

红花注射液的 LC-MS/MS 分析及分子对接技术的过敏原筛选

赵艳茹¹, 雷新宇^{2,3}, 段陈平⁴, 秦秀军⁵, 孙 鸽^{5*}, 陈世忠^{1,2*}

1. 陕西中医药大学 中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 712046
2. 北京大学药学院, 北京 100191
3. 拉萨市达孜区卫生健康委员会, 西藏 拉萨 850100
4. 山西德元堂药业有限公司, 山西 晋中 030600
5. 中国辐射防护研究院, 山西 太原 030006

摘要: **目的** 对红花注射液进行化学成分分析及应用分子对接技术筛选红花注射液中过敏原成分。**方法** 应用高效液相色谱-离子阱-飞行时间质谱高分辨质谱技术 (high performance liquid chromatography-ion trap-time-of-flight high resolution mass spectrometry, HPLC-IT-TOF-MS) 鉴定红花注射液中化学成分, 应用分子对接技术进一步对潜在过敏原成分进行筛选。**结果** 从红花注射液中鉴定出 40 个化合物, 其中 26 个查耳酮碳苷类化合物、8 个黄酮类化合物、3 个生物碱类化合物和 3 个其他类化合物, 所有化合物均在负离子模式下鉴定。将这些化合物分别与人血清白蛋白 (human serum albumin, HSA)、Mas 相关 G 蛋白偶联受体 X2 (Mas-related G protein-coupled receptor X2, MRGPRX2)、Ras 同源基因家族成员 A (Ras homolog gene family member A) 等蛋白进行分子对接, 其中与 HAS 结合的化合物 6 个, 与 MRGPRX2 结合的化合物有 9 个, 发现红花注射液中过敏成分主要为 6-羟基山柰酚类化合物和红花醌类化合物。**结论** 建立了液-质联用与分子对接相结合的过敏原筛选方法, 从红花注射液中鉴定出 40 个化合物, 明确 6-羟基山柰酚类和红花醌类化合物为潜在过敏原, 为红花注射液过敏原筛选及其致敏机制研究提供了重要参考和数据。

关键词: 红花注射液; 过敏原; LC-MS/MS; 分子对接; 人血清白蛋白; Mas 相关 G 蛋白偶联受体 X2; Ras 同源基因家族成员 A; 6-羟基山柰酚; 红花醌

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)04-1242-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.04.005

Allergen screening using LC-MS/MS analysis and molecular docking technology for Safflower Injection

ZHAO Yanru¹, LEI Xinyu^{2,3}, DUAN Chenping⁴, QIN Xiujun⁵, SUN Ge⁵, CHEN Shizhong^{1,2}

1. Collaborative Innovation Center for Industrialization of Chinese Medicinal Resources, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China
2. Peking University School of Pharmacy, Beijing 100191, China
3. Health Commission of Dazi District, Lhasa City, Lhasa 850100, China
4. Shanxi Deyuantang Pharmaceutical Co., Ltd., Jinzhong 030600, China
5. China Institute of Radiation Protection, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective Chemical composition analysis of *Carthamus tinctorius* injection and screening of allergenic components using molecular docking technology. **Methods** High performance liquid chromatography-ion trap-time-of-flight high resolution mass spectrometry (HPLC-IT-TOF-MS) was used to identify the chemical constituents of Safflower Injection, and molecular docking technology was used to further screen potential allergens. **Results** A total of 40 compounds were identified from the *Carthamus*

收稿日期: 2025-11-25

基金项目: 山西省科技合作交流专项项目 (202104041101032)

