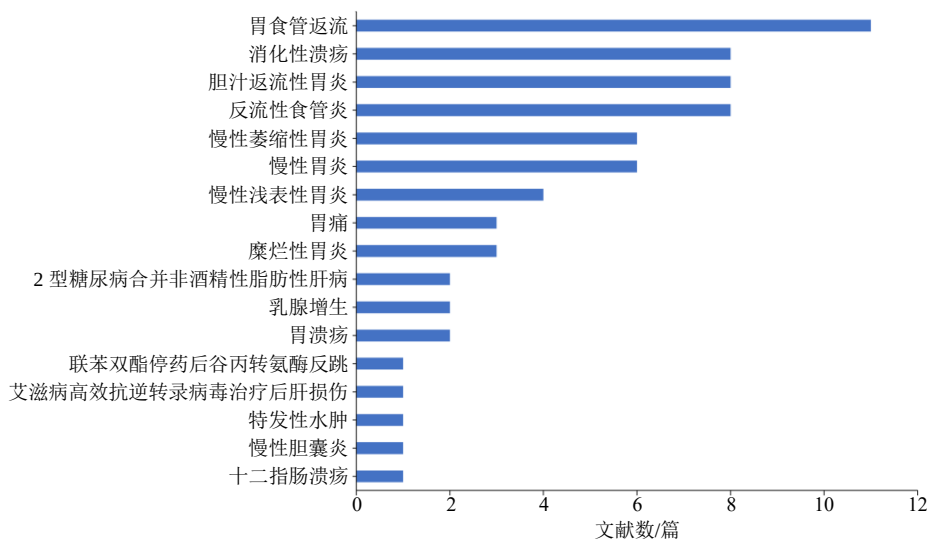


图 2 化肝煎临床研究文献统计分析

Fig. 2 Statistical analysis of clinical research literatures of Huaganjian

炎、慢性萎缩性胃炎、糜烂性胃炎、慢性浅表性胃炎等。临床研究表明，化肝煎能中和胃酸、促进胃黏膜修复、提高血清胃动素、胃泌素和胃蛋白酶原 I/II (PG I/II) 水平。

2.2 化肝煎血清药物化学研究

2.2.1 化肝煎供试品溶液的制备 按课题组前期考查所得的制备方法制备化肝煎基准样品^[10]。精密称定化肝煎基准样品 0.5 g，置 100 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 50 mL 甲醇，密塞，称定质量，采用功率 250 W、频率 50 kHz 超声处理 30 min，放冷，再次称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，采集续滤液，即得化肝煎供试品溶液。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取川陈皮素、23-乙酰泽泻醇 B、槲皮素、苯甲酰芍药苷、贝母素乙、贝母素甲、绿原酸、没食子酸、辛弗林、芸香柚皮苷、柚皮苷、梔子苷、芍药苷、丹皮酚、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、橙皮苷、甜橙黄酮、香蜂草苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度分别为 108.2、101.6、96.7、102.1、101.3、103.4、108.6、104.7、103.1、108.7、107.5、102.9、104.3、158.1、113.5、151.7、80.6、90.7 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液，取上述 18 种对照品溶液各 100 μL ，置于 5 mL 量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀，即得混合对照品溶液。

2.2.3 化肝煎灌胃液的制备 取化肝煎基准样品适量，精密称定，加纯水制成含生药 3.172 0 g/mL 的灌胃溶液。

2.2.4 血清样本的制备 3 只大鼠适应性饲养 1 周后，按照 10 mL/kg，在大鼠禁食不禁水 24 h 后，ig

给予化肝煎灌胃液，给药剂量为生药 31.72 g/kg (按 60 kg 成人日服药量 50.355 0 g，根据体表面积换算成大鼠的等效剂量为 0.528 7 g/kg，为获得血中移行成分的清晰识别，根据前期预试验结果，最终确定将给药剂量扩大至 6 倍)，给药 60 min 后，腹主动脉取血，置于离心管中，3500 r/min 离心 15 min (离心半径 60 mm)，取上清液得血清。为了消除大鼠间的个体差异，将 3 只大鼠的血清进行等量取样合并处理。向混合血清中加入 3 倍量乙腈沉淀蛋白，置涡旋仪中涡旋 5 min，以 12 000 r/min 离心 10 min (离心半径 60 mm)，取上清液，置 N2 仪上挥干溶剂，再加 1 mL 流动相复溶，涡旋 5 min，以 12 000 r/min 离心 15 min (离心半径 60 mm)，取上清液，进样分析。

2.2.5 色谱条件 色谱仪为 Ultimate 3000 超高效液相色谱仪；色谱柱为 Zorbax Eclipse Plus 柱 (100 mm $\times$ 3.1 mm, 1.8 μm)；流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈，梯度洗脱：0~35 min，5%~95% 乙腈；35~40 min，95% 乙腈；柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ ；体积流量为 0.4 mL/min；进样体积为 5 μL 。

2.2.6 质谱条件 离子源为 HESI 源-可加热电喷雾电离源，正、负离子双重检测模式，喷雾电压为 -3.0 kV、+3.5 kV，氮气作为辅助气和鞘气，辅助气为 10 arb，鞘气为 35 arb；离子传输管和辅助气的温度分别为 320、350 $^{\circ}\text{C}$ ；扫描模式设定为 Full MS/dd-MS²；Full MS 以及 dd-MS² 的分辨率分别为 35 000、17 500；扫描范围 m/z 100~1500；MS/MS 模式时，所使用碰撞能量为 20、40、60 eV。

2.2.7 数据分析方法 在 Compound Discoverer 3.0 软件中导入采集得到的原始数据, 对数据进行峰对齐和峰提取, 通过提取得到的分子离子色谱峰、同位素峰拟合出可能的分子式, 将所得结果与 mz Vault、mz Cloud 数据库进行匹配后, 设置参数对匹配结果进行过滤: 峰面积阈值为 80 000, 一级及二级质量偏差 $\leq 5 \times 10^{-6}$, 匹配度分值 ≥ 80 。使用 Xcalibur 3.0 软件, 根据一级精确荷质比、二级的碎片数据信息及裂解规律, 将滤过后的目标化合物质

谱信息与相关文献和对照品比对, 进一步对化合物进行分析鉴定^[11-12]。

2.2.8 化肝煎体外化学成分及入血原型成分 共鉴定 75 个化肝煎体外成分, 结果见表 2, 总离子流图见图 3。正离子模式下有 42 种成分, 负离子模式下有 33 种成分。75 个成分中黄酮类成分 24 个, 单萜类成分 15 个, 生物碱类成分 8 个, 酚类成分 8 个, 三萜类成分 7 个, 苯丙素类成分 4 个, 环烯醚萜类成分 4 个, 二萜类成分 2 个, 香豆素类成分有 1 个,

表 2 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 对化肝煎体外化学成分及体内入血原型成分的分析鉴定

Table 2 Identification of chemical components of Huaganjian *in vitro* and *in vivo* based on UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS

峰号	t_R /min	离子模式	相对分子质量 (m/z) 理论值 实测值	偏差/ ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (m/z)	分子式	化合物	分类	归属	文献
1	1.10	[M-H] ⁻	191.056 1 191.055 8	1.622 56	191.055 6, 173.045 0, 85.028 5	C ₇ H ₁₂ O ₆	奎宁酸	其他类	白芍、炒栀子	13-14
2 [#]	1.18	[M+H] ⁺	168.101 8 168.101 9	-0.387 86	150.091 6, 135.068 2, 119.049 6, 107.049 6, 91.054 9	C ₉ H ₁₃ NO ₂	辛弗林	生物碱类	陈皮、青皮	15-16
3 [#]	2.64	[M-H] ⁻	169.014 3 169.013 7	3.135 83	125.023 5, 124.015 8, 97.028 6, 69.033 6	C ₇ H ₆ O ₅	没食子酸	酚类	白芍、牡丹皮	17-19
4	2.91	[M-H] ⁻	373.114 0 373.114 5	-1.366 87	373.115 6, 211.060 4, 149.060 0	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₀	京尼平苷酸	环烯醚萜类	炒栀子	14
5	2.93	[M-H] ⁻	463.109 3 463.110 1	-1.684 27	403.088 2, 373.077 5, 343.066 9, 241.035 2	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₄	牡丹苷 B	酚类	牡丹皮	19-20
6	4.07	[M+H] ⁺	207.065 2 207.065 2	0.122 18	207.065 5, 189.054 9	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	滨蒿内酯	香豆素类	炒栀子	21
7	4.08	[M-H] ⁻	403.124 6 403.124 8	-0.595 35	403.125 3, 241.071 5	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₁	羟异栀子苷	环烯醚萜类	炒栀子	14
8	4.10	[M-H] ⁻	375.129 7 375.130 1	-1.226 24	375.129 6, 195.065 7	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	去苯甲酰基芍药苷	单萜类	白芍	18
9	4.77	[M-H] ⁻	543.117 8 543.118 7	-1.593 21	543.117 9, 421.081 3, 375.075 8, 259.027 9, 213.022 4, 121.028 6	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₃ S	芍药苷亚硫酸酯	单萜类	白芍、牡丹皮	18,20,22
10	4.89	[M-H] ⁻	577.1352 577.1359	-1.317 89	425.088 7, 407.076 9, 245.081 7, 161.023 8, 137.023 4, 125.023 5, 109.028 6	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	原花青素 B3	黄酮类	牡丹皮	23
11	4.91	[M+H] ⁺	347.1700 347.1702	-0.547 28	185.117 6, 167.107 0	C ₁₆ H ₂₆ O ₈	jasminoside B	单萜类	炒栀子	21
12 [M1]	5.09	[M-H] ⁻	173.0456 173.0452	1.945 73	173.044 4, 154.998 6, 137.023 5	C ₇ H ₁₀ O ₅	莽草酸	其他类	炒栀子	21
13	5.29	[M-H] ⁻	375.1297 375.1301	-1.226 24	375.129 6, 213.076 4, 169.086 3	C ₁₆ H ₂₄ O ₁₀	mussaenosidic acid	环烯醚萜类	炒栀子	14
14	5.31	[M-H] ⁻	495.1508 495.1513	-0.969 40	345.118 7, 333.098 1, 281.066 7, 195.066 0, 165.055 0, 137.023 6	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	氧化芍药苷	单萜类	白芍、牡丹皮	19,24
15 [#]	5.46	[M-H] ⁻	353.0878 353.0883	-1.457 71	353.087 5, 191.055 6, 173.044 9	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	绿原酸	苯丙素类	炒栀子	14
16	5.50	[M-H] ⁻	353.087 8 353.088 4	-1.627 64	353.088 0, 191.055 6, 179.034 4	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	新绿原酸	苯丙素类	炒栀子	14
17	5.68	[M-H] ⁻	289.071 8 289.072 2	-1.522 11	289.071 8, 245.081 9, 179.034 3, 151.039 3, 137.023 5, 109.028 6	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	儿茶素	黄酮类	白芍、牡丹皮	20,24-25
18	5.75	[M-H] ⁻	183.029 9 183.029 5	2.021 53	183.029 4, 168.005 8, 140.010 7, 124.015 7, 111.008 0	C ₈ H ₈ O ₅	没食子酸甲酯	酚类	白芍、牡丹皮	17,19
19 [#] [M2]	6.26	[M+H] ⁺	167.070 3 167.070 1	0.842 16	167.070 6, 149.060 0, 121.065 1	C ₉ H ₁₀ O ₃	丹皮酚	酚类	白芍、牡丹皮	17,19
20 [#]	6.27	[M-H] ⁻	387.129 7 387.130 1	-1.188 23	387.127 3, 225.076 7, 207.066 6, 123.044 2, 101.023 5	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	京尼平苷	环烯醚萜类	炒栀子	14
21	6.38	[M+H] ⁺	595.165 8 595.165 7	0.168 02	577.155 1, 559.145 5, 541.135 1, 457.113 7, 337.071 0	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	维采宁II	黄酮类	陈皮、青皮	15,16
22	6.68	[M+H] ⁺	581.186 5 581.186 6	-0.172 06	273.076 2, 153.018 5	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	芸香柚皮苷	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
23	6.88	[M+H] ⁺	481.170 4 481.170 0	0.893 65	319.117 7, 197.081 2, 179.070 5, 105.034 0	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	芍药内酯苷	单萜类	白芍	17
24 [#] [M3]	6.90	[M+H] ⁺	481.170 4 481.170 4	0.183 10	197.081 2, 179.070 6, 105.070 4	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	芍药苷	单萜类	白芍、牡丹皮	17,19-20
25 [M4]	6.91	[M-H] ⁻	525.161 4 525.161 4	-0.144 53	525.161 0, 449.145 5, 327.108 8, 165.055 0, 121.028 6, 165.055 0	C ₂₄ H ₃₀ O ₁₃	牡丹皮苷 E	单萜类	白芍、牡丹皮	17,20

