

古代经典名方保元汤的药效物质基础及其分子水平机制的研究

李淑慧^{1,2}, 王 雅², 田 军³, 郭雨轩¹, 张淑涵¹, 牟 越¹, 翁小刚^{1*}, 孙 奕^{1*}

1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

2. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050

3. 江苏万邦生化医药集团有限责任公司, 江苏 徐州 221001

摘要: 目的 阐释古代经典名方“保元汤”的药效物质基础并探讨其分子水平的作用机制, 发掘保元汤更多潜在的临床应用优势。方法 采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术, 选用 Waters ACQUITY UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水 (A)-乙腈 (B) 为流动相系统进行梯度洗脱, 高分辨飞行时间质谱电喷雾电离源 (ESI), 正、负离子扫描模式, 检测鉴定保元汤的化学成分组成, 并分析保元汤大鼠多次多天 ig 给药后含药血浆中的原型化学成分及代谢产物, 进一步运用网络药理学方法, 利用 TCMSP 数据库和药物信息数据库等分析保元汤入血原型成分的靶向作用, 并揭示其治疗潜能。结果 根据精确相对分子质量数据和多级质谱碎片离子, 结合对照品、数据库以及文献报道, 共鉴定出保元汤中 133 个化学成分, 并且确定大鼠 ig 保元汤后, 35 个成分能够经口吸收入血达到血浆稳态的药物浓度。保元汤入血原型成分“成分-靶点”网络图、核心靶基因基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析、疾病预测分析表明, 保元汤可通过人参皂苷 Rb₁、丹皮酚、刺芒柄花素、刺甘草查耳酮、大豆异黄酮、甘草查耳酮 A、6-姜辣素、水杨酸等 8 个关键成分作用于丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53)、信号传导及转录激活蛋白 (signal transducer and activator of transcription) 等核心靶点, 通过糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGE)-晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end-products, RAGE)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、非受体酪氨酸激酶 (janus kinase, JAK)-信号转导子和转录激活子 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 等信号通路等途径发挥药效作用, 提示保元汤除治疗慢性心力衰竭外, 还对阿尔茨海默症、再灌注损伤、绝经后骨质疏松症等具有潜在治疗优势。保元汤 35 个入血原型成分中含有多个同类成分的衍生物, 且其中既有单一成分对接多个靶点、又有多个类似物对接同一靶点的情况, 由此佐证了“中药 (复方) 多成分多靶点协同作用”和“中药多成分单靶点叠加作用”的理论。结论 采用高分辨质谱分析技术和网络药理学及其数据库, 可以为全面阐释中药 (复方) 药效物质基础及探讨其分子水平的作用机制提供可行的科学方法。明确了古代经典名方保元汤的入血化学成分, 鉴定了其原型成分的代谢产物, 并从分子水平阐释了基于这些入血原型成分的作用靶点, 并揭示其潜在治疗优势, 为扩大该方剂临床应用提供参考, 发掘更多的临床治疗潜能。

关键词: 保元汤; UPLC-QTOF-MS/MS; 药效物质基础; 分子水平机制; 网络药理学; 人参皂苷 Rb₁; 丹皮酚; 刺芒柄花素; 刺甘草查耳酮; 大豆异黄酮; 甘草查耳酮 A; 6-姜辣素; 水杨酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)21-6971-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.21.006

Research on pharmacodynamic substances and molecular mechanism of ancient classical formula Baoyuan Decoction

LI Shu-hui^{1,2}, WANG Ya², TIAN Jun³, GUO Yu-xuan¹, ZHANG Shu-han¹, MU Yue¹, WENG Xiao-gang¹, SUN Yi¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. School of Life Sciences and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China

3. JiangSu Wanbang Biopharmaceuticals, Xuzhou 221001, China

Abstract: Objective To elucidate the pharmacodynamic substances and the molecular mechanism of the ancient classical formula Baoyuan Decoction (BYT), in order to explore more potential clinical application advantages of BYT. **Methods** The UPLC-QTOF-

收稿日期: 2023-03-04

基金项目: 中国中医科学院科技创新工程 (CI2021A04514)

作者简介: 李淑慧, 在读硕士, 从事中药质量控制与品质评价研究。Tel: (010)64021051 E-mail: 1744140302@qq.com

*通信作者: 孙 奕, 研究员, 从事中药化学与天然药物化学研究。Tel: (010)64020151 E-mail: ysun@icmm.ac.cn

翁小刚, 研究员, 主要从事中药复方配伍、药动学研究。E-mail: xgweng@icmm.ac.cn

MS/MS technology was used to perform gradient elution on a Waters ACQUITY UPLC-HSS T₃ column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) with 0.1% formic acid water (A)-acetonitrile (B) as mobile phase system. High resolution time-of-flight mass spectrometry electrospray ionization source (ESI) and positive and negative ion scanning modes were used to detect and identify the chemical components of BYT, and the prototype chemical components and metabolites in the drug-containing plasma of BYT rats after multiple and multi-day ig administration were analyzed. Furthermore, key targeting effects and the therapeutic potential of the absorbed prototype components of BYT into blood were predicted using network pharmacological methods through TCMSP database and drug information database. **Results** According to accurate relative molecular mass data and multistage mass spectrometry fragment ions, combined with reference products, databases and literature reports, a total of 133 chemical components in BYT were identified, and it was determined that 35 components could be absorbed into the blood through oral absorption to achieve stable plasma concentration after rats were given BYT by ig. The “component-target” network map of the absorbed prototype components of BYT into blood, core target gene ontology (GO) functional enrichment analysis, Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis, and disease prediction analysis indicated that BYT might act on mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), tumor protein p53 (TP53), signal transducer and activator of transcription and other core targets through eight key components, including ginsenoside Rb1, paeonol, formononetin, echinatin, daidzein, licochalcone A, 6-gingerol and salicylic acid, and exert medicinal effects through the signaling pathways of advanced glycation end products- receptor for advanced glycation end-products (AGE-RAGE), epidermal growth factor receptor (EGFR), janus kinase-signal transducer and activator of transcription (JAK-STAT). It suggests that BYT has many potential therapeutic advantages on such as Alzheimer disease, reperfusion injury, postmenopausal osteoporosis, besides chronic heart failure. There were several derivatives of the same components in the 35 absorbed prototype components of BYT, and one compound can dock with multiple targets, as well multiple analogues dock with the same target, which supporting the theoretical understanding of “multi-component, multi-target synergy of traditional Chinese medicine (formula)” and “multi-component, single-target superposition of traditional Chinese medicine”. **Conclusion** Applying the UPLC-QTOF-MS/MS, network pharmacological and its database, which could provide a feasible scientific method for exploring the pharmacodynamic substances of traditional Chinese medicine (formula) and its molecular mechanism of action, as well clarifying the absorbed prototype components of BYT into blood and identifying some metabolites of some prototype components. And the target of action based on these prototype components was explained from the molecular level, and its potential therapeutic advantages were revealed, so as to provide reference for expanding the clinical application of this prescription and explore more clinical therapeutic potential.

Key words: Baoyuan Decoction; UPLC-QTOF-MS/MS; pharmacodynamic substances; molecular mechanism; network pharmacology; ginsenoside Rb1; paeonol; formononetin; echinatin; daidzein; licochalcone A; 6-gingerol; salicylic acid

保元汤是国家中医药管理局第一批公布的古代经典名方之一，源于明代《博爱心鉴》和《简明医彙》，由人参 1 钱、黄芪 2 钱、甘草 5 分，肉桂 2 分，生姜 1 片组成^[1]，方中人参性禀中和，益元气而生精血，善补脾肺之气，为君药；黄芪味甘性温，固腠理而补元气，与人参相须为用，增强补气之功，为臣药；配伍少量肉桂，取其温通血脉、温肾补阳之功用；甘草味甘性平，可解毒又能补气中和，调和诸药，为佐使药。现代药理研究表明，保元汤具有调节免疫^[2]、促进造血、调节凝血及纤溶平衡、抗氧化、抗应激^[3]等作用^[4]，在临床上常用于心衰、冠心病、缓慢性心律失常等心血管疾病的治疗^[5]。2016 年国家中医药管理局及国家药监局明确规定了生产符合国家规定条件且源于古代经典名方的中药复方制剂后，引起经典名方的研究热潮。作为临床常用经典名方保元汤，大多应用于心血管疾病的治疗上，临床应用相对较局限，保元汤的药效物质基础研究

也较少^[6]，本课题组从事保元汤的现代开发应用，已对保元汤进行了较为系统的研究探索，包括保元汤的处方组成、处方药材基原考证、各项工艺参数的优化、定量分析、指纹图谱的建立及量值传递等研究。国家中医药管理局遴选古代经典名方的原则是，体现“目前仍广泛应用、疗效确切、具有明显特色及优势”；古代中有较多记载及医案证据，现代文献中有较多临床及实验研究报道；得到中医临床进一步凝练、权威专家广泛认可；以及各类中医教材中广为收录等。保元汤能够入选第一批名单，可见其具有广泛的应用和确切的临床疗效基础。为进一步阐明保元汤的药效物质基础及其作用机制，本研究采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术与网络药理学等方法，进行保元汤的化学分析及实验动物药理学研究，探讨保元汤的药效物质基础及其分子水平的作用机制，发掘该方剂的临床治疗潜能。

运用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术，可以高效、准确

地分析复方成分的相对分子质量、元素组成和裂解碎片等信息,可有效识别中药的各类复杂成分及其化学结构,为中药复方现代研究提供了进一步的技术支撑^[7]。同时,采用网络药理学方法,并利用其日臻完善的数据库,通过构建“多成分-多靶点-多途径”多层次的网络用于中药药效物质的筛选及其作用机制分析,可为中药复方的深入研究提供有效的策略^[8]。因此,本研究采用高分辨飞行时间质谱技术对保元汤水煎液以及 ig 给药大鼠的血浆成分进行分析鉴定,结合网络药理学等方法进行系统分析研究,为保元汤的药效物质基础研究和临床高效应用等提供必要的参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC H-Class 型超高效液相系统和 Vion QTOF 型高分辨质谱仪、UNIFI™1.9.4 数据处理软件(美国 Waters 公司);Centrifuge 5424R 型低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司);KQ5200B 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);VX-III 型多管涡旋振荡器(北京踏锦科技有限公司);HDZ20 型智能煎药壶(容量 2 L,额定功率 500 W,稳定电压 220 V,美味世家永达基电器厂);LGJ-10E 型冷冻真空干燥机[四环福瑞科仪科技发展(北京)有限公司]。

1.2 药材与试剂

实验用对照品咖啡酸(批号 120160505)、肉桂酸(批号 20091329)、桂皮醛(批号 21051103)、槲皮素(批号 10081-9905)、6-姜辣素(批号 20041903)、姜黄素(批号 151022)、黄芪甲苷(批号 21050701)、甘草苷(批号 20091106)、甘草酸(批号 20041302)、毛蕊异黄酮苷(批号 21010901)、人参皂苷 Rg₁(批号 20110810)、人参皂苷 Rb₁(批号 21011625)、人参皂苷 Rf(批号 21071411)、人参皂苷 Re(批号 21012405)、人参皂苷 F₁(批号 O0915AS)购自北京倍特仁康生物医药科技有限公司,对照品质量分数均>98%。乙腈、甲醇、甲酸(美国 Fisher 公司)均为质谱纯;水为屈臣氏饮用水;其他试剂均为分析纯。