作者简介: 赵艳茹, 硕士研究生, 研究方向为天然药物活性成分与质量评价。E-mail: 3503740549@qq.com

*通信作者: 孙 鸽, 副研究员, 硕士, 主要研究方向为药物毒理与安全。E-mail: 19454309@qq.com

陈世忠, 教授, 博士生导师, 主要从事中药创新药物研究。E-mail: chenshizhong66@163.com

tinctorius injection, including 26 chalcone C-glycosides, eight flavonoids, three alkaloids, and three other types of compounds. All compounds were identified in negative ion mode. These compounds were linked to human serum albumin (HSA), Mas-related G protein-coupled receptor X2 (MRGPRX2) and Ras homolog gene family member A (RhoA), among which six compounds docked with HAS and nine compounds docked with MRGPRX2. It was found that 6-hydroxykaempferol compounds and safflower quinone compounds were the main allergic components in safflower injection. **Conclusion** A method for allergen screening combining liquid chromatography-mass spectrometry and molecular docking was established. A total of 40 compounds were identified from Safflower Injection, and 6-hydroxykaempferols and safflower quinones were identified as potential allergens. This study provides important reference and data for allergen screening and sensitization mechanism research of Safflower Injection.

Key words: Safflower Injection; allergen; LC-MS/MS; molecular docking; human serum albumin; Mas-related G protein-coupled receptor X2; Ras homolog gene family member A; 6-hydroxykaempferol; safflower quinone

中药注射剂是中医药现代研究的标志性成果,具有生物利用度高、疗效确切、作用迅速的特点。但随着临床的广泛应用,中药注射剂引发的不良反应报道日益增多。据《国家药品不良反应监测年度报告(2024年)》显示,2024年全国药品不良反应监测网络共收到药品不良反应/事件报告表259.7万份,其中中药占12.1%,中药注射剂占中药不良反应的24.6%,不仅给患者的健康和生命造成严重的危害,产生极其恶劣的社会影响,并诱发人们对中药注射剂乃至中药的信任危机,因此中药注射剂不良反应已经成为中医药领域中亟待解决的重大问题。

红花注射液是由菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L.的干燥花提取加工精制而成的黄红色至红棕色的灭菌水溶液^[1]。红花注射液主要含有黄酮类、生物碱类、聚炔类、苷类、多糖等多种活性成分^[2],具有活血化瘀、消肿止痛等作用。在临床上,红花注射液常用于脑梗死^[3]、糖尿病肾病^[4]、心肌梗死^[5]、高脂血症^[6-7]、各种颈椎病^[8-9]、原发性痛经^[10-11]等疾病的治疗,临床疗效较好。然而,随着红花注射液在临床上的广泛应用,不良反应的发生率亦呈上升趋势,轻者可表现为发热^[12]、皮疹^[13-14]、过敏性寒战^[15]等症状,重者则可能出现急性哮喘^[16]、过敏性休克^[17]等严重不良事件。已成为限制红花注射液临床应用的重要因素。由于目前对红花注射液中的化学成分、有效成分及致敏物质尚未明确,相关安全性问题仍需进一步研究。

中药注射剂过敏反应多由半抗原和类过敏原产生,其中半抗原是指单独存在时无免疫原性,但进入体内与具备免疫原性的生物大分子载体结合后形成抗原,进一步引发过敏反应的小分子物质。类过敏原是一类无需机体预先产生特异性免疫应答,通过直接激活效应细胞或刺激炎症介质释

放,引发与过敏反应症状相似的物质。

人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)是血清中含量最高(35~50 g/L)且分布广泛的多功能载体蛋白,由3个同源结构域组成,每个结构域又包含2个亚结构域,形成了多个疏水结合口袋。这种结构特点使得HSA能够与众多内源性和外源性物质结合,其中就包括一些半抗原。HSA与半抗原结合后发生结构改变,被机体免疫细胞错误识别,而引发的过敏反应,因此,小分子化合物与HSA相互作用的研究常被用于半抗原的筛选。

Mas相关G蛋白偶联受体X2(Mas-related G protein-coupled receptor X2, MRGPRX2)是一种表达于肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的G蛋白偶联受体,具有独特的配体结合域和高度灵活的跨膜构象。MRGPRX2是类过敏原发挥作用的核心直接靶点,在非IgE介导的过敏反应中扮演关键角色。类过敏原与MRGPRX2结合后常引发受体构象改变与信号活化,导致肥大细胞非IgE依赖的脱颗粒,从而介导假性过敏反应或炎症应答。因此,研究小分子化合物与MRGPRX2的相互作用对于筛选潜在致敏半抗原具有重要意义。