续表 2

峰号	t_R/min	离子 模式	相对分子质量 (m/z)		偏差/ ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (m/z)	分子式	化合物	分类	归属	文献
			理论值	实测值							
26	7.04	[M-H] ⁻	647.161 8	647.162 7	-1.393 93	491.121 2, 313.057 4, 211.024 5, 137.023 7	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₆	没食子酰氧化芍药苷	单萜类	白芍、牡丹皮	13,19-20
27	7.87	[M-H] ⁻	787.100 0	787.101 7	-2.197 94	787.101 7, 635.086 9, 617.078 7, 169.013 5	C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂	1,2,3,6-四- <i>O</i> -没食子酰- β -D-葡萄糖	酚类	白芍、牡丹皮	17,19
28	8.04	[M-H] ⁻	595.166 8	595.167 7	-1.478 58	287.056 2, 151.002 9	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	圣草次苷	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
29	8.07	[M-H] ⁻	593.151 2	593.151 9	-1.230 71	284.032 5, 255.029 8, 227.034 8	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	黄酮类	炒栀子	27
30	8.14	[M-H] ⁻	609.146 1	609.147 0	-1.510 31	301.035 4	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	芦丁	黄酮类	陈皮、青皮、炒栀子	14-16
31	8.27	[M+H] ⁺	471.201 3	471.201 4	-0.169 78	453.193 2, 425.196 3, 161.060 0	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	柠檬苦素	三萜类	陈皮、青皮	15,26
32	8.35	[M+H] ⁺	273.075 8	273.075 7	0.146 48	153.018 5, 147.044 4, 119.049 6	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	柚皮素	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
33	8.44	[M+H] ⁺	529.384 4	529.384 5	-0.124 67	572.374 7, 412.321 7, 112.112 5	C ₃₃ H ₅₃ NO ₈	西贝母碱苷	生物碱类	浙贝母	28
34	8.61	[M-H] ⁻	463.088 2	463.089 1	-2.031 58	463.088 3, 300.027 5, 255.029 8, 151.003 0	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	异槲皮苷	黄酮类	炒栀子	14
35	8.77	[M+H] ⁺	195.065 2	195.065 2	-0.076 90	134.036 7, 117.033 9, 106.041 7	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	阿魏酸	苯丙素类	陈皮	29
36	8.81	[M-H] ⁻	631.166 8	631.167 6	-1.251 65	631.166 0, 271.045 9, 169.013 6	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	没食子酰芍药苷	单萜类	白芍、牡丹皮	17,20,30
37	8.86	[M-H] ⁻	939.110 9	939.112 9	-2.150 97	939.110 3, 787.105 4, 769.088 4, 617.078 9, 465.065 2, 169.013 6	C ₄₁ H ₃₂ O ₂₆	1,2,3,4,6- <i>O</i> -五没食子酰葡萄糖	酚类	白芍、牡丹皮	17-19
38	9.09	[M+H] ⁺	435.128 6	435.128 0	1.386 49	273.076 1, 153.018 5, 147.044 3	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	櫻桃苷	黄酮类	白芍	30
39 [#]	9.10	[M+H] ⁺	581.186 5	581.185 7	1.290 46	273.076 1, 153.018 5	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	柚皮苷	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
40 [M5]	9.16	[M+H] ⁺	430.331 6	430.331 5	0.280 48	138.128 1, 96.081 4	C ₂₇ H ₄₃ NO ₃	西贝母碱	生物碱类	浙贝母	28
41 [#] [M6]	9.22	[M+H] ⁺	432.347 2	432.346 9	0.765 13	95.085 7, 148.111 6, 98.096 9	C ₂₇ H ₄₃ NO ₃	贝母素甲	生物碱类	浙贝母	28
42 [#]	9.45	[M+H] ⁺	611.197 1	611.196 1	1.537 97	465.138 6, 303.086 8	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	橙皮苷	黄酮类	陈皮、青皮	16,31
43 [#] [M7]	9.76	[M+H] ⁺	430.331 6	430.331 2	0.907 90	412.321 4, 98.097 0	C ₂₇ H ₄₃ NO ₃	贝母素乙	生物碱类	浙贝母	28
44	9.95	[M-H] ⁻	515.119 5	515.120 4	-1.787 35	515.119 4, 353.087 8, 191.055 6, 179.034 4	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸 C	苯丙素类	炒栀子	14
45	10.08	[M+H] ⁺	197.080 8	197.081 0	-0.581 49	133.065 1, 105.070 4, 103.054 5, 79.055 0	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	芍药内苷 B	单萜类	白芍	30
46 [M8]	10.39	[M+H] ⁺	428.315 9	428.315 7	0.585 32	84.081 5, 81.070 6	C ₂₇ H ₄₁ NO ₃	贝母辛	生物碱类	浙贝母	28
47 [M9]	10.84	[M-H] ⁻	137.024 4	137.023 8	4.305 80	65.038 5	C ₇ H ₆ O ₃	对羟基苯甲酸	酚类	牡丹皮	20
48	11.13	[M-H] ⁻	599.177 0	599.177 9	-1.511 91	599.176 7, 137.023 6, 165.055 2	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₃	苯甲酰氧化芍药苷	单萜类	白芍、牡丹皮	19,30
49	11.25	[M-H] ⁻	577.156 3	577.156 9	-1.111 14	577.157 0, 269.045 5, 268.038 2	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	野漆树苷	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
50	11.90	[M+H] ⁺	617.186 5	617.183 8	4.374 69	617.185 0, 615.172 1, 585.162 1, 483.112 5, 281.066 7, 137.023 5	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₄	牡丹皮苷 H	单萜类	白芍、牡丹皮	20,30
51 [#] [M10]	11.91	[M+H] ⁺	595.202 1	595.201 6	0.890 45	449.142 6, 287.091 7	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	香蜂草苷	黄酮类	陈皮、青皮	16,31-32
52	11.92	[M+H] ⁺	595.202 1	595.201 6	0.890 45	287.091 7, 153.018 5	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	枸橼苷	黄酮类	陈皮、青皮	15,16
53	11.93	[M+H] ⁺	287.091 4	287.091 1	1.079 80	161.059 9, 153.018 4, 133.065 1	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	异樱花素	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
54	12.26	[M+H] ⁺	414.336 7	414.336 1	1.293 88	98.096 8, 81.070 5, 67.055 0	C ₂₇ H ₄₃ NO ₂	puquidinone	生物碱类	浙贝母	28
55 [#]	12.66	[M-H] ⁻	301.035 4	301.036 0	-1.907 08	301.035 4, 178.998 0, 151.003 0, 65.002 3	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	槲皮素	黄酮类	牡丹皮、炒栀子	14,19-20
56	13.18	[M+H] ⁺	416.352 3	416.352 1	0.543 29	145.101 3, 98.097 0, 81.070 4	C ₂₇ H ₄₅ NO ₂	湖贝甲素	生物碱类	浙贝母	28
57	13.22	[M-H] ⁻	975.371 5	975.373 7	-2.239 45	651.265 9, 327.160 1, 283.170 2	C ₄₄ H ₆₄ O ₂₄	藏红花素	二萜类	炒栀子	27
58	13.42	[M+H] ⁺	585.196 7	585.196 6	0.102 53	319.118 0, 267.086 6, 249.076 0, 197.081 2, 179.070 3, 157.075 6, 105.034 4	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	苯甲酰芍药苷	单萜类	白芍、牡丹皮	17,19
59	13.55	[M+H] ⁺	329.174 7	329.174 5	0.624 90	329.175 0, 311.164 9, 293.154 0, 283.169 6	C ₂₀ H ₂₄ O ₄	藏红花酸	二萜类	炒栀子	21
60	13.73	[M+H] ⁺	585.196 7	585.196 6	0.102 53	301.107 8, 249.076 0, 197.081 2, 105.034 0	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	苯甲酰芍药内酯苷	单萜类	白芍	30
61	14.87	[M-H] ⁻	301.071 8	301.072 2	-1.594 30	286.048 4, 151.002 8	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	橙皮素	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
62	14.97	[M-H] ⁻	629.187 6	629.189 0	-2.240 99	629.184 2, 553.172 5, 477.140 9, 165.055 1, 137.023 7, 121.028 6	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₄	牡丹皮苷 B	单萜类	白芍、牡丹皮	17,19