人参(批号 RS220311)、黄芪(批号 HQ220402)、甘草(批号 GC220406)、肉桂(批号 RG220315)、生姜(批号 SJY501-21-10-004),购于江苏万邦生化医药公司,均来源于道地产区或主产区,经中国中医科学院中药研究所孙奕研究员鉴定,5 味药材分别为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎,豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根,

豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎,樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮,姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。

1.3 动物

SD 大鼠,SPF 级,雄性,体质量 200~300 g,动物来源机构许可证号:SCXK(京)2021-0011 或者 SCXK(京)2021-0006;饲养于中国中医科学院中药研究所 SPF 级动物房,动物实验伦理审批单位为中国中医科学院中药研究所,批准文号 2022B023。

2 方法

2.1 分析溶液的制备

2.1.1 保元汤水提液化学成分分析

(1) 保元汤水提液制备:分别取 3 倍处方剂量药材饮片人参 11.2 g、黄芪 22.4 g、甘草 5.6 g、肉桂 2.3 g、生姜片约 9.0 g,加水 1200 mL,浸泡 60 min,以武火煮沸后转文火继续煎煮至 480 mL,多层纱布趁热滤过,取续滤液;药渣再加水 900 mL,煎煮至 420 mL,多层纱布趁热滤过,取续滤液,合并 2 次滤液,得提取液。将少量提取液经 0.22 μm 滤膜滤过,取 2 μL 液质分析。

(2) 对照品溶液制备:精密称取各对照品约 1.0 mg,精密称定,加入甲醇配制成 1.0 mg/mL 的单一对照品储备液。从上述各单一对照品储备液中精密量取储备液各 100 μL,加入甲醇稀释,配制成质量浓度为 0.05 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.2 保元汤入血成分分析

(1) 保元汤 ig 液制备:称取保元汤水提液冻干粉末,加适量饮用水配制成 0.14 g/mL 的 ig 受试液。

(2) 血浆样品采集与处理:经预试验,确定动物给药及采血方案:6 只 SD 雄性大鼠,分为给药组与空白组,每组 3 只,给药前禁食 12 h,自由饮水,保元汤 2 倍临床等效剂量 ig 给药(1.41 g/kg),给药容积 1 mL/100 g,空白组给予同等体积的蒸馏水,每天给药 2 次,连续给药 1 周,1 周后戊巴比妥钠麻醉,腹腔主动脉取血,肝素管抗凝,静置,4 ℃,3500 r/min,离心 15 min,取上清液则为含药血浆^[9]。

取含药血浆样品 200 μL,加入甲醇 800 μL 沉淀蛋白,涡旋 5 min,离心(转速 13 000 r/min,15 min),取上清,氮气吹干,备用。固相萃取柱活化,取氮气吹干后样品加 0.5 mL 水溶解,涡旋 2 min 后上样,以 5 mL 水洗脱,收集洗脱液,再用 5 mL 的 70%甲醇洗脱,收集 2 种洗脱液,将水洗脱液和甲醇洗脱液 13 000 r/min 条件下离心 15 min,取上清液,70%甲醇

洗脱液经氮气吹干, 100 μ L 70% 甲醇复溶, 经 0.22 μ m 滤膜滤过, 得血浆样品进行分析。空白血浆处理方法同上。

2.2 UPLC-MS/MS 条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS-T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m), 流动相: 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~3 min, 2%~19% B; 3~8 min, 19% B; 8~8.1 min, 19%~22% B; 8.1~14 min, 22%~29% B; 14~16 min, 29% B; 16~32 min, 29%~45% B; 32~32.1 min, 45%~90% B; 32.1~35 min, 90%~95% B; 35~36 min, 95% B; 36~40 min, 95%~2% B; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 进样量 2 μ L。

2.2.2 质谱条件 采用电喷雾离子源 (ESI), 扫描方式为 MS⁺ 模式, 正、负离子模式下离子源工作参数为毛细管电压 3.0 kV, 锥孔电压 30 V, 锥孔反吹气流量 (N₂) 50 L/h, 脱溶剂气流量 1000 L/h, 离子源温度 120 $^{\circ}$ C, 脱溶剂气温度 450 $^{\circ}$ C, 扫描范围 m/z 50~1500, 数据分析采用 UNIFITM 1.9.4 质谱分析软件进行数据采集分析。

2.3 化合物鉴别与结构分析

采用 UNIFITM 1.9.4 质谱分析软件进行数据采集和分析, 通过 Chemspider 数据库、chemical book 数据库、本课题组化学成分实验数据库以及结合可参考文献数据, 建立包含保元汤 5 味药材化学成分的质谱内部数据库, 通过精确相对分子质量、离子碎片信息以及对照品比对鉴定化合物, 并按照化合物结构类型进行总结归纳; 入血成分的鉴定方法同上, 给药后血浆与方剂提取液离子峰的保留时间、质荷比一致的化合物, 则确认为保元汤中的入血成分, 并对其中特征成分的代谢产物进行鉴别。

2.4 网络药理学分析

2.4.1 保元汤潜在作用靶点 将经 UPLC-QTOF-MS/MS 分析鉴定后的保元汤入血原型成分, 通过 TCMSP 数据库和药物信息数据库 Drug Bank (<http://www.drugbank.ca/>) 找到与之对应的靶蛋白。

2.4.2 网络构建 在 Uniprot 数据库中查找靶点蛋白对应的基因名称和编号, 将活性成分及相关靶点基因名导入网络可视化软件 Cytoscape 3.8.2, 运用 Cytoscape 软件构建保元汤入血活性成分-靶点网络。通过网络将活性入血成分与作用靶点相关联, 实现从保元汤主要入血成分到作用靶点分析, 通过 String 数据库对相应的靶点绘制蛋白相互作用 (protein-protein

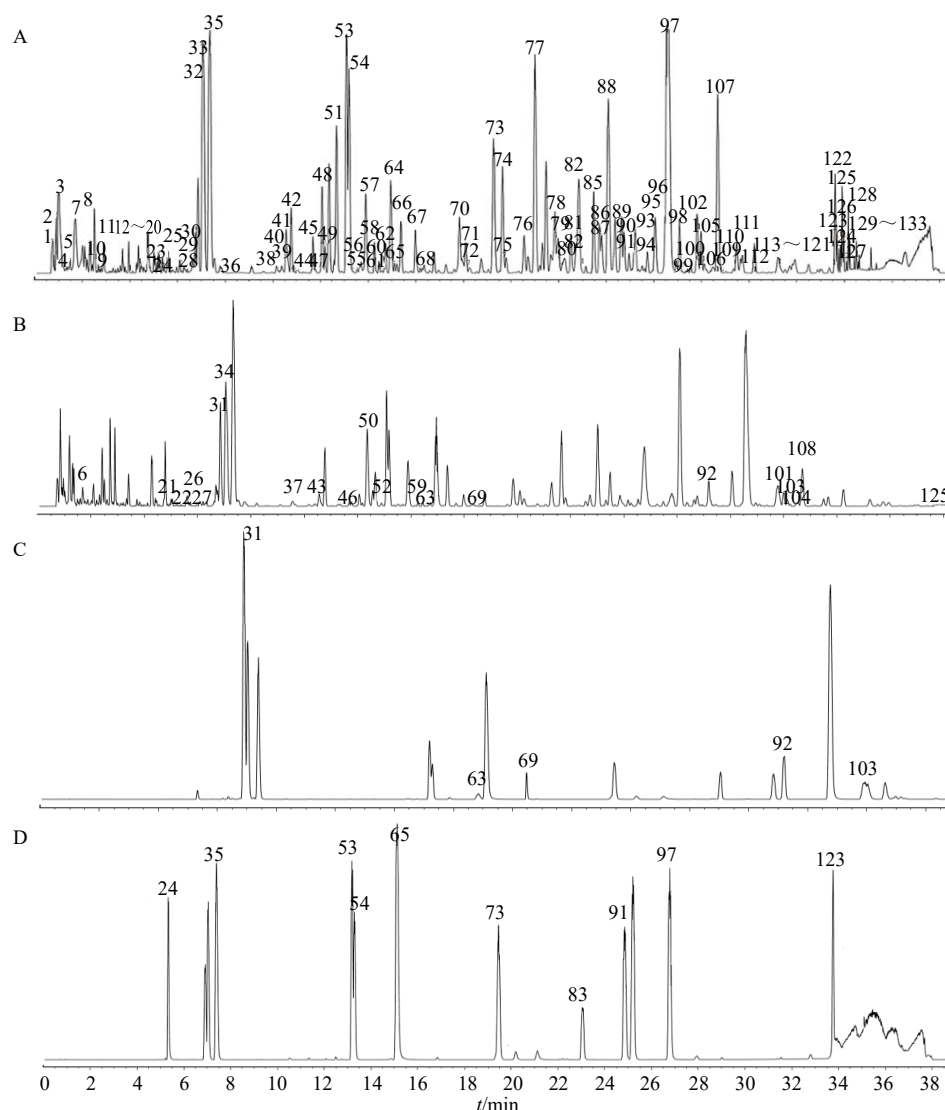
interaction, PPI) 网络图, 通过节点度 (degree) 值与 combined score 值大小筛选核心靶点。

2.4.3 数据分析处理与疾病预测 构建的“成分-靶点”网络图, 运用 Cytoscape 软件中的工具 Network Analyzer 来分析中介中心度 (betweenness centrality) 和节点度这 2 个重要的网络拓扑参数; 利用 Metascape 数据库对获得的靶基因进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。Bonferroni 法校正后 $P < 0.01$ 的项目被认为是显著富集, 故根据 $P < 0.01$, 进行筛选相关的生物过程 (biology process, BP)、细胞组成 (cellular componet, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 以及 KEGG 富集后的主要通路。最后, 将 KEGG 信号通路经 FDR 筛选, 输入 CTD 数据库进行疾病预测。