Ras同源基因家族成员A(Ras homolog gene family member A, RhoA)是一种广泛表达于各类细胞的小GTP结合蛋白,由 α 螺旋和 β 折叠构成核心结构,并包含多个功能区域,形成了效应蛋白结合界面与调节因子相互作用位点。这种结构特点使RhoA能够与众多上游调控因子及下游效应蛋白特异性结合,进而参与细胞骨架重组、基因转录等生命活动。在过敏反应发生时,RhoA信号通路可被激活,参与肥大细胞脱颗粒、炎症介质释放等关键环节。因此,小分子化合物与RhoA的分子对接研究,为过敏原筛选提供了全新的技术路径和理论依据。

本研究采用高效液相色谱-离子阱-飞行时间质

谱 (high performance liquid chromatography-ion trap-time-of-flight high resolution mass spectrometry, HPLC-IT-TOF-MS) 技术对红花注射液中化学成分进行了分析, 并采用 HSA、MRGPRX2 和 RhoA 3 个蛋白与红花注射液中化合物进行分子对接分析, 筛选潜在过敏原成分及相互作用机制, 以期系统阐明红花注射液中的化学成分, 为过敏原成分的筛选和发现提供依据。

1 材料与仪器

1.1 仪器

HPLCMS-IT-TOF 联用仪 (日本岛津公司) 由 LC-20AD 液相泵, DGU-20A3 型脱气机, SIL-20AC 型自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, SPD-20AV 型二极管阵列检测器和 ESI-IT-TOF 质谱仪组成, LabSolutions LCMS 软件。赛多利斯 Arium611 型超纯水仪 (上海人和科学仪器有限公司)。AUW120D 型电子分析天平 (日本岛津有限公司)。Kromasil 100-5C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱 (瑞典 AkzoNobel 集团有限公司)。

1.2 材料

红花注射液 (山西德元堂药业有限公司, 国药准字 Z20050582, 批号 21110101); 对照品绿原酸 (成都曼思特生物科技有限公司, 批号 A0022); 羟基红花黄色素 A (成都曼思特生物科技有限公司, 批号 MUST-22062311); 脱水红花黄色素 B (北京倍特仁康生物医药科技有限公司, 批号 22071103); 长寿花糖苷 (上海毕得医药科技股份有限公司, 批号 DRA136); 6-羟基山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖苷 (成都普思生物科技股份有限公司, 批号 PS1810-0010); 6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷 (成都曼思特生物科技有限公司, 批号 MUST-24051514); 顺式-N-阿魏酰酪胺 (上海陶术生物科技有限公司, 批号 TN3669); 6-羟基山柰酚-3-芸香糖-6-葡萄糖苷 (成都曼思特生物科技有限公司, 批号 MUST-23031508); 以上对照品质量分数均高于 98%。

甲醇 (韩国德山株式会社, HPLC 级), 乙腈 (韩国德山株式会社, HPLC 级), 甲酸 (上海麦克林生化科技股份有限公司, HPLC 级), 超纯水 (自制)。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备

吸取红花注射液, 经 0.22 μm 针筒式滤膜滤过, 即得。4 °C 冰箱避光保存。

2.2 对照品溶液的制备

称取各对照品适量, 分别加甲醇制成质量浓度

为 0.20 mg/mL 的对照品溶液, 即得。经 0.22 μm 针筒式滤膜置于进样小瓶中。4 °C 冰箱避光保存。

2.3 液-质分析条件

2.3.1 色谱条件 Kromasil 100-5C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱。柱温 30 °C, 体积流量 1 mL/min, 进样体积 10 μL。流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为乙腈, 梯度洗脱, 梯度条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution conditions

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	99	1
12	98	2
60	94	6
75	92	8
150	80	20
180	60	40
200	0	100
210	5	95
220	5	95

2.3.2 质谱条件 喷雾电压 1.7 kV, 正、负离子模式下进行全扫描, MS¹ 质谱碎片采集范围 m/z 200.00~1 100.00, 离子累积时间 30 ms; MS² 质谱碎片采集范围 m/z 100.00~900.00, 离子累积时间 30 ms, CID 能量 70%; MS³ 质谱碎片采集范围 m/z 50.00~800.00, 离子累积时间 10 ms, CID 能量 50%。