续表 2

峰号	<i>t_R</i> /min	离子 模式	相对分子质量 (<i>m/z</i>)		偏差/ ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (<i>m/z</i>)	分子式	化合物	分类	归属	文献
			理论值	实测值							
63	15.65	[M+H] ⁺	505.352 4	505.352 4	0.011 28	469.332 0, 415.284 8, 397.274 2	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	16-氧代泽泻醇 A	三萜类	泽泻	33
64 [M11]	15.85	[M+H] ⁺	167.070 3	167.070 4	-0.837 97	167.070 5, 84.960 3	C ₉ H ₁₀ O ₃	香草乙酮	酚类	牡丹皮	23
65 [M12]	16.60	[M+H] ⁺	343.117 6	343.117 5	0.349 73	199.0243, 153.0185	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	6-去甲氧基桔皮素	黄酮类	陈皮、青皮	29
66 [#] [M13]	16.62	[M+H] ⁺	373.128 2	373.128 1	0.348 41	357.0973, 343.0817, 315.0865	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	甜橙黄酮	黄酮类	陈皮、青皮	15,16
67 [#] [M14]	18.07	[M+H] ⁺	403.138 7	403.138 7	0.024 81	373.0923, 330.0737	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	川陈皮素	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
68	18.35	[M+H] ⁺	487.341 8	487.341 8	-0.059 51	469.3316, 451.3207, 397.2751	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	11-anhydro-16-oxoalisol A	三萜类	泽泻	33
69 [#] [M15]	19.07	[M+H] ⁺	433.149 3	433.148 7	1.451 46	403.1028, 385.0922	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	黄酮类	陈皮、青皮	16
70 [M16]	19.71	[M+H] ⁺	373.128 2	373.128 0	0.428 81	358.1058, 328.0586, 315.0872	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	桔皮素	黄酮类	陈皮、青皮	15,26
71	21.25	[M+H] ⁺	389.123 1	389.123 0	0.256 99	359.0767, 331.0815, 316.0577	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	去甲基川陈皮素	黄酮类	陈皮、青皮	16,29
72	21.95	[M+H] ⁺	529.352 4	529.352 4	0.010 77	511.3424, 469.3317, 451.3211	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	泽泻醇 C-23-醋酸	三萜类	泽泻	34
73	23.27	[M+H] ⁺	473.362 5	473.362 6	-0.155 27	383.2948, 365.2845, 339.2687	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	泽泻醇 B	三萜类	泽泻	35
74	23.91	[M+H] ⁺	529.352 4	529.352 4	0.010 77	529.3530, 469.3317, 397.2788	C ₃₂ H ₄₈ O ₆	alismaketone C 23-acetate	三萜类	泽泻	33
75 [#]	31.01	[M+H] ⁺	515.373 1	515.372 8	0.584 24	437.3420, 383.2937	C ₃₂ H ₅₀ O ₅	23-乙酰泽泻醇 B	三萜类	泽泻	34

[#]通过对照品对比确认, [M] 表示化肝煎基准样品体内入血原型成分

[#]confirmed by comparison with reference standard, [M] constituents migrating to the blood of rats after oral administration of Huaganjian

其他类成分有 2 个。

分析鉴定了 16 个化肝煎入血移行成分, 分别为莽草酸、丹皮酚、芍药苷、牡丹皮苷 E、西贝母碱、贝母素甲、贝母素乙、贝母辛、对羟基苯甲酸、香蜂草苷、香草乙酮、6-去甲氧基桔皮素、甜橙黄酮、川陈皮素、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、桔皮素, 其中 8 个成分丹皮酚、芍药苷、贝母素甲、贝母素乙、香蜂草苷、川陈皮素、甜橙黄酮、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮是通过与对照品的保留时间及其质谱裂解规律对比鉴定得到, 其余 8 个成分是通过计算精确质量数、比对文献报道的二级质谱碎片信息以及推导质谱裂解规律得到的, 其化学结构式见图 4。

2.3 化肝煎治疗胃炎的核心功效相关成分网络药理学研究

2.3.1 入血成分靶点的筛选 采用 PubChem 数据库, 获取 16 个入血成分的分子结构, 并保存各个成分的标准 Canonical SMILES 格式, 在 Swiss Target Prediction 平台中分别导入各化学成分 SMILES 格式文件^[36], 设置属性为“Homo Sapiens”, 并选择其中高可信度的蛋白作为靶点 (可能性>0), 合并活性化合物的潜在作用靶点, 去除重复靶点, 共得到 333 个化肝煎入血成分靶点。

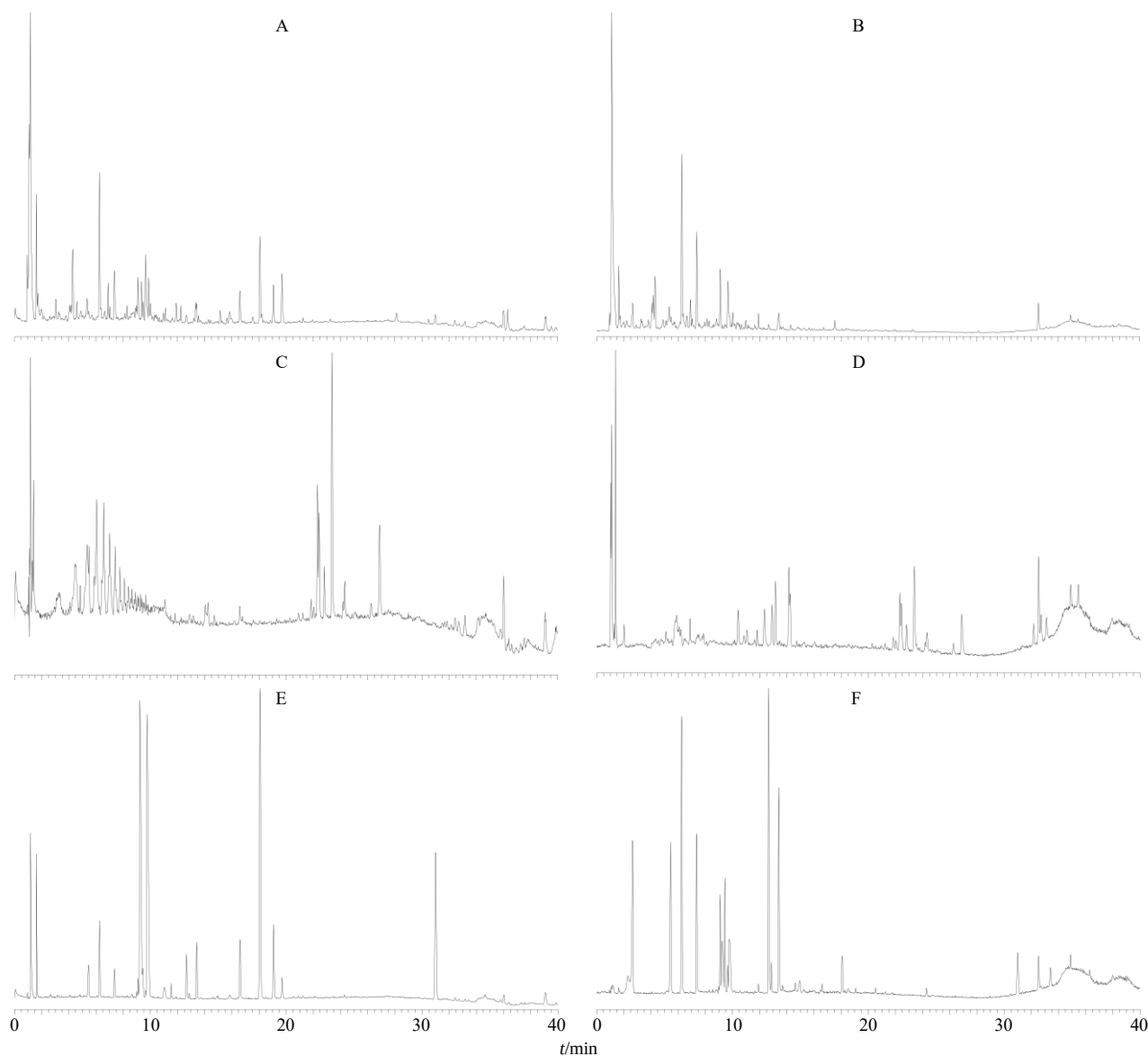
2.3.2 胃炎疾病靶点的获取 登录 OMIM、Genecards、Drugbank 平台, 输入关键词 Gastritis, 搜索目前已报道的和胃炎密切相关的基因, 合并 3