3 结果

3.1 保元汤水提液化学成分鉴定

通过文献综述等方法整理出人参、黄芪、甘草、肉桂、生姜 5 味中药化学成分, 得到保元汤主要化学成分 389 种^[10-11], 其中人参 75 种、黄芪 109 种、甘草 162 种、肉桂 43 种、生姜 67 种。通过 Chemspider 数据库和 Chemical Book 数据库下载保元汤主要化学成分 mol 格式文件, 在 UNIFITM 1.9.4 中建立了包含 215 种化学成分的内部数据库。对 UPLC-QTOF-MS/MS 的采集数据对库, 结合本课题组内部数据库及文献中质谱裂解规律及对照品比对共鉴别出 133 个成分, 保元汤水提液正、负离子模式下的总离子流图及成分归属见图 1, 保元汤水提液化学成分见表 1, 主要化学成分为皂苷和黄酮类。典型化合物质谱裂解规律如下, (1) 皂苷类: 化合物 **83** ($t_R = 22.85$ min) 在负离子模式下检测得到准分子离子峰为 m/z 1153.60 [M+HCOO]⁻, 1107.5984 [M-H]⁻, 其二级质谱图 (图 2-B) 上可看到碎片离子 m/z 945.5445 [M-H-Glc]⁻, 783.4917 [M-H-GlcGlc]⁻, 621.4385 [M-H-GlcGlcGlc]⁻, 经查阅文献, 并与对照品比较, 推断化合物 **83** 为人参皂苷 Rb₁。化合物 **53** ($t_R = 13.08$ min) 准分子离子峰为 m/z 799.4860 [M-H]⁻, 845.4919 [M+HCOO]⁻, 637.4331 [M-H-Glc]⁻, 475.3797 [M-H-GlcGlc]⁻, 经查阅文献, 并与对照品比较, 推断 **53** 为人参皂苷 Rg₁ (图 2-A)。通过以上规律可以得出皂苷的裂解以糖苷键的断裂为主, 类似的化合物 **54** 被推断为 Re, 其余化合物类比鉴别。(2) 黄酮类: 化合物 **35** ($t_R = 7.34$ min) 准分子离子峰为 m/z



A-保元汤负离子流图 B-保元汤正离子流图 C-混合对照品正离子流图 D-混合对照品负离子流图

A-BYT in negative ions mode B-BYT in positive ions mode C-mixture of the references in positive ion mode D-mixture of the references in negative ion mode

图 1 保元汤水提液 UPLC-QTOF-MS/MS 总离子流图 (正、负离子模式)

Fig. 1 Total ion flow diagrams of the water extracted of Baoyuan Decoction by UPLC-QTOF-MS/MS analysis in negative (ESI⁻) and positive (ESI⁺) ion modes

表 1 保元汤提取液化学成分信息

Table 1 UPLC-QTOF-MS/MS data of the chemical composition of Baoyuan Decoction extracting solution

编号	<i>t</i> _R /min	分子式	理论值	测定值	离子模式	误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS	化合物	来源	文献
1	0.75	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	146.105 5	145.097 9	[M-H] ⁻	-2.4	131.08, 100.03	赖氨酸	R、H、G	11
2	0.81	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	174.111 7	173.103 8	[M-H] ⁻	-3.5	156.07, 131.08	精氨酸	R、H、G	11
3	0.91	C ₆ H ₁₂ O ₇	196.058 3	195.050 2	[M-H] ⁻	-4.2	177.04, 129.01, 85.02	葡萄糖酸	R、H、G	11
4	1.07	C ₄ H ₄ O ₄	116.011 0	115.003 7	[M-H] ⁻	-0.2	71.01	延胡索酸	G、H	11
5	1.27	C ₄ H ₆ O ₅	134.021 5	133.013 9	[M-H] ⁻	-2.6	115.00	苹果酸	R、H、G	11
6	1.69	C ₉ H ₆ O ₂	146.036 8	164.070 0	[M+NH ₄] ⁺	-3.9	130.04, 68.99	香豆素	C、H	11
7	1.86	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.079 0	289.070 9	[M-H] ⁻	-3.0	137.02, 109.02	表儿茶酸	C	11
8	2.51	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.094 6	130.087 0	[M-H] ⁻	-3.0	95.02	异亮氨酸	R、H、G	11

续表 1

编号	t_R/min	分子式	理论值	测定值	离子模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS/MS	化合物	来源	文献
9	2.67	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$	267.096 8	266.088 7	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-3.0	179.05, 1 134.04	腺苷	R、H、G	11
10	2.90	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_3$	105.042 6	150.040 2	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-4.7	—	丝氨酸	R、H、G	11
11	2.95	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$	118.026 6	163.025 5	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	4.4	99.00, 73.02	琥珀酸	H、G	11
12	3.32	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$	288.099 8	287.091 9	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-2.0	288.09, 150.04	7,2',3'-三羟基-4'-甲氧基 异黄酮	H	12
13	3.50	$\text{C}_8\text{H}_9\text{N}$	119.073 5	164.071 1	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-3.6	103.05	3-乙烯基苯胺	R、H、G	11
14	3.72	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$	168.042 3	167.034 3	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-4.0	108.02, 96.95	香草酸	G	11
15	3.78	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$	322.120 5	321.113 8	$[\text{M}-\text{H}]^-$	1.6	123.04, 108.02	甘草黄酮 A	G	11
16	4.02	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	314.079 0	359.076 0	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-3.5	283.02, 255.03	华良姜素	H、G	11
17	4.35	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	204.089 9	203.082 6	$[\text{M}-\text{H}]^-$	0.1	129.05, 116.05	色氨酸	R、H、G	11
18	4.78	$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_{16}$	642.216 0	687.213 4	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-1.1	461.13, 417.12	7-羟基-3',4'-二甲氧基- 2',5'-二葡萄糖异黄酮苷	H	13
19	4.79	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	594.158 5	639.157 0	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	0.5	455.09, 425.16, 197.07	芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C- 木糖苷	G	13
20	4.84	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	166.063 0	165.055 1	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-3.7	150.03, 135.05, 122.03	丹皮酚	R	13
21	5.05	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$	176.047 3	177.054 9	$[\text{M}+\text{H}]^+$	1.8	—	7-甲氧基香豆素	G	
22	5.32	$\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_4$	148.052 4	166.086 1	$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	-0.6	—	香豆酸	C	13
23	5.35	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	290.079 0	289.071 7	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-0.2	137.02, 109.02	儿茶素	C	10
24*	5.38	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	180.042 3	179.035 8	$[\text{M}-\text{H}]^-$	4.5	135.05	咖啡酸*	H、G	13
25	5.42	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	564.147 9	563.142 1	$[\text{M}-\text{H}]^-$	2.5	443.10, 383.07, 353.06	夏佛塔苷	G	11
26	6.05	$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3$	261.136 5	279.169 5	$[\text{M}+\text{NH}_4]^+$	-2.9	—	polycanthine	H	19
27	6.16	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	314.079 0	315.086 0	$[\text{M}+\text{H}]^+$	-0.9	—	8,3'-二羟基-7,4'-二甲氧基 异黄酮	H	13
28	6.30	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$	164.047 3	209.044 7	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-4.2	119.04, 93.03	4-羟基肉桂酸	H、G	13
29	6.61	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	578.163 6	577.156 2	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-0.1	473.10, 353.06, 208.03	佛菜心苷	G	14
30	6.75	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	550.168 6	549.160 2	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-2.1	417.11, 297.07, 135.00	芹糖甘草苷	G	15
31*	6.85	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	446.121 3	447.129 9	$[\text{M}+\text{H}]^+$	3.0	283.06, 268.03, 148.01	毛蕊异黄酮苷*	H	16
32	7.10	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	432.105 6	431.096 7	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-3.8	269.04	染料木苷	G	11
33	7.12	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	550.168 6	549.161 3	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-0.1	417.11, 297.07, 135.00, 91.01	芹糖异甘草苷	G	16
34	7.19	$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$	292.105 9	315.095 0	$[\text{M}+\text{Na}]^+$	-0.3	—	黄芪碱 E	H	13
35*	7.34	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	418.126 4	417.119 4	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-4.0	255.06, 135.00, 119.05	甘草苷*	G	16
36	8.25	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	478.111 1	523.110 1	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	1.4	431.09, 269.04, 193.05	异鼠李素-3-葡萄糖苷	H	13
37	9.56	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_3$	119.058 2	120.065 8	$[\text{M}+\text{H}]^+$	2.7	—	苏氨酸	H、R、G	11
38	9.81	$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_{15}$	626.221 1	671.219 6	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	0.5	463.15, 301.10	3',4'-二甲氧基-7,2'-二葡 萄糖异黄酮苷	H	13
39	10.01	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	446.121 3	491.119 3	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-0.3	283.05, 243.89	3'-甲氧基-5'-羟基异黄酮- 7-O- β -D-葡萄糖苷	H	13
40	10.34	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	564.147 9	563.139 7	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-1.7	431.09, 269.04	芹菜苷	G	16
41	10.41	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	462.116 2	507.114 3	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-0.2	399.10, 135.00	山柰素-4'-甲醚-3-葡萄糖苷	H	13
42	10.56	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$	286.084 1	285.077 0	$[\text{M}-\text{H}]^-$	0.6	253.05, 150.03, 177.01	甘草查耳酮 B	G	11
43	10.62	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	256.073 6	257.079 7	$[\text{M}+\text{H}]^+$	-4.3	—	异甘草素	G	10
44	10.64	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	138.031 7	137.024 3	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-1.0	119.04, 93.03	水杨酸	H、G	11