2.4 数据处理和化合物结构解析

使用 LabSolutions LCMS 软件分析所得质谱数据。有对照品的化合物, 将供试品溶液中相应成分的保留时间、准分子离子、二级碎片离子信息与对照品进行比对确认。无对照品的化合物, 根据其保留时间、准分子离子、二级碎片离子等信息, 根据其裂解规律, 参考相关文献报道的质谱碎片信息以及通过检索 SciFinder 数据库鉴定其化学结构。

2.5 靶标蛋白结构的获取和预处理

选取半抗原和类过敏原研究互作蛋白 HSA (PDB No. 4Z69)、MRGPRX2 (PDB No.7VV5)、RhoA (PDB No.1A2B), 通过 PDB 结构数据库 (<http://www.rcsb.org>) 下载上述蛋白晶体复合物 PDB 文件, 将这些文件依次导入 Maestro 软件中, 依次对晶体结构进行结构优化, 补齐丢失侧链, 添加氢原子和矫正电荷, 删除结晶水分子, 最后在 OPLS3 力场下进行能量最小化。

2.6 参数设置和分子对接

对已优化的蛋白生成口袋格点。其中 HSA 对

接参数为对接盒子中心坐标 $(n_x, n_y, n_z) = (6.24, 11.24, -4.88)$, 对接盒子边长 ≤ 2 nm; MRGPRX2 对接参数为对接盒子中心坐标 $(n_x, n_y, n_z) = (91.05, 94.5, 76.48)$, 对接盒子边长 ≤ 20 nm; RhoA 对接参数为对接盒子中心坐标 $(n_x, n_y, n_z) = (15.37, 28.24, 30.33)$, 对接盒子边长 ≤ 20 nm。

将靶点蛋白晶体复合物中化合物(配体)取出, 重新与受体对接, 其对接值为阈值。

3 结果与分析

3.1 HPLC-MS-IT-TOF 分析结果

根据所设定的液相色谱、质谱检测条件, 样品溶

液进样分析。在负离子模式下, 红花注射液的 HPLC 色谱图和总离子流图见图 1。从总离子流图中共检测 880 个峰, 解析出 40 个化合物, 其中 26 个查耳酮碳苷类化合物、8 个黄酮类化合物、3 个生物碱类化合物和 3 个其他类化合物。各化合物的保留时间、HPLC-MSⁿ 数据见表 2, 对应的部分化合物结构见图 2, 其中, 部分同分异构体化合物结构没有展示。