个数据库结果, 去除假阳性基因和重复基因, 共筛选出 1147 个和胃炎相关靶标基因。

2.3.3 化肝煎治疗胃炎的潜在靶点 通过 Venny, 将上述化肝煎入血成分靶点与胃炎疾病靶点进行匹配取交集, 得到 95 个化肝煎活性成分治疗胃炎的潜在靶点。

2.3.4 京都基因和基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析 将化肝煎治疗胃炎的潜在靶点导入 Metascape 平台进行 KEGG 分析^[37], 保存数据结果, 按 *P* 值从小到大顺序进行排序, 并选取排名前 20 位通过微生信平台对数据进行可视化处理^[38]。通过 KEGG 通路分析得到了 *P*<0.05 的通路共 262 条, 其中排名前 20 的通路如图 5 所示。化肝煎治疗胃炎潜在基因靶点主要富集的相关通路为 PI3K-Akt 信号通路、C 型凝集素受体信号通路、白介素-17 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路等。

2.3.5 “入血成分-胃炎靶点-通路”网络图的构建及拓扑学分析 将化肝煎入血原型成分、原型成分治疗胃炎的潜在靶点、潜在靶点 KEGG 富集通路 (top20) 注释为节点, 建立相互关系, 导入 CytoScape 3.7.1 软件, 构建化肝煎“入血成分-胃炎靶点-通路”网络图。使用 CytoScape 3.7.1 内置插件网络分析仪分析靶点及功效成分的网络拓扑参数, 包括介度、连接度及紧密度等, 并根据网络拓扑学参数筛选与



A-化肝煎（正离子模式） B-化肝煎（负离子模式） C-化肝煎含药血清（正离子模式） D-化肝煎含药血清（负离子模式） E-对照品（正离子模式） F-对照品（负离子模式）

A-Huaganjian (positive ion mode) B-Huaganjian (negative ion mode) C-medicated serum (positive ion mode) D-medicated serum (negative ion mode) E-reference standard (positive ion mode) F-reference standard (negative ion mode)

图 3 化肝煎、含药血清、对照品 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 总离子流图

Fig. 3 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS total ion chromatogram of Huaganjian, medicated serum and reference substance

核心功效密切相关的化学成分。

化肝煎“入血成分-胃炎靶点-通路”网络图如图 6 所示，入血原型成分网络节点特征参数见表 3。图 6 中共涉及 131 个节点，537 条边，体现了化肝煎“多成分-多靶点-多途径”的作用特点。圆形节点代表 16 个化肝煎入血原型成分，矩形代表化肝煎入血原型成分治疗胃炎的潜在靶点，三角代表化肝煎治疗胃炎潜在靶点的 KEGG 富集通路。2 个节点之间相互作用由边相连表示。化肝煎入血原型成分与潜在靶点以边相连，潜在靶点与 KEGG 富集通路

以边相连。节点的度值是与该节点相连边的数量，度值越大，表明网络中与该节点相关联的节点及边越多，表明该节点对网络“贡献”越大，越重要。图 6 中节点的面积及颜色透明度其代表其连接度，面积越大、颜色越深说明该节点越重要。

Cytoscape 网络分析表明，桔皮素、6-去甲氧基桔皮素、甜橙黄酮、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、西贝母碱、香蜂草苷、牡丹皮苷 E、芍药苷、贝母素甲、贝母辛、贝母素乙、香草乙酮、川陈皮素、丹皮酚入血原型成分度值较高，匹配的靶点较多，