续表 1

编号	<i>t_R</i> /min	分子式	理论值	测定值	离子模式	误差 (×10 ⁻⁶)	MS/MS	化合物	来源	文献
45	11.68	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	962.545 0	1 007.548 1	[M+HCOO] ⁻	4.8	1 799.48, 452.21, 195.06	越南参皂苷 R ₄	R	10
46	11.77	C ₃₆ H ₆₀ O ₉	636.423 7	637.431 2	[M+H] ⁺	0.2	—	mongholicoside I	H	19
47	11.79	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₃	562.168 6	561.162 8	[M-H] ⁻	2.6	309.07, 267.06, 252.04	glycyroside	G	11
48	12.17	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₈	932.534 5	977.532 9	[M+HCOO] ⁻	0.2	799.48, 637.43	三七皂苷 R ₁	R	10
49	12.36	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	430.126 4	475.123 4	[M+HCOO] ⁻	-2.6	267.06, 252.04, 211.13	芒柄花苷	H、G	11
50	12.43	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	800.492 2	801.499 8	[M+H] ⁺	0.4	—	拟人参皂苷 F11	R	10
51	12.58	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	550.168 6	549.162 8	[M+HCOO] ⁻	2.7	429.10, 283.06, 193.05	异甘草呋喃糖苷	G	15
52	12.99	C ₉ H ₁₀ O	134.073 2	152.107 1	[M+NH ₄] ⁺	0.9	—	氢化肉桂醛	C	13
53*	13.08	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	800.492 2	845.491 9	[M+HCOO] ⁻	3.6	637.43, 475.37, 391.65	人参皂苷 R _{g1} [*]	R	17
54*	13.19	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	946.550 1	991.550 7	[M+HCOO] ⁻	2.4	845.49, 799.49	人参皂苷 R _e [*]	R	18
55	13.52	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.057 9	253.050 5	[M-H] ⁻	-0.5	225.14, 135.00, 117.03	大豆异黄酮	G	11
56	13.82	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	434.121 3	433.112 2	[M-H] ⁻	-4.1	271.058, 151.00, 177.01	choerospondin	G	11
57	13.90	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.073 6	255.066 8	[M-H] ⁻	2.1	135.00, 119.047, 91.01	甘草素	G	11
58	14.04	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	338.115 4	337.106 8	[M-H] ⁻	-0.6	282.05, 267.02	甘草宁 C	G	11
59	14.33	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	800.492 2	801.499 9	[M+H] ⁺	0.5	—	三七皂苷 R ₂	R	10
60	14.62	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.057 9	239.055 6	[M+HCOO] ⁻	-2.3	—	异阿魏酸	H、G	11
61	14.72	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₀	464.168 3	463.160 7	[M-H] ⁻	-0.6	—	2'-羟基-3',4'-二甲氧基异 黄烷-7-O-β-D-葡萄糖苷	H	13
62	14.78	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.126 4	463.126 8	[M+HCOO] ⁻	4.9	417.11, 255.06	新甘草苷	G	11
63*	14.84	C ₉ H ₈ O ₂	148.052 4	149.060 2	[M+H] ⁺	-3.4	103.06	肉桂酸*	C	13
64	14.95	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.068 5	283.061 5	[M-H] ⁻	1.0	268.03, 120.02, 148.01	毛蕊异黄酮	H	11
65*	15.11	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.042 7	301.036 4	[M-H] ⁻	3.6	151.01, 121.04	槲皮素*	H、G	19
66	15.61	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	432.142 0	477.140 4	[M+HCOO] ⁻	0.2	269.08, 152.99	奥刀拉亭-7-O-β-D-葡萄糖苷	H	11
67	15.99	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₆	824.419 4	823.412 9	[M-H] ⁻	0.9	647.38, 351.05	乌拉尔甘草皂苷 C	G	10
68	16.30	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.099 8	299.091 3	[M-H] ⁻	-4.1	—	(6αR,11αR)-10-羟基-3,9- 二甲氧基紫檀烷	H	19
69*	16.35	C ₉ H ₈ O	132.057 5	133.065 0	[M+H] ⁺	1.5	115.07, 80.07	桂皮醛*	C	13
70	17.84	C ₄₄ H ₆₄ O ₁₉	896.404 2	895.398 3	[M-H] ⁻	1.6	719.36, 351.05	乌拉尔甘草皂苷 F	G	10
71	18.10	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.052 8	269.045 6	[M-H] ⁻	0.2	252.04, 178.02	5-脱氧茨非醇	H	11
72	18.28	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.089 2	315.087 0	[M+HCOO] ⁻	-1.4	—	刺甘草查耳酮	G	11
73*	19.40	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	800.492 2	845.492 5	[M+HCOO] ⁻	2.5	637.43, 475.37	人参皂苷 R _f [*]	R	11
74	19.46	C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉	946.513 7	991.515 9	[M+HCOO] ⁻	4.0	825.43, 634.32, 255.23	黄芪皂苷 VI	H	10
75	19.80	C ₅₀ H ₇₄ O ₂₂	1 026.467 2	1 025.463 3	[M-H] ⁻	3.3	497.11, 351.05	乌拉尔甘草皂苷 X	G	10
76	20.55	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	770.481 6	815.483 1	[M+HCOO] ⁻	4.0	637.43, 475.48	人皂苷参 F3	R	10
77	21.01	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	784.460 9	829.463 0	[M+HCOO] ⁻	4.7	769.47, 508.30	黄芪皂苷 III	H	10
78	21.84	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	784.497 3	829.493 7	[M+HCOO] ⁻	-2.1	621.43, 459.38	20(S)-人参皂苷 R _{g3}	R	11
79	21.95	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	638.439 4	683.440 8	[M+HCOO] ⁻	4.7	637.43, 475.38	人参皂苷 Rh ₁	R	10
80	22.24	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆	1 210.634 6	1 255.633 2	[M+HCOO] ⁻	0.3	945.54, 783.49, 119.05	人参皂苷 Ra ₁	R	10
81	22.53	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆	1 210.634 6	1 255.633 2	[M+HCOO] ⁻	0.3	945.55, 783.49, 621.44	三七皂苷 Fc	R	10
82	22.74	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268.073 6	267.066 7	[M-H] ⁻	1.5	195.04, 135.00, 91.01	刺芒柄花素	G、H	11
83*	22.85	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	1 108.602 9	1 153.602 6	[M+HCOO] ⁻	1.3	945.54, 783.49, 621.43, 459.50	人参皂苷 R _{b1} [*]	R	20
84	23.00	C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉	946.513 7	991.513 6	[M+HCOO] ⁻	1.7	809.42, 769.47, 599.32	黄芪皂苷 V	H	19

续表 1

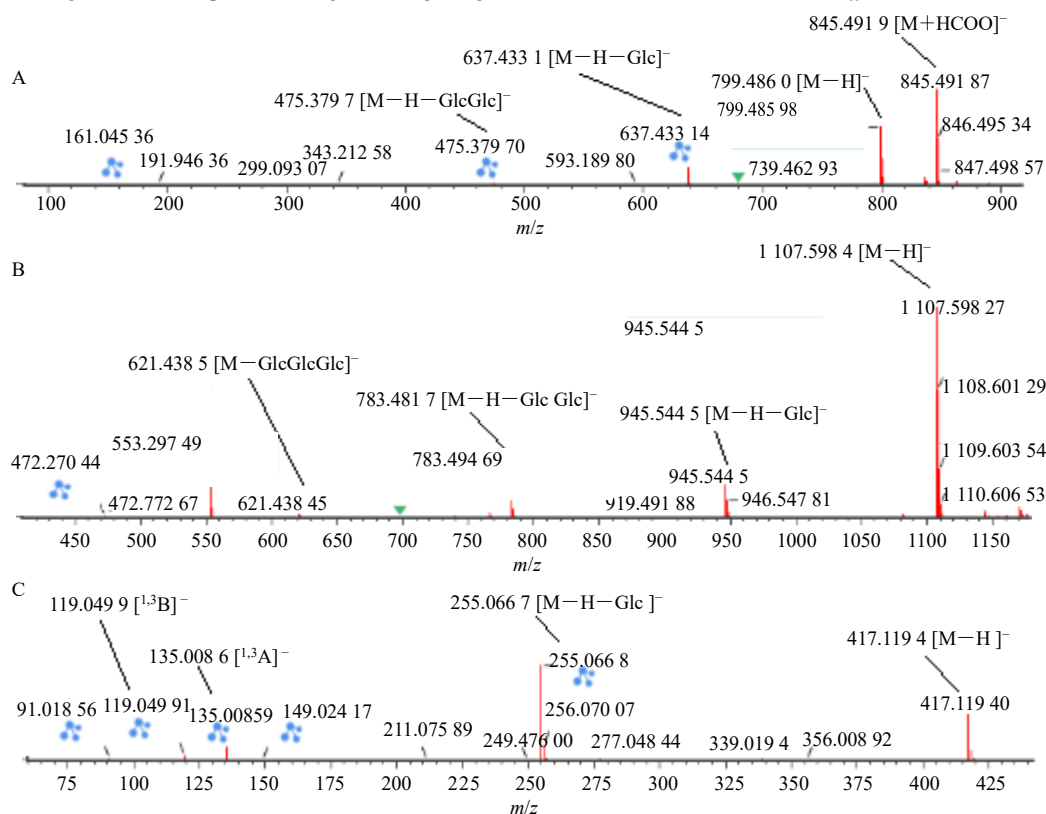
编号	<i>t_R</i> /min	分子式	理论值	测定值	离子模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS/MS	化合物	来源	文献
85	23.47	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₆	1 194.603 3	1 193.598 4	[M-H] ⁻	1.9	983.48, 783.49, 621.43	丙二酰基人参皂苷 Rb ₁	R	10
86	23.72	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	1 078.592 4	1 123.587	[M+HCOO] ⁻	-3.2	783.49, 621.44, 459.38	人参皂苷 Rb ₃	R	10
87	23.80	C ₄₂ H ₆₀ O ₁₆	820.388 1	819.380 7	[M-H] ⁻	-0.1	647.35, 351.05	甘草皂苷 E2	G	21
88	24.10	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	838.398 7	837.392 2	[M-H] ⁻	1.0	775.39, 661.36, 351.05	甘草皂苷 G ₂	G	21
89	24.63	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	1 078.592 4	1 123.592 5	[M+HCOO] ⁻	1.7	1 123.59, 621.43, 459.38	20(R)-人参皂苷 Rg ₃	R	11
90	24.74	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₆	1 194.603 3	1 193.593 0	[M-H] ⁻	-2.6	835.41, 599.31, 351.05	丙二酰基人参皂苷 Rc	R	10
91*	24.95	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	784.460 9	829.459 8	[M+HCOO] ⁻	0.3	621.43, 489.36, 651.41	黄芪甲苷 IV*	H	10
92*	25.19	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	638.439 4	661.431 1	[M+Na] ⁺	3.8	423.36, 203.19	人参皂苷 F1*	R	10
93	25.22	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	956.498 1	1 001.498 9	[M+HCOO] ⁻	2.7	837.39, 783.48, 351.05	人参皂苷 Ro	R	20
94	25.73	C ₅₆ H ₉₄ O ₂₄	1 150.613 5	1 195.606 6	[M+HCOO] ⁻	-4.3	1 089.58, 783.49	西洋参皂苷 R ₁	R	10
95	26.30	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	368.126 0	367.117 6	[M-H] ⁻	-3.0	352.09, 281.04, 265.05	甘草香豆素	G	21
96	26.40	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	946.550 1	991.552 1	[M+HCOO] ⁻	3.8	991.55, 945.54, 783.48	人参皂苷 Rd	R	20
97*	26.60	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	822.403 8	821.397 8	[M-H] ⁻	1.5	351.05, 193.03	甘草酸*	G	21
98	27.07	C ₅₀ H ₈₄ O ₁₉	988.560 7	1 033.554 6	[M+HCOO] ⁻	-4.2	945.54, 604.31, 351.05	拟人参皂苷 Rc ₁	R	10
99	27.41	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₁	1 032.550 5	1 031.540 8	[M+HCOO] ⁻	-2.4	985.46, 783.48, 351.05	丙二酰基人参皂 Rd	R	10
100	27.54	C ₅₅ H ₉₂ O ₂₃	1 120.602 9	1 165.602 5	[M+HCOO] ⁻	1.2	783.49, 559.29, 171.10	人参皂苷 Rs ₂	R	10
101	27.66	C ₃₅ H ₅₈ O ₉	622.408 1	645.395 8	[M+Na] ⁺	-2.4	-	膜荚黄芪苷 II	H	19
102	27.82	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅	826.471 5	871.470 6	[M+HCOO] ⁻	1.1	783.46, 621.43	黄芪皂苷 II	H	10
103*	27.93	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	294.183 1	317.170 91	[M+Na] ⁺	-4.5	177.09, 137.06	6-姜辣素*	S	22
104	28.00	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456.360 3	457.367 2	[M+H] ⁺	-0.8	-	甘草萜醇	G	21
105	28.13	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	946.550 1	991.552 1	[M+HCOO] ⁻	3.8	793.44, 508.30, 367.12	七叶胆苷 XVII	R	10
106	28.46	C ₄₉ H ₈₀ O ₂₀	988.524 3	987.519 7	[M-H] ⁻	2.7	941.51, 821.40, 725.38	agroastragaloside IV	H	19
107	28.68	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	822.403 8	821.397 8	[M-H] ⁻	1.5	645.36, 351.05	甘草皂苷 H ₂	G	21
108	28.70	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470.339 6	471.345 3	[M+H] ⁺	-3.5	-	18β-甘草次酸	G	21
109	28.80	C ₄₃ H ₇₂ O ₁₅	828.487 1	827.481 4	[M-H] ⁻	1.8	781.47, 599.32	agroastragaloside II	H	19
110	29.03	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₁	1 030.534 9	1 075.536 1	[M+HCOO] ⁻	2.8	925.48, 611.28	agroastragaloside III	H	19
111	29.48	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₃	764.434 7	809.432 3	[M+HCOO] ⁻	-0.8	739.42, 508.30	假人参皂苷 Rp ₁	R	10
112	29.70	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	912.508 3	957.507 6	[M+HCOO] ⁻	1.2	795.45, 520.30, 125.02	agroastragaloside I	H	19
113	30.22	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	962.545 0	961.537 3	[M-H] ⁻	-0.5	799.48, 570.29, 341.10	20-O-葡萄糖基人参皂苷 Rf	R	10
114	30.50	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	766.486 7	811.486 2	[M+HCOO] ⁻	1.6	619.42, 467.30	人参皂苷 F ₄	R	10
115	30.61	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₂	752.471 1	797.470 5	[M+HCOO] ⁻	1.5	663.37, 351.05	三七皂苷 T ₅	R	10
116	31.24	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	766.486 7	811.486 5	[M+HCOO] ⁻	2.0	765.47, 619.42	人参皂苷 Rg ₆	R	
117	31.75	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	352.094 7	351.087 9	[M-H] ⁻	1.3	296.03, 177.02	半甘草异黄酮 B	G	21
118	31.93	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₅	806.408 9	805.402 6	[M-H] ⁻	1.2	787.39, 351.08	甘草皂苷 C ₂	G	21
119	32.49	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₅	808.424 5	807.417 8	[M-H] ⁻	0.7	789.42, 631.38, 351.05	甘草皂苷 B ₂	G	21
120	33.36	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	794.445 3	793.441 2	[M-H] ⁻	4.1	613.37, 523.38	姜状三七苷 R ₁	R	10
121	33.61	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	868.482 0	913.482 2	[M+HCOO] ⁻	2.1	821.40, 707.44, 313.23	异黄芪皂苷 I	H	10
122	33.70	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	382.141 6	381.133 4	[M-H] ⁻	-2.5	366.11, 351.08, 323.05, 311.21	甘草利酮	G	11
123*	33.76	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	368.126 0	367.120 5	[M-H] ⁻	4.9	217.07, 149.08	姜黄素*	S	22
124	33.85	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	338.151 8	337.143 2	[M-H] ⁻	-3.9	305.11, 197.02, 116.92	甘草查耳酮 A	G	11
125	33.99	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	278.224 6	279.231 3	[M+H] ⁺	-2.1	-	亚麻酸	H	10
126	34.03	C ₂₁ H ₁₈ O ₆	366.110 3	365.102 2	[M-H] ⁻	-2.3	307.02, 255.23	甘草酚	G	21