3.2 分子对接结果

3.2.1 红花注射液中化合物与 HSA 对接结果 红花注射液中 40 个化合物与 HSA 蛋白分子对接结果及位点见表 3。

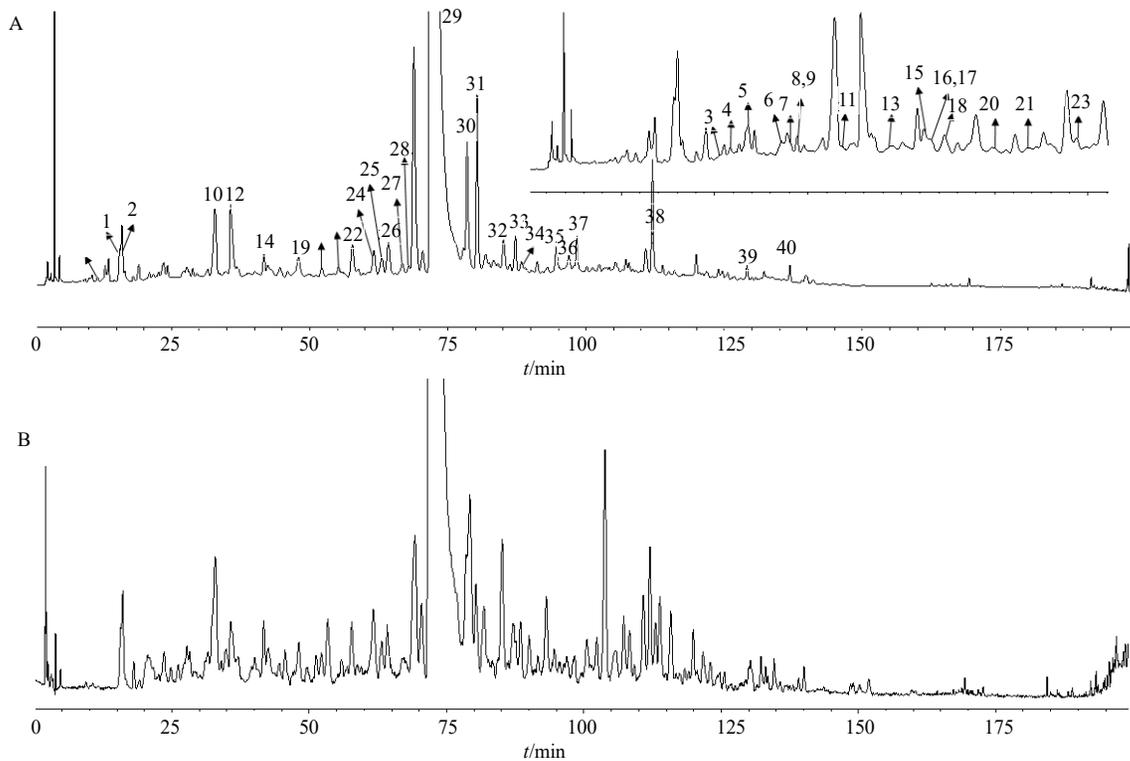


图 1 红花注射液 HPLC 色谱图 (254 nm, A) 和质谱总离子流图 (负离子模式, B)

Fig. 1 HPLC fingerprint (254 nm, A) and total ion chromatogram (negative ion mode, B) of Safflower Injection

表 2 红花注射液中化合物的 HPLC-MSⁿ 质谱表征

Table 2 HPLC-MSⁿ mass spectrometric characterization of compounds in Safflower Injection

峰号	<i>t_R</i> /min	名称	分子式	<i>m/z</i>		多级质谱碎片离子
				理论值	实测值	
1	15.875	6-hydroxykaempferol-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucoside ^a	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.095 5	464.095 6 ^a	299.048 6
2	16.248	3-hydroxy-safflomin A 同分异构体	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	628.163 9	628.164 2 ^a	343.068 0, 325.054 5
3	19.968	<i>L</i> -phenylalanine, <i>N</i> -(1-deoxy- <i>D</i> -glucitol-1-ylidene)	C ₁₅ H ₂₁ NO ₇	327.131 8	327.173 0 ^b	308.115 7, 164.074 5, 147.049 6
4	21.702	3,5-二羟基-6'-甲基异甘草素-3',5'-二- <i>C</i> -葡萄糖苷	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₆	626.184 7	626.148 5 ^a	505.079 8, 355.045 7, 297.047 2
5	23.517	6'-羟基-3',4'-二氢异甘草素-5'- <i>C</i> -葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₀	436.136 9	436.099 3 ^a	417.081 7, 315.051 1, 297.030 4, 245.045 5
6	26.847	3-hydroxy-2'-methyl safflomin A	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₆	626.184 7	626.149 4 ^a	505.094 8, 435.093 2, 417.082 7
7	28.137	3-hydroxy-safflomin A 同分异构体	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₇	628.163 9	628.164 1 ^a	507.119 5, 343.068 9, 325.055 6
8	28.585	3-hydroxy-safflor yellow A	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.153 4	610.111 1 ^a	489.103 1, 471.125 3, 339.053 2,

表 2 (续)