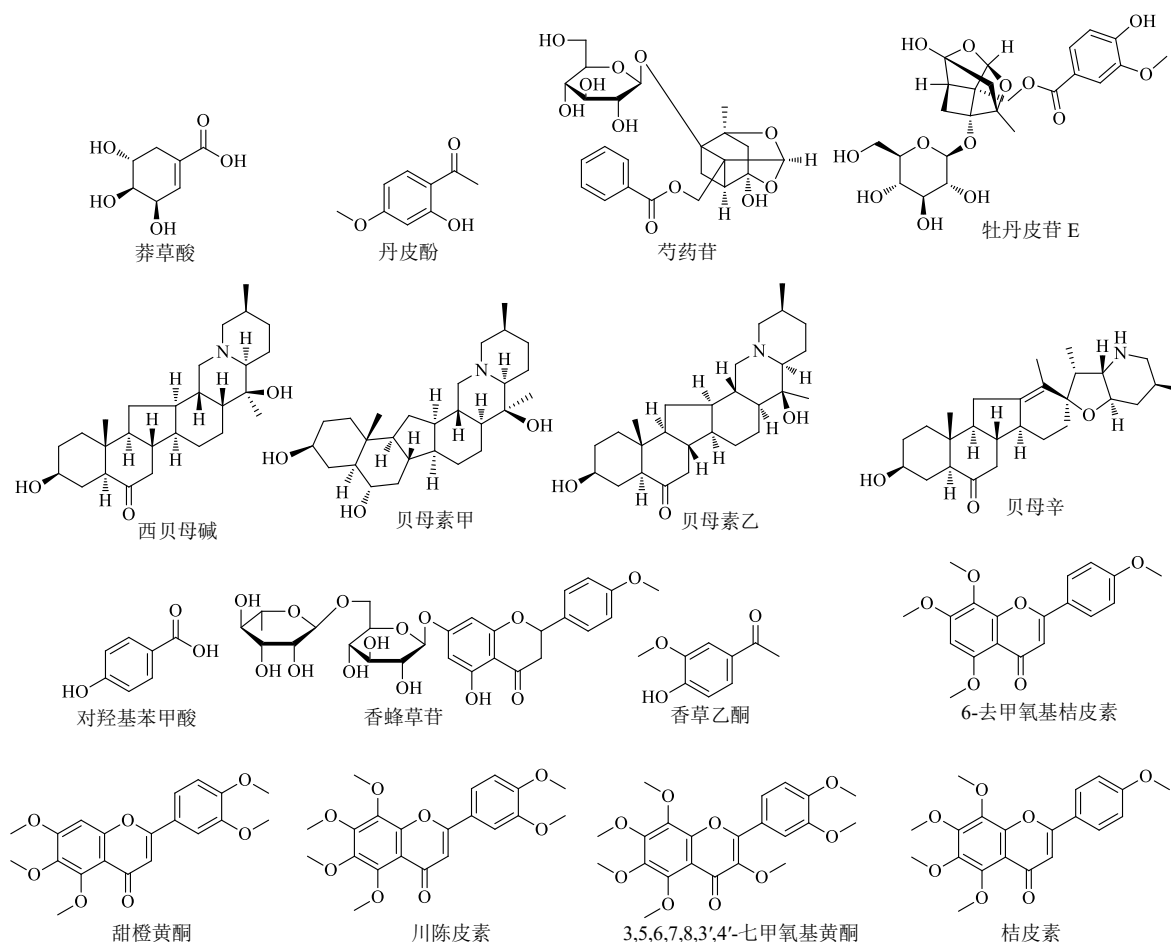


图 4 化肝煎入血原型成分化学结构

Fig. 4 Chemical structures of constituents migrating into blood

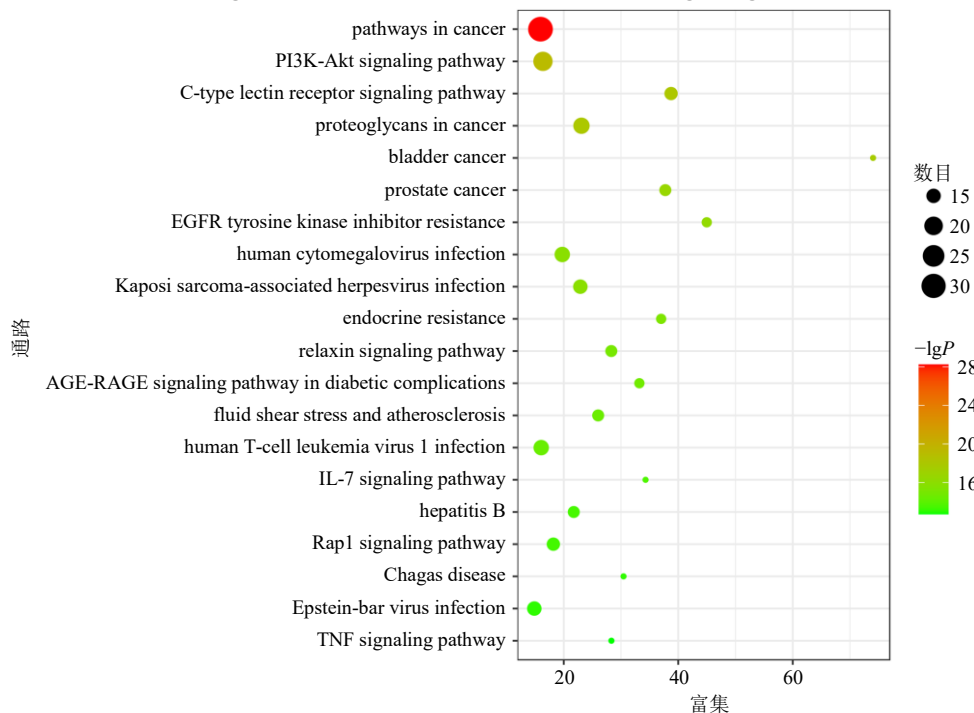


图 5 化肝煎治疗胃炎潜在作用靶点 KEGG 通路富集气泡图

Fig. 5 Bubble diagram of KEGG analysis of potential targets of Huaganjian in treatment of gastritis

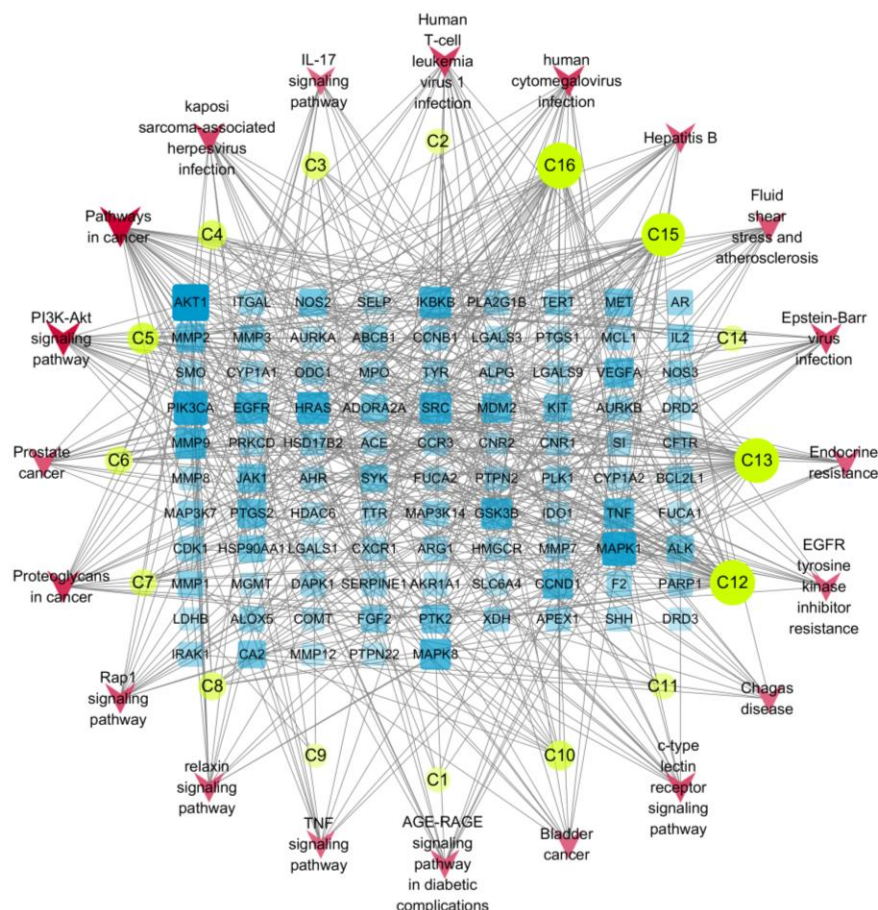


图 6 化肝煎入血成分-胃炎靶点-通路网络图

Fig. 6 Constituents migrating to blood-gastritis target-pathway network of Huaganjian

表 3 化肝煎入血原型成分网络节点特征参数

Table 3 Characteristic parameter values of network nodes of constituents migrating to blood

编号	化学成分	介度	紧密度	连接度	编号	化学成分	介度	紧密度	连接度
C16	桔皮素	0.107 61	0.459 36	39	C6	贝母素甲	0.038 94	0.325 81	9
C12	6-去甲氧基桔皮素	0.126 41	0.465 95	38	C8	贝母辛	0.023 66	0.335 92	9
C13	甜橙黄酮	0.119 06	0.452 96	37	C7	贝母素乙	0.022 87	0.334 19	8
C15	3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮	0.100 13	0.456 14	35	C11	香草乙酮	0.038 75	0.290 83	6
C5	西贝母碱	0.044 22	0.362 12	15	C14	川陈皮素	0.003 68	0.339 43	6
C10	香蜂草苷	0.073 77	0.358 13	12	C2	丹皮酚	0.041 63	0.317 85	5
C4	牡丹皮苷 E	0.034 87	0.348 53	11	C1	莽草酸	0.016 34	0.316 30	4
C3	芍药苷	0.034 59	0.334 19	9	C9	对羟基苯甲酸	0.030 65	0.280 78	3

作用关键，需重点关注。

3 讨论

3.1 化肝煎体内外化学成分的测定

3.1.1 测定仪器的选择 Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (Q-Exactive Orbitrap-MS)，与传统的三重四极杆质谱相比，具备 ng/L 至 $\mu\text{g/L}$ 的检出限度，灵敏度更高；质谱质量偏差范围 $\leq 1 \times 10^{-6}$ ，分辨率更高，样品基质的干扰可以被显著消除^[39-40]。