续表 1

编号	t_R/min	分子式	理论值	测定值	离子模式	误差 ($\times 10^{-6}$)	MS/MS	化合物	来源	文献
127	34.16	$\text{C}_{45}\text{H}_{72}\text{O}_{16}$	868.482 0	913.476 5	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	-4.1	783.49, 621.43, 489.36	cyclosiervisioside B	H	19
128	34.23	$\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6$	352.094 7	351.085 8	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-4.6	283.10, 265.08, 241.08	甘草异黄酮 B	G	11
129	34.32	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_3$	276.172 5	275.164 4	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-3.0	199.85, 117.92	姜脑	S	22
130	34.42	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_4$	292.167 5	291.160 8	$[\text{M}-\text{H}]^-$	2.2	263.16, 116.92	6-姜二酮	S	22
131	34.51	$\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6$	424.188 6	423.179 9	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-3.3	229.08, 193.08, 135.04	甘草宁 E	G	10
132	34.60	$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_6$	422.172 9	421.165 3	$[\text{M}-\text{H}]^-$	-0.8	281.24, 177.09	异黄酮 A	H	21
133	36.10	$\text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{O}_8$	622.444 5	621.437 2	$[\text{M}-\text{H}]^-$	0	493.31, 339.23, 265.14	20(R)-人参皂苷 Rh_2	R	10

“*”表示有对照品;“-”表示该成分未查到确定碎片;表中来源用字母代表各药材(R-人参, H-黄芪, G-甘草, S-生姜, C-肉桂)

“*”represents having standards;“-”represents no fragment; R-*P.ginseng*, H-*A. membranaceus*, G-*G. uralensis*, S-*Z. officinale*, C-*C. cassia*, respectively.



A-人参皂苷 Rg_1 B-人参皂苷 Rb_1 C-甘草苷
A-ginsenoside Rg_1 B-ginsenoside Rb_1 C-liquiritin

图 2 代表性化合物的二级质谱碎片图

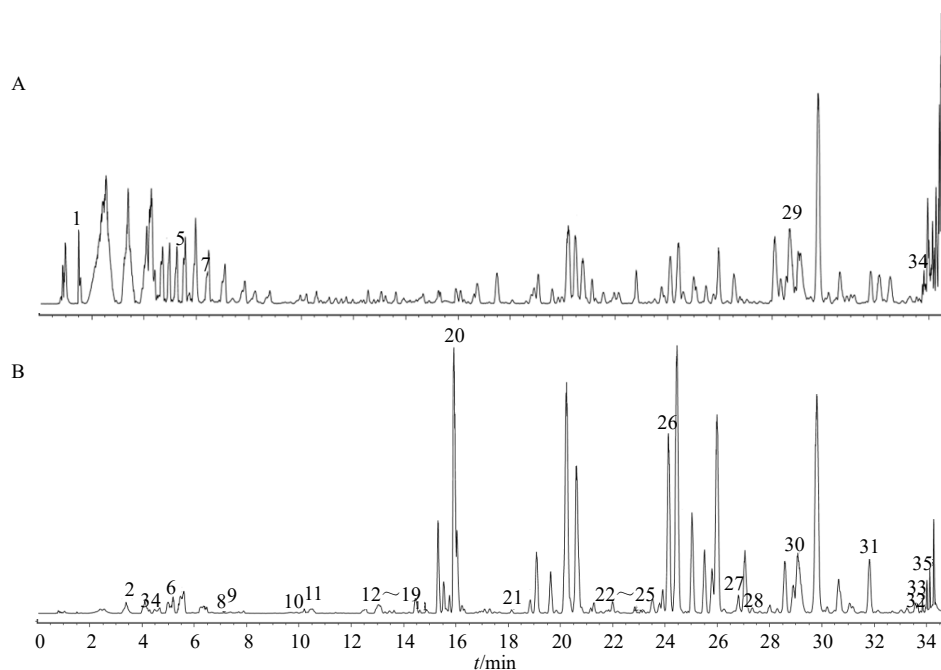
Fig. 2 Secondary mass spectrometry fragments of representative compounds

417.119 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 其二级质谱图上可见碎片离子 m/z 255.066 7 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$, 135.008 6, 119.049 9, 结合文献, 糖苷键的断裂和 RDA 裂解是黄酮类化合物的主要质谱裂解规律, 故推测 135.008 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$, 119.049 9 $[\text{M}-\text{H}-\text{Glc}]^-$, 与对照品比对, 推断 35 为甘草苷(图 2-C), 其余化合物依次类推得出。

3.2 保元汤水提液主要入血化学成分鉴定

前项研究已得保元汤水提液化合物鉴定结果,

由于水提液化合物鉴别方法的色谱条件、质谱条件等与大鼠含药血浆中入血成分鉴定方法一致, 因此保元汤水提液化合物保留时间及特征离子与血浆中入血成分数据也高度一致, 以保元汤水提液中化合物信息为基准, 构建“保元汤入血成分数据库”, 采用 UNIFI™1.9.4 进行数据匹配, 对保元汤的入血成分进行识别(图 3), 共鉴定出 35 个入血成分(表 2), 其中包括 9 个皂苷类、14 个黄酮类、4 个有机



A-血浆样品 70%甲醇层正离子流图 B-血浆样品 70%甲醇层负离子流图

A-positive ion flow diagram of 70% methanol layer in plasma samples B-negative ion flow diagram of 70% methanol layer of plasma samples

图 3 血浆样品正 (ESI⁺)、负 (ESI⁻) 离子模式下总离子流图Fig. 3 Total ion flow diagrams of plasma samples in positive (ESI⁺) and negative (ESI⁻) ion modes

酸, 8 个其他类成分, 对其中代表性成分中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷、甘草苷、人参皂苷 Rb₁、甘草酸进行代谢产物鉴定, 鉴定结果见表 3。

3.3 基于网络药理学的功效物质及其靶点预测

通过 TCMSP 数据库和 Drug bank 数据库检索并与文献比对, 保元汤 35 个入血原型成分中共有 27 个入血成分能得到对应的靶点, 共有 193 个对应作用靶点。通过 Uniprot 进行基因名称的转化, 利用 Cytoscape 构建出“成分-靶点”网络图 (图 4), betweenness centrality 和 degree 均大于平均值的主要成分有人参皂苷 Rb₁、丹皮酚、大豆异黄酮、刺甘草查耳酮、6-姜辣素、甘草查耳酮 A、刺芒柄花素、水杨酸 (表 4)。利用 String 数据构建 PPI 网络图 (图 5), 根据 degree 以及 combined score 筛选关键靶点, 主要靶点分别为 E1 结合蛋白 P300 (E1A binding protein p300, EP300)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein P53, TP53)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (serine/threonine-protein kinase, AKT1)、信号转导子和转录激活子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (mitogen-activated protein

kinase 14, MAPK14)、人磷脂酰肌醇-3-激酶调节亚基 1 (phosphatidylinositol-3-kinase regulatory subunit 1, PIK3R1)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、环腺苷 3',5'-单磷酸反应元件结合蛋白 1 (cyclic adenosine 3',5'-monophosphate responsive element binding protein 1, CREB1)、雄激素受体 (androgen receptor, AR)、周期素依赖性激酶抑制因子 1A (cyclin dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A)。

3.4 GO 功能与 KEGG 通路富集分析

利用 Metascape 在线数据库对预测靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析, 筛选出 $P < 0.01$ 的 GO 条目 346 个, 其中 BP 199 个, CC 56 个及 MF 91 个。BP 主要有对激素的反应 (response to hormone)、对异生素刺激的反应 (response to xenobiotic stimulus)、对缺氧的反应 (response to hypoxia)、凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process)、对氧化应激反应 (response to oxidative stress) 等, CC 主要涉及到膜筏 (membrane raft)、胞膜小窝 (caveola)、膜微区 (membrane microdomain)、神经元细胞体 (neuronal cell body)、突触后膜 (postsynaptic membrane) 等; MF 主要有酶结合 (enzyme binding)、蛋白质结合 (protein binding)、蛋白质异二聚化活性