Q-Exactive Orbitrap-MS 采用全扫描以及自动触发二级扫描模式同时对负、正离子进行测定，可以提供高质量的全扫描和 MS/MS 数据，是分析鉴定中药复杂化学体系的有力工具之一^[41]。故本研究选择 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 联用技术，对化肝煎体外化学成分及体内入血原型成分进行精准、高效、快速地鉴定分析。

3.1.2 血清样品沉淀剂的考察 样品的前处理在血

清药物化学研究中十分重要。动物血清中含有大量诸如激素、酶等具有生物活性的内源性蛋白,它们会很大程度地干扰血清中移行成分的分析。因此,获得试验动物的血清后,还需对血清进行前处理,以除去其中的蛋白质^[42]。血清通常需要先加入有机溶剂作为沉淀剂沉淀蛋白。本研究比较了甲醇沉淀法、乙腈沉淀法、氯仿沉淀法,其中,只有乙腈和甲醇沉淀效果较好,氯仿沉淀效果不理想。经过对血清样品化学成分的鉴定,由结果可得,乙腈作为沉淀剂时,色谱信息含量较甲醇作为沉淀剂时的色谱信息更丰富。经过进一步考察,血清样品 3 倍体积量的乙腈沉淀效果好易于离心分离。故本实验选择血清样品 3 倍体积量的乙腈作为沉淀剂。

3.1.3 血清样品取血时间点的考察 中药复方化学成分复杂,不同成分的药代动力学参数存在差异,导致在不同采血时间获得的血清中的移行成分存在差异。本实验在预试验阶段,对 SD 大鼠 ig 化肝煎,采取大鼠眼眶后静脉丛采血的方式,于给药后 15、30、60、90、120、180、240、360 min 8 个时间点分别采血,综合比较不同时间点血清中移行成分的数目。实验结果显示,给药 60 min 后的血清样品移行成分数目最多,可以最大程度地反映化肝煎的入血成分。故本实验选择 60 min 为最佳采血点。

3.2 化肝煎 CQA 的预测

因不同的病理状态下,即使是相同的方剂,药效取向不同,表达的药效物质不同。故本研究以文献计量学分析所得结论:化肝煎主要临床适应证胃炎为切入点,整合血清药物化学和网络药理学,通过关联化肝煎治疗胃炎的“物质基础-效应机制-作用靶点”,采用拓扑学分析,得到网络中与主要临床适应证密切相关的核心功效成分。基于此分析结果,本研究进一步通过文献研究,辨识化肝煎治疗胃炎的 CQA。

研究表明,甜橙黄酮不仅具有抗炎作用,可有效抑制炎症因子的表达^[43-44],还能显著抑制人胃腺癌细胞 AGS 的增殖,使细胞阻滞于 G₂/M 期,并诱导细胞凋亡^[45]。Manthey 等^[46]从柑橘中分离出多种多甲氧基黄酮类成分,通过抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 表达,评估抗炎作用,研究发现 3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮对 TNF- α 抑制作用最强。抑制 TNF- α ,可减轻炎症级联放大反应而发挥保护胃黏膜组织的作用^[47]。芍药苷作为胃炎康胶囊的主要质控指标^[48-49],是具有前

景的抗炎药物,诸多研究已证实,芍药苷能够抑制核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 向核转运,表明芍药苷具有抗 TNF- α 诱导趋化因子的产生和抑制白细胞迁移的抗炎能力^[50]。丹皮酚被报道具有类似芍药苷的抗炎作用,对吲哚美辛诱导的大鼠胃溃疡具有保护作用^[51]。丹皮酚还具有减轻胃氧化应激,恢复胃抗氧化能力的作用。Guo 等^[52]研究报道,丹皮酚可剂量依赖性地减轻不同类型模型的胃粘膜损伤,提高丙二醛含量和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性。Ouyang 等^[53]研究发现川陈皮素可抑制幽门螺杆菌感染。Li 等^[54]研究证实川陈皮素可以通过提高抗氧化活性及减少促炎细胞因子,发挥对乙醇诱导的小鼠急性胃损伤的保护作用。而其他成分关于胃炎的治疗作用鲜有报道。综上所述,本研究将甜橙黄酮、3,5,6,7,8,3',4'-七甲氧基黄酮、川陈皮素、丹皮酚、芍药苷辨识为化肝煎治疗胃炎的关键成分。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵晓霞,赵巍,张永文. 中药制剂关键质量属性确认的思考 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4008-4012.
- [2] 国家药品监督管理局. 古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定 [EB/OL] [2018-05-29] [2020-07-27]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20180601163901361.html>.
- [3] 苗家燕,罗赣,高晓燕,等. 经典名方当归四逆汤物质基准的关键质量属性研究 [J]. 分析测试学报, 2021, 40(5): 740-746.
- [4] 黄琪,刘琼,张逢雨,等. 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱结合网络药理学探讨杜仲治疗糖尿病肾病的有效成分 [J]. 中国新药与临床杂志, 2021, 40(6): 460-469.
- [5] 戴静,刘博文,刘晓凤,等. 基于化学成分相似性的川贝母茎叶药效研究 [J]. 中草药, 2021, 52(16): 4942-4953.
- [6] 明·张介宾,王大淳. 景岳全书译注 [M]. 北京: 中国人民大学出版社, 2010: 2201.
- [7] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方目录(第一批)》的通知 [EB/OL] [2018-04-16] [2019-11-11]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [8] Chen C M, Song M. Visualizing a field of research: A methodology of systematic scientometric reviews [J]. *PLoS One*, 2019, 14(10): e0223994.
- [9] 王娟,陈世超,王林丽,等. 基于 CiteSpace 的教育大数