表 2 保元汤入血化学成分信息

Table 2 Information of chemical components of Baoyuan Decocotion into blood

编号	<i>t_R</i> /min	分子式	理论值	测定值	离子模式	误差	MS/MS 碎片	化合物	靶点图编号
1	1.69	C ₉ H ₆ O ₂	146.036 8	164.070 0	[M+NH ₄] ⁺	-3.9	-	香豆素	BYT21
2	4.02	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.079 0	359.091 4	[M+HCOO] ⁻	3.9	283.02, 255.03	华良姜素	BYT6
3	4.81	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	594.158 5	639.157 0	[M+HCOO] ⁻	0.5	455.09, 425.16, 197.07	芹菜素-6-C-葡萄糖-8-C-木糖苷	BYT14
4	4.84	C ₉ H ₁₀ O ₃	166.063 0	165.096 0	[M-H] ⁻		150.03, 135.05, 122.03	丹皮酚	BYT24
5	5.32	C ₆ H ₄ O ₄	148.052 4	166.086 1	[M+NH ₄] ⁺	-0.6	-	香豆酸	BYT22
6	5.42	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	564.147 9	563.142 1	[M-H] ⁻	2.5	443.10, 383.07, 353.06	夏佛塔苷	BYT10
7*	6.85	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	446.121 3	447.129 9	[M+H] ⁺	3.0	283.06, 268.03, 148.01	毛蕊异黄酮苷*	BYT18
8	7.10	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432.105 6	431.096 7	[M-H] ⁻	-3.8	269.04	染料木苷	BYT4
9*	7.35	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.126 4	417.119 4	[M-H] ⁻	-4.0	255.06, 135.00	甘草苷*	/
10	10.56	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286.084 1	285.077 0	[M-H] ⁻	0.6	253.05, 150.03, 177.01	甘草查耳酮 B	BYT20
11	10.64	C ₇ H ₆ O ₃	138.031 7	137.024 3	[M-H] ⁻	-1.0	119.04, 93.03	水杨酸	BYT12
12	12.17	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₈	932.534 5	977.532 9	[M+HCOO] ⁻	0.2	799.48, 637.43	三七皂苷 R ₁	BYT11
13	12.36	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	430.126 4	475.123 4	[M+HCOO] ⁻	-2.6	267.06, 252.04, 211.13	芒柄花苷	BYT25
14*	13.08	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	800.492 2	845.491 9	[M+HCOO] ⁻	3.6	637.43, 475.37	人参皂苷 R _{g1} *	BYT26
15	13.52	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254.057 9	253.050 5	[M-H] ⁻	-0.5	225.14, 135.00, 117.03	大豆异黄酮	BYT2
16	13.90	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.073 6	255.066 8	[M-H] ⁻	2.1	135.00, 119.047	甘草素	BYT9
17	14.62	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.057 9	239.055 6	[M+HCOO] ⁻	-2.3	-	异阿魏酸	BYT5
18	14.72	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₀	464.168 3	463.160 7	[M-H] ⁻	-0.6	-	2'-羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷-7-O-β-D-葡萄糖苷	/
19	14.95	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.068 5	283.061 5	[M-H] ⁻	1.0	268.03, 120.02, 148.01	毛蕊异黄酮	BYT17
20	15.99	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₆	824.419 4	823.412 9	[M-H] ⁻	0.9	647.384, 351.05	乌拉尔甘草皂苷 C	BYT8
21	18.28	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.089 2	315.087 0	[M+HCOO] ⁻	-1.4	-	刺甘草查耳酮	BYT3
22	21.84	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	784.497 3	829.493 7	[M+HCOO] ⁻	-2.1	621.43, 459.38	20(S)-人参皂苷 R _{g3}	/
23	22.53	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆	1 210.634 6	1 255.633 2	[M+HCOO] ⁻	0.3	945.55, 783.49, 621.44	三七皂苷 Fc	/
24	22.74	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268.073 6	267.066 7	[M-H] ⁻	1.5	195.04, 135.00, 91.01	刺芒柄花素	BYT1
25*	22.85	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	1 108.602 9	1 153.602 6	[M+HCOO] ⁻	1.3	945.54, 783.49, 621.43, 459.50	人参皂苷 R _{b1} *	BYT23
26	24.10	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	838.398 7	837.392 2	[M-H] ⁻	1.0	775.39, 661.36, 351.05	甘草皂苷 G ₂	/
27*	26.60	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	822.403 8	821.397 8	[M-H] ⁻	1.5	351.05, 193.03	甘草酸*	/
28	27.41	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₁	1 032.550 5	1 031.540 8	[M+HCOO] ⁻	-2.4	985.46, 783.48, 351.05	丙二酰基人参皂苷 R _d	/
29	28.70	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470.339 6	471.345 3	[M+H] ⁺	-3.5	-	18β-甘草次酸	/
30*	29.48	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	294.183 1	293.176 1	[M-H] ⁻	0.8	177.09, 137.06	6-姜辣素*	BYT16
31	31.75	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	352.094 7	351.087 9	[M-H] ⁻	1.3	296.03, 177.02	半甘草异黄酮 B	BYT13
32	33.70	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	382.141 6	381.133 4	[M-H] ⁻	-2.5	366.11, 351.08, 323.05, 311.21	甘草利酮	BYT8
33	33.85	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	338.151 8	383.150 0	[M+HCOO] ⁻	0	269.04, 253.05	甘草查耳酮 A	BYT19
34	33.99	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	278.224 6	279.231 3	[M+H] ⁺	-2.1	-	亚麻酸	BYT15
35	34.23	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	352.094 7	351.085 8	[M-H] ⁻	-4.6	283.10, 265.08, 241.08	甘草异黄酮 B	BYT7

“-”表示该成分未查到确定碎片；“/”表示该成分未做网络药理学分析；“*”表示有对照品

“-”represents no MS/MS fragment; “/” represents without network pharmacological analysis; “*” represents with references.

(protein heterodimerization activity) 等分子功能。各取前 20 位制作富集气泡图, 见图 6。

通过 KEGG 富集分析得到信号通路, 根据 $P < 0.01$ 筛选, 共得到 187 条通路, 其中主要涉及到糖基化

终末产物 (advanced glycation end products, AGE) -糖基化终末产物受体信号 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 通路 (AGE-RAGE signaling pathway)、脂质和动脉粥样硬化 (lipid and

表 3 代表性成分代谢产物信息

Table 3 Information of metabolite of representative components

化合物	编号	加合离子	<i>t_R</i> /min	代谢途径
毛蕊异黄酮葡萄糖苷 ^[23]	P7	447.13 [M+H] ⁺	6.85	原型
	M1	285.16 [M+H] ⁺	14.95	P7 脱葡萄糖基
	M2	483.95 [M+Na] ⁺	15.89	M1 葡萄糖醛酸化
	M3	497.31 [M+Na] ⁺	16.16	M2 甲酯化
	M4	253.05 [M-H] ⁻	13.52	M1 去羟基去甲基化
甘草苷 ^[24]	P9	417.12 [M-H] ⁻	7.35	原型
	M1	255.06 [M-H] ⁻	13.90	P9 脱葡萄糖基
	M2	497.04 [M-H] ⁻	5.38	P9 硫酸化
	M3	431.05 [M-H] ⁻	7.58	M1 葡萄糖醛酸化
	M4	335.02 [M-H] ⁻	16.52	M1 硫酸化
	M5	253.01 [M-H] ⁻	4.24	M1 脱氢
人参皂苷 Rb ₁ ^[25]	M6	593.96 [M-H] ⁻	4.99	P9 葡萄糖醛酸化
	P25	1 153.60 [M+HCOO] ⁻	22.85	原型
	M1	991.60 [M+HCOO] ⁻	26.63	P25 脱葡萄糖基
	M2	845.49 [M+HCOO] ⁻	13.16	M1 脱葡萄糖基
甘草酸	P27	821.40 [M-H] ⁻	26.60	原型
	M1	645.37 [M-H] ⁻	33.95	P27 葡萄糖醛酸水解
	M2	471.34 [M+H] ⁺	28.70	M1 葡萄糖醛酸水解

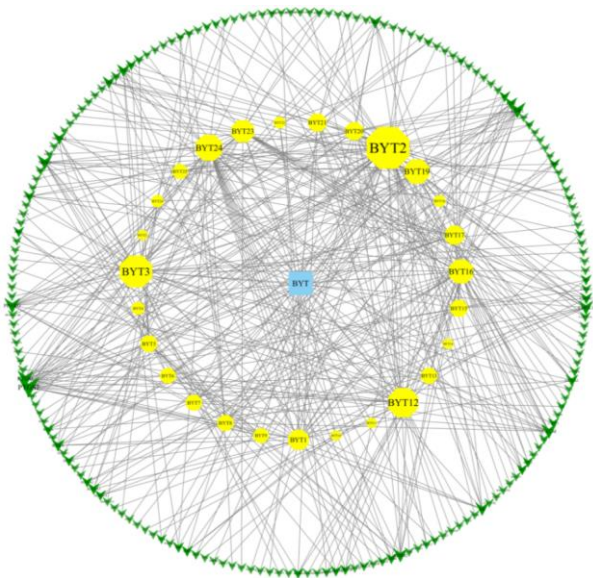


图 4 入血成分“成分-靶点”网络图

Fig. 4 “Component-target” network diagram of blood components

atherosclerosis)、表皮生长因子-酪氨酸激酶抑制剂抵抗 (epidermal growth factor receptor, EGFR-tyrosine kinase inhibitor resistance)、雌激素信号通路 (estrogen signaling pathway)、缺氧诱导因子信号通路 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1 signaling pathway)、松弛素信号通路 (relaxin signaling pathway)、白介素-17 信号通路 (interleukin-17, IL-17 signaling pathway)、Janus 激酶-信号转导

子和转录激活子 (Janus kinase, JAK; signal transducer and activator of transcription, STAT) (JAK-STAT signaling pathway)、肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)、Toll 样受体信号通路 (Toll-like receptor signaling pathway)、环鸟苷单磷酸蛋白激酶信号通路 (cyclic guanosine monophosphate-protein kinase G, cGMP-PKG signaling pathway)、血管内皮生长因子信号通路 (VEGF signaling pathway)、

表 4 保元汤中 8 个成分的网络拓扑参数

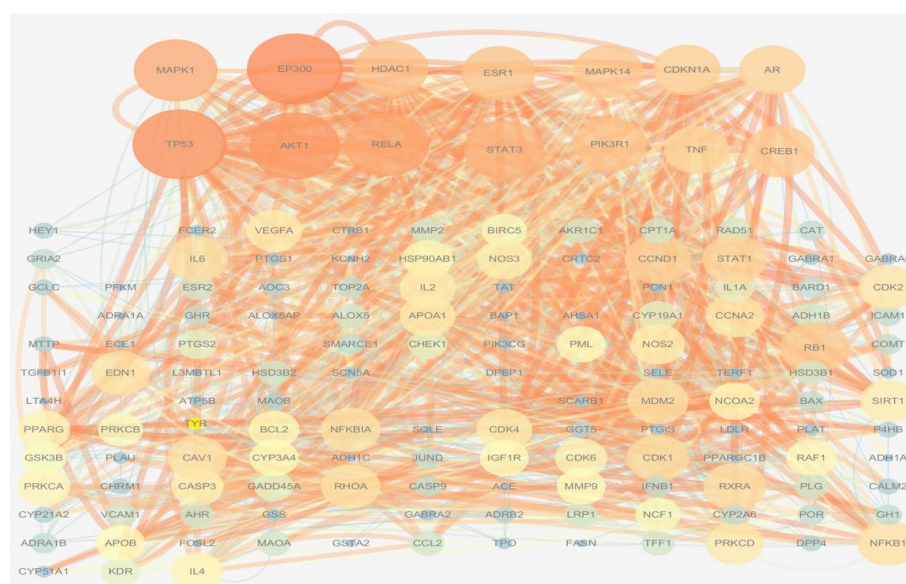
Table 4 Network topological parameters of eight components in Baoyuan Decoction

化合物	编号	紧密中心度	节点度	中介中心度
刺芒柄花素	BYT1	0.37	20.00	0.07
水杨酸	BYT12	0.39	37.00	0.24
6-姜辣素	BYT16	0.38	27.00	0.09
甘草查耳酮 A	BYT19	0.38	28.00	0.07
大豆异黄酮	BYT2	0.43	61.00	0.35
人参皂苷 Rb ₁	BYT23	0.37	24.00	0.16
丹皮酚	BYT24	0.39	31.00	0.12
刺甘草查耳酮	BYT3	0.39	42.00	0.17
均值	—	0.37	16.33	0.06

环核苷酸信号通路 (cAMP signaling pathway)、磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) - 蛋白激酶 B (Akt) 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway) 等信号通路。每条通路富集多个基因, 体现了保元汤在治疗疾病过程中多靶点、多通路的作用特点。以基因富集数目多, P 值大小为选择依据, 选取前 20 个通路制作富集气泡图见图 7。

3.5 疾病预测

将上述 String 数据库得到的 KEGG 信号通路再经 FDR 值小于 0.001 筛选后得到的前 5 条信号通路 (hsa04933: AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, hsa05200: pathways in cancer, hsa05215:



节点注释: 圆从小到大, 相应节点的颜色从深蓝色-浅蓝色-米色-黄色-棕色-红棕色代表节点 degree 值从小到大; 边注释: 线从细到粗, 相应线的颜色从深蓝色-浅蓝色-米色-黄色-棕色-红棕色代表 combined score 值从小到大

Node note: Circle is from small to large, and the corresponding node color is from dark blue-light blue-beige-yellow-brown-red brown, indicating that the node degree value is from small to large; Edge note: Lines are from thin to thick, corresponding line color is from dark blue-light blue-beige-yellow-brown-red brown, representing that the combined score value is from small to large

图 5 相关靶点的 PPI 网络图
Fig. 5 PPI network diagram of related targets

prostate cancer, hsa05417: lipid and atherosclerosis, hsa05161: hepatitis B) 输入到 CTD 数据库进行疾病预测, 共得到 284 种疾病, 从中筛选均涉及上述 5 个通路的疾病共有 24 种: 心脏衰竭、心肌病、心肌炎、心肌梗死、心肌缺血、乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、阿尔茨海默症、再灌注损伤、绝经后骨质疏松症、乙型肝炎、关节炎、类风湿、急性肾损伤、肺纤维化、哮喘、动脉粥样硬化、肝硬化、2 型糖尿病、结直肠癌、高血压、脑缺血、黑色素瘤。

4 讨论

课题组在前期的血浆前处理中, 以检测到物质最多为标准, 比较了乙腈、甲醇、异丙醇沉淀以及样品的处理方法, 最终确定血浆样品前处理选择 4 倍量甲醇沉淀蛋白, 再过固相萃取小柱富集、除杂, 以 70% 甲醇复溶后液质进样分析为最佳方案。

综合各种可参考文献数据可知, 保元汤原药材含有至少 389 个化学成分。运用高分辨质谱分析技术, 从保元汤水提液中共鉴定得到 133 个化合物。

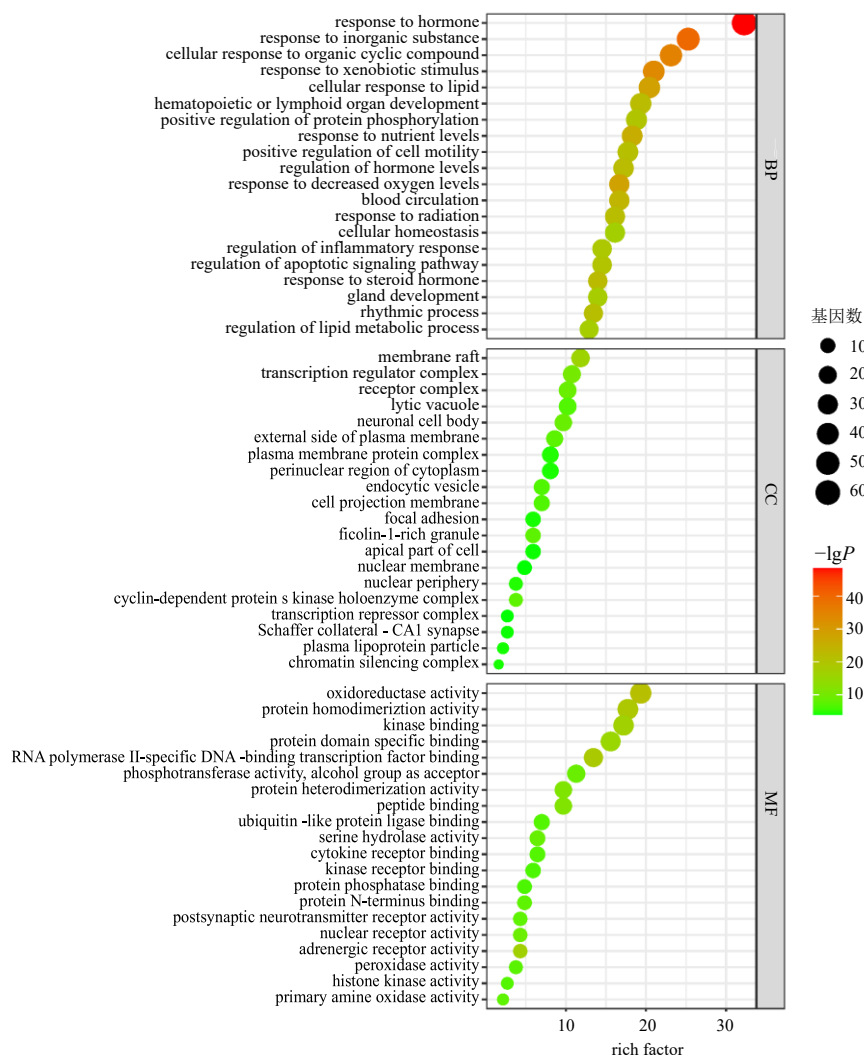


图 6 GO 富集分析

Fig. 6 Enrichment analysis diagram of GO

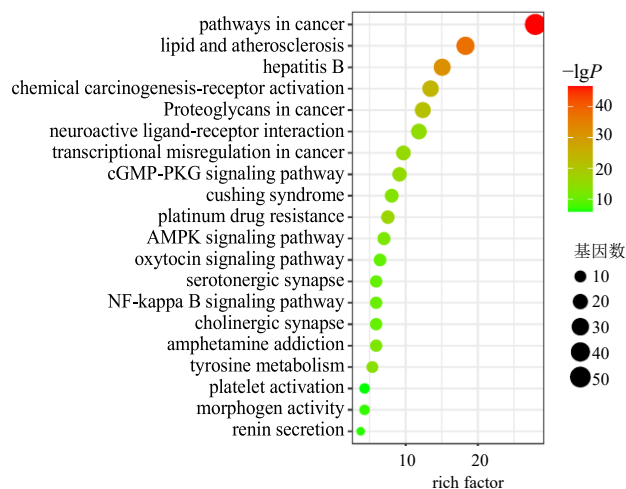


图 7 KEGG 通路富集分析

Fig. 7 Enrichment analysis diagram of KEGG

本实验制备的保元汤水提液符合临床使用实际，故对保元汤进行药效物质基础分析时，基于实验所得 133 个化合物更有针对性。

经多次多天大鼠 ig 给药后，发现保元汤有 35 个原型成分可以被吸收入血在体循环中稳态分布，并且在大鼠含药血浆成分检测中，包含 35 种原型成分在内共鉴别了 43 个化合物，药物吸收入血后会代谢转化成代谢产物等物质，共鉴别 14 个代谢产物，其中有 6 个既是原型成分，也是代谢产物，分别为毛蕊异黄酮、大豆异黄酮、甘草素、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rd、18 β -甘草次酸；其余 8 个化合物为原型成分的代谢产物，因而推测其主要成分的代谢类型有葡萄糖基水解、葡萄糖醛酸水解、葡萄糖醛酸化、氢化、硫酸化、甲酯化等过程。本实验以入血的原型成分作为保元汤在体内的药效物质基础，故以鉴别出的 35 个原型成分为基准。

保元汤可通过人参皂苷 Rb₁、丹皮酚、大豆异黄酮、刺甘草查耳酮、6-姜辣素、甘草查耳酮 A、刺芒柄花素、水杨酸等 8 个关键成分作用于 EP300、MAPK1、TP53、AKT1、RELA、STAT3、MAPK14、PIK3R1、TNF、CREB1、AR、CDKN1A 等核心靶点，通过 AGE-RAGE、EGFR、JAK-STAT、cGMP-PKG、cAMP、PI3K-Akt 信号通路等多种途径发挥药效作用，推测保元汤除治疗慢性心力衰竭外，还对阿尔茨海默症、再灌注损伤、绝经后骨质疏松症等具有潜在治疗优势。更值得一提的是，本课题组在化合物靶点和通路等靶标分析时，发现多种化学成分中既有单一成分对接多个靶点、又有多个类似同类成分对接同一靶点的情况，由此可佐证“中药（复方）多成分多靶点协同作用”理论与“中药多成分单靶点叠加作用”假说。中药复方能从多途径、多靶点、多层次、多系统的对疾病进行干预，突显了中药复方治疗疾病的潜力和优势，即中药（复方）具备“多成分多靶点协同作用”特征。蔡少青等^[26-27]提出中药“多成分单靶点叠加作用”假说，认为中药多成分多靶点协同作用网络中局部靶点可存在相似多成分的药效叠加作用。

保元汤药效物质关联治疗的潜能分析。保元汤作为临床上常用的经典名方，对心血管系统疾病，如慢性心力衰竭、扩张型心肌病^[28]、心肌炎、心绞痛等具有良好的效果^[29-30]。通过多通路靶点发挥治疗作用，慢性心力衰竭发病与 VEGF、TNF- α 、IL-6 等炎症因子的表达^[31]以及 MAPK、JAK-STAT、

NF- κ B 等信号通路^[32]相关；扩张型心肌病的发病与 MAPKs、PI3K-Akt、cGMP-PKG 等通路密切相关。上述两种疾病涉及到的信号通路与文章通过 GO 和 KEGG 功能富集得到保元汤作用主要信号通路 AGE-RAGE、EGFR、JAK-STAT、cGMP-PKG、cAMP、PI3K-Akt 等信号通路均相对应，推测保元汤可能通过细胞质、细胞膜、内质网等细胞组分调节 PI3K-Akt、MAPK、AGE-RAGE、TNF 等通路发挥抑制炎症反应、抗氧化、抑制细胞凋亡等作用。