- 据研究热点与趋势分析 [J]. 现代教育技术, 2016, 26(2): 5-13.
- [10] 聂欣, 庞兰, 江华娟, 等. 经典名方化肝煎物质基准特征图谱及多指标成分含量测定研究 [J]. 中草药, 2020, 51(20): 5177-5186.
- [11] 胡瀚文, 赵永艳, 杨天龙, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 的川佛手化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(7): 148-155.
- [12] 张梦雅, 左莉华, 周霖, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 益智仁中倍半萜类物质的分析与鉴定 [J]. 中草药, 2020, 51(24): 6168-6177.
- [13] 李芳, 朱付全, 宋春红, 等. HPLC-ESI-MSⁿ 法鉴定大鼠口服白芍提取物后血清及脑内的化学成分 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2475-2481.
- [14] Zhou J, Zhang Y J, Li N, *et al.* A systematic metabolic pathway identification of common *Gardenia* fruit (*Gardeniae Fructus*) in mouse bile, plasma, urine and feces by HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2020, 1145: 122100.
- [15] Zheng Y Y, Zeng X, Peng W, *et al.* Characterisation and classification of *Citri Reticulatae Pericarpium* varieties based on UHPLC-Q-TOF-MS/MS combined with multivariate statistical analyses [J]. *Phytochem Anal*, 2019, 30(3): 278-291.
- [16] 汪鹏. 基于 DNA 条形码及代谢组学技术的广陈皮、陈皮及青皮鉴定研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [17] 任娟, 刘晓, 李伟东, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 的白芍炒制前后化学成分研究 [J]. 世界中医药, 2019, 14(2): 268-273.
- [18] 贺晶, 高晓霞, 田俊生, 等. UPLC-MS 分析柴胡、白芍水煎液的化学成分及其对逍遥散的贡献 [J]. 山西医科大学学报, 2018, 49(4): 375-382.
- [19] 胡云飞, 裴月梅, 吴虹, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术研究不同产地牡丹皮药材化学成分的差异 [J]. 中草药, 2016, 47(17): 2984-2992.
- [20] 杜新刚, 姜慧洁, 张慧, 等. 牡丹皮配方颗粒的质量评价体系研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(10): 2065-2071.
- [21] Li W J, Ren C C, Fei C H, *et al.* Analysis of the chemical composition changes of *Gardeniae Fructus* before and after processing based on ultra-high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(5): 981-991.
- [22] Zheng Z Y, Cao G, Wu X, *et al.* Ultra-performance liquid chromatography coupled with high-resolution quadrupole time-of-flight mass spectrometry analysis of the impact of bran-processing on the chemical profile of *Radix Paeoniae Alba* (Baishao) [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(8): 776-779.
- [23] 邓爱平. 牡丹皮质量评价及商品规格研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2018.
- [24] 刘杰, 陈琳, 范彩荣, 等. 基于 HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS 的白芍和赤芍主要成分定性定量研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1762-1770.
- [25] Li S L, Song J Z, Choi F, *et al.* Chemical profiling of *Radix Paeoniae* evaluated by ultra-performance liquid chromatography/photo-diode-array/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(2): 253-266.
- [26] He Y J, Zhu M, Zhou Y, *et al.* Comparative investigation of phytochemicals among ten *citrus* herbs by ultra high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry and evaluation of their antioxidant properties [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(16): 3349-3358.
- [27] Zhou W, Shan J J, Meng M X. A two-step ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole/time of flight mass spectrometry with mass defect filtering method for rapid identification of analogues from known components of different chemical structure types in *Fructus Gardeniae-Fructus Forsythiae* herb pair extract and in rat's blood [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1563: 99-123.
- [28] 周建良, 刘伟, 郭增喜, 等. 基于快速液相色谱-四级杆飞行时间串联质谱的浙贝母特征图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17): 2832-2837.
- [29] Zheng G D, Liu M S, Chao Y X, *et al.* Identification of lipophilic components in *Citri Reticulatae Pericarpium* cultivars by supercritical CO₂ fluid extraction with ultra-high-performance liquid chromatography-Q Exactive Orbitrap tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(17): 3421-3440.
- [30] Xu Y Y, Cai H, Cao G, *et al.* Profiling and analysis of multiple constituents in Baizhu Shaoyao San before and after processing by stir-frying using UHPLC/Q-TOF-MS/MS coupled with multivariate statistical analysis [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1083: 110-123.
- [31] 童超英, 彭密军, 施树云. 在线提取-高效液相色谱-二极管阵列检测-四级杆飞行时间质谱法快速鉴定陈皮中黄酮类化合物 [J]. 色谱, 2018, 36(3): 278-284.
- [32] 邓岳, 刘阿娜, 王小明, 等. HPLC-TOF-MS 分析泽泻提取物中三萜类化合物 [J]. 化学分析计量, 2015, 24(6): 11-14.
- [33] Yang N, Dong Y Q, Wu M F, *et al.* Establishing a rapid classification and identification method for the major

- triterpenoids of *Alisma orientale* [J]. *Phytochem Anal*, 2020, 31(3): 384-394.
- [34] Zhao W L, Huang X Q, Li X Y, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of major triterpenoids in *Alismatis Rhizoma* by high performance liquid chromatography/diode-array detector/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry and ultra-performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2015, 20(8): 13958-13981.
- [35] Li S, Jin S N, Song C W, *et al.* The metabolic change of serum lysophosphatidylcholines involved in the lipid lowering effect of triterpenes from *Alismatis Rhizoma* on high-fat diet induced hyperlipidemia mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 177: 10-18.
- [36] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [37] Zhou Y Y, Zhou B, Pache L, *et al.* Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.
- [38] 但文超, 何庆勇, 曲艺, 等. 基于网络药理学的枳术丸调治血脂异常的分子机制研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(11): 2396-2405.
- [39] 王勇为. 确定定量分析新工具——Thermo Scientific Q Exactive 台式四极杆-轨道阱高分辨质谱仪 [J]. 现代科学仪器, 2011(5): 138-140.
- [40] 施怀生, 毕小凤, 史宪海. UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用分析黄芩根及其茎叶中黄酮和皂苷类成分 [J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(3): 357-361.
- [41] 陆石英, 王海波, 袁光蔚, 等. UPLC-Q-Exactive 技术分析民族药石笔木化学成分 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(16): 2032-2039.
- [42] 武晓伟, 郝艳艳, 聂春霞, 等. 中药血清药物化学的方法学概述及应用领域研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(3): 173-179.
- [43] Li J S, Jie X, Liang X L, *et al.* Sinensetin suppresses influenza A virus-triggered inflammation through inhibition of NF- κ B and MAPKs signalings [J]. *BMC Complementary Med Ther*, 2020, 20(1): 135.
- [44] Laavola M, Nieminen R, Yam M F, *et al.* Flavonoids eupatorin and sinensetin present in *Orthosiphon stamineus* leaves inhibit inflammatory gene expression and STAT1 activation [J]. *Planta Med*, 2012, 78(8): 779-786.
- [45] 董杨, 季光, 曹爱丽, 等. 甜橙黄酮对人胃癌 AGS 细胞增殖和凋亡的作用及其机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 790-794.
- [46] Manthey J A, Grohmann K, Montanari A, *et al.* Polymethoxylated flavones derived from *citrus* suppress tumor necrosis factor- α expression by human monocytes [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(3): 441-444.
- [47] 巩子汉, 王强, 段永强, 等. 白及多糖对胃溃疡模型大鼠胃组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 JNK、p38 MAPK 基因蛋白表达水平的影响 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(4): 90-95.
- [48] 权勤波, 李启红. HPLC 法测定胃炎康胶囊中芍药苷、盐酸小檗碱及甘草酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(1): 120-122.
- [49] 谭文龙. 胃炎康胶囊质量标准与稳定性的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2007.
- [50] 张育贵, 张淑娟, 边甜甜, 等. 芍药苷药理作用研究新进展 [J]. 中草药, 2019, 50(15): 3735-3740.
- [51] Hafez H M, Morsy M A, Mohamed M Z, *et al.* Mechanisms underlying gastroprotective effect of paeonol against indomethacin-induced ulcer in rats [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2019, 38(5): 510-518.
- [52] Guo Y L, Du Y Y, Xie L, *et al.* Effects of paeonol and gastroretention tablets of paeonol on experimental gastric ulcers and intestinal flora in rats [J]. *Inflammation*, 2020, 43(6): 2178-2190.
- [53] Ouyang Y M, Li L H, Ling P. Nobiletin inhibits helicobacterium pylori infection-induced gastric carcinogenic signaling by blocking inflammation, apoptosis, and mitogen-activated protein kinase events in gastric epithelial-1 cells [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2020, 39(1): 77-88.
- [54] Li W F, Wang X M, Zhi W B, *et al.* The gastroprotective effect of nobiletin against ethanol-induced acute gastric lesions in mice: Impact on oxidative stress and inflammation [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2017, 39(6): 354-363.

[责任编辑 郑礼胜]