本实验所提示的保元汤潜在治疗优势病种除传统治疗心衰外，还有 23 种预测疾病。“化合物-靶点”网络分析结果显示，保元汤中人参皂苷 Rb₁、丹皮酚、大豆异黄酮、刺甘草查耳酮、6-姜辣素、甘草查耳酮 A、刺芒柄花素、水杨酸等 8 个成分的潜在作用靶点较多，推测它们在保元汤对疾病的治疗中发挥重要作用。有研究表明人参代表性成分人参皂苷 Rb₁能显著降低心肌梗死面积，可能是通过抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶磷酸化、激活 mTOR 信号通路和调控线粒体功能实现；人参皂苷 Rb₁同时有治疗阿尔茨海默病症的潜力，人参皂苷 Rb₁通过改变 β -淀粉样前体蛋白裂解途径，减少 A β 的生成，抑制 A β 诱导的神经毒性反应；通过抑制细胞凋亡因子 Bax、Caspase-3 表达，激活抗细胞凋亡因子 Bcl-2，保护神经元细胞从而改善痴呆鼠的认知功能^[33]，臣药黄芪中主要活性成分皂苷和黄酮类，已有临床研究证明^[34]，黄芪能通过抑制氧化应激的激活与扩散，减轻心肌损伤，从而起到保护心肌的作用。黄芪中芒柄花素能通过抑制 ERK1/2、p38 及 NF- κ B 磷酸化，诱导细胞凋亡；还可通过 PGC-1 α 通路、NF-NRF-2/HO-1 通路抑制高脂血症诱导的炎症，改善认知功能^[35]。毛蕊异黄酮可通过调节 PI3K/Akt 信号通路及 Bcl-2、Bax，增加 H9c2 细胞的细胞活性，并通过抑制氧化应激及细胞凋亡改善阿霉素诱导的心脏毒性^[36]。甘草中活性成分大豆苷元能通过活化 ER α 对 MG-63 细胞 IL-6 的表达起抑制作用^[37]，IL-6 是骨代谢过程中重要的调节因子，与雌激素缺乏导致的骨丢失密切相关，妇女绝经后骨质疏松症的发生，很可能是由于患者的雌激素下降致使 IL-6 分泌水平升高^[38]。通过 GO 功能和 KEGG 富集结果显示雌激素信号通路也是保元汤作用主要信号通路之一。也有研究表明大豆苷元有防治阿尔茨海默症的作用及其抑制 A β 神经毒性发挥神经保护作用^[39]。此外，甘草查耳酮 A 抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的活化并

促进乳腺癌细胞自噬^[40]；刺甘草查耳酮能够通过抑制 NLRP3 炎症小体的异常活化从而治疗多种炎症性疾病^[41]。研究发现^[42]6-姜酚能够通过抑制细胞内 PDE4 蛋白表达而抑制环磷腺苷水解，升高细胞内 cAMP 含量，从而发挥其抗炎作用。

综上所述，结合疾病预测结果，发现保元汤除了对临床常规治疗疾病心脏衰竭、心肌病、心肌炎、心肌梗塞、心肌缺血等心血管疾病外，还对阿尔茨海默症、再灌注损伤、绝经后骨质疏松症、多种炎症疾病等具有治疗潜力。

因此，本研究基于 UPLC-QTOF-MS/MS 技术，明确鉴定了保元汤水提液中 133 个化合物，其中，皂苷类 54 个、黄酮 33 个、生物碱 4 个、有机酸 17 个、其他类 25 个；鉴定到入血成分 35 个，代谢产物 8 个，并结合网络药理学等方法对保元汤入血原型成分的主要作用靶点及分子水平作用机制进行探讨，预测了 12 个关键靶基基因，8 个主要入血药效活性成分，发现保元汤药效分子机制主要涉及炎症相关通路、氧化应激等方面，对阿尔茨海默症、再灌注损伤、绝经后骨质疏松症、多种炎症疾病有治疗潜力，本次研究可为保元汤质量标准、质量标志物、扩大临床适应症等研究提供参考，进一步拓展保元汤的临床应用，也可以为古代经典名方的现代开发应用提供研究方法学借鉴。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 成焕波, 胡辉, 李清安, 等. 保元汤古代文献分析与现代研究概况 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(10): 1842-1850.
- [2] 陈殿学, 李建春, 孙宏伟. 保元汤加减对卡氏肺孢子虫肺炎模型大鼠的免疫调节作用初探 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2003(5): 293-295.
- [3] 刘超, 潘晓艳, 朱慧娟, 等. 加味保元汤对束缚应激大鼠海马 CA3 区神经元损伤的影响 [J]. 大连大学学报, 2014, 35(3): 94-97.
- [4] 李艳青. 保元汤及其类方研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2006.
- [5] 余格, 梁慧慧, 文雯, 等. 保元汤的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 567-577.
- [6] 杨净尧. 经典名方保元汤的物质基准研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- [7] 张雅莉, 韩建勋, 图尔荪托合提·托合提萨伊普, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 指纹图谱和分子对接技术筛选藿香正气水潜在质量标志物 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 6023-6034.
- [8] 许雅婧, 乐心逸, 葛一蒙, 等. 复方芩兰口服液的体内成分分析和网络药理学研究 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2623-2632.
- [9] 张锐, 张季林, 李冰涛, 等. 基于网络药理学研究栀子入血成分抗阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(11): 2601-2610.
- [10] Ma X L, Guo X Y, Song Y L, et al. An integrated strategy for global qualitative and quantitative profiling of traditional Chinese medicine formulas: Baoyuan Decoction as a case [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38379.
- [11] The integrated study on the chemical profiling and *in vivo* course to explore the bioactive constituents and potential targets of Chinese classical formula Qingxin Lianzi Yin Decoction by UHPLC-MS and network pharmacology approaches [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 272: 113917.
- [12] 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芪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.
- [13] 许如玲, 范君婷, 董惠敏, 等. 经典名方黄芪桂枝五物汤标准煎液化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5614-5630.
- [14] 肖观林, 江洁怡, 胥爱丽, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的布芍调脂胶囊化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(14): 190-199.
- [15] 陈佩东, 周习, 丁安伟. 炙甘草水煎液的 HPLC-MS 分析 [J]. 中成药, 2014, 36(10): 2115-2120.
- [16] 成焕波, 胡辉, 李清安, 等. 保元汤物质基准 UPLC-PDA 指纹图谱的建立及化学成分指认 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(7): 16-23.
- [17] 李晓凤, 张少强, 刘金彪, 等. 基于 UPLC/Q-TOF MS/MS 的稳心颗粒主要成分分析及鉴定 [J]. 天津中医药, 2020, 37(8): 943-948.
- [18] Zhu D, Fang X, Chen Y, et al. Structure-activity relationship analysis of *Panax ginseng* glycoproteins with cytoprotective effects using LC-MS/MS and bioinformatics [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.034.
- [19] 孙政华, 邵晶, 郭玫. 黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医临床研究, 2015, 7(25): 22-25.
- [20] Yang L, Li C L, Cheng Y Y, et al. Development of a validated UPLC-MS/MS method for analyzing major ginseng saponins from various ginseng species [J]. *Molecules*, 2019, 24(22): 4065.
- [21] 乐文, 冯芳, 王娅. 栀子甘草豉汤的 LC-PDA-MS/MS 分析及抗抑郁作用研究 [J]. 中国药科大学学报, 2009, 40(4): 342-347.

- [22] 梁娜, 桑亚新, 周妍, 等. HPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 法分析干姜中的姜辣素类化合物 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(9): 252-256.
- [23] 王李俊, 杨琴, 王飞, 等. 大鼠 ig 毛蕊异黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷后尿中代谢产物的分离和鉴定 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2382-2384.
- [24] 董世奇, 樊慧蓉, 李全胜, 等. 甘草苷在大鼠体内的代谢途径研究 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2499-2505.
- [25] 宋玮, 郑伟, 张洁, 等. 中药皂苷类成分的体内代谢研究进展 [J]. 药学报, 2018, 53(10): 1609-1619.
- [26] 蔡少青, 王璇, 尚明英, 等. 中药“显效理论”或有助于阐释并弘扬中药特色优势 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3435-3443.
- [27] 徐风, 杨东辉, 尚明英, 等. 中药药效物质的“显效形式”、“叠加作用”和“毒性分散效应”: 由中药体内代谢研究引发的思考 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(4): 688-703.
- [28] 白志冬, 刘丽华, 党涛, 等. 生脉保元汤加味对扩张型心脏病合并心力衰竭患者心功能及血清 BNP、CA125 的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(19): 2074-2076.
- [29] 张定宝, 张蕴慧, 张进进. 保元汤治疗心血管疾病研究进展 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(13): 158-159.
- [30] 元仙颖. 保元汤对阿霉素诱导的大鼠心肌损伤及内质网应激凋亡机制的影响 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2021.
- [31] 陈仙芳, 毛伟君, 吴燕飞, 等. 磷酸肌酸钠对心衰伴肺部感染患者 VEGF、IL-6、TNF- α 及心功能影响 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(8): 1234-1239.
- [32] Luong C, Barnes M E, Tsang T S M. Atrial fibrillation and heart failure: Cause or effect? [J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2014, 11(4): 463-470.
- [33] 许方方, 张珊, 李建玲, 等. 人参皂苷 Rb₁ 对阿尔茨海默病模型小鼠术后认知功能、海马内突触后致密蛋白-95 及尼氏体表达的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(3): 440-444.
- [34] 赵振霞, 赵振敏, 李彤. 黄芪注射液对病毒性心肌炎患者氧化应激和炎症反应影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(23): 176-179.
- [35] Fu X X, Qin T T, Yu J Y, *et al.* Formononetin ameliorates cognitive disorder via PGC-1 α pathway in neuroinflammation conditions in high-fat diet-induced mice [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2019, 18(7): 566-577.
- [36] 闫浩, 刘潇潇, 于春雪, 等. 基于网络药理和分子对接探究黄芪葛根汤治疗糖尿病的作用机制 [J]. 陕西中医药大学学报, 2022, 45(4): 126-132.
- [37] 李葆林, 麻景梅, 田宇柔, 等. 甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2438-2448.
- [38] 李乐飞, 金鑫, 李程育, 等. 大豆苷元抑制人成骨样 MG-63 细胞分泌 IL-6 的分子机制研究 [J]. 武警后勤学院学报: 医学版, 2018, 27(6): 467-471.
- [39] 杨红. 异黄酮苷元防治 AD 及抑制 A β 神经毒作用的分子机制研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2010.
- [40] 刘雪双. 甘草有效活性成分甘草查尔酮 A 抗肿瘤药理学研究报告 [D]. 延吉: 延边大学, 2021.
- [41] Xu G, Fu S B, Zhan X Y, *et al.* Echinatin effectively protects against NLRP3 inflammasome-driven diseases by targeting HSP90 [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(2): e134601.
- [42] 李冰. 生姜挥发油成分分析及其主要活性成分 6-姜酚的抗炎机制初步探究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2019.

[责任编辑 王文倩]