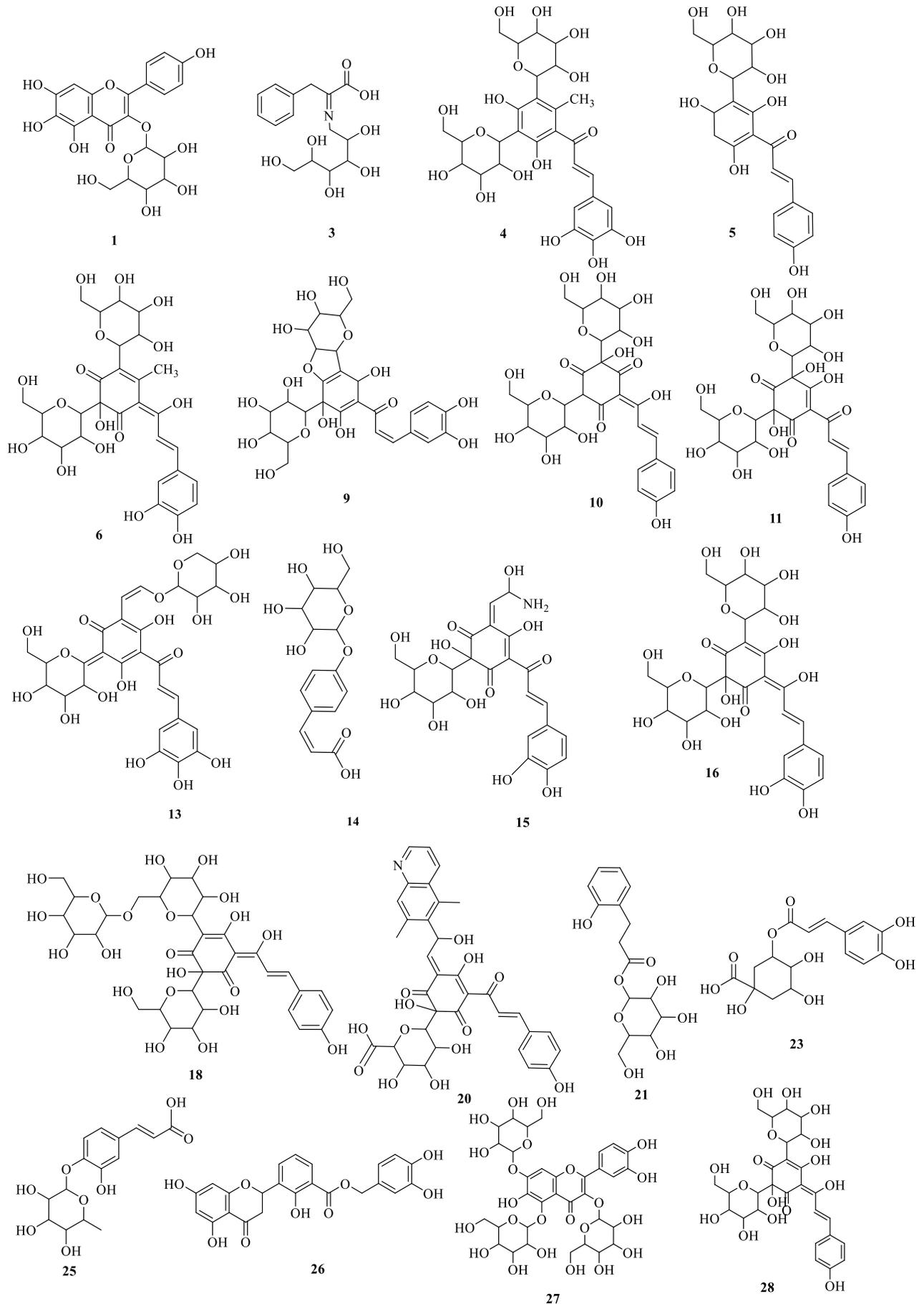
峰号	<i>t_R</i> /min	名称	分子式	<i>m/z</i>		多级质谱碎片离子
				理论值	实测值	
9	28.678	2'-dihydro-3-hydroxy-safflor yellow A	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	612.169 0	612.169 6 ^a	491.116 0, 473.100 4, 311.048 0
10	32.503	saffloquinoside D	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	612.169 0	612.169 8 ^a	491.115 8, 473.109 0, 455.101 8, 341.065 2, 323.059 3
11	33.665	3-hydroxy-saffloquinoside D	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₇	628.163 9	628.165 9 ^a	481.115 1, 463.102 9, 361.076 4, 343.067 8, 223.025 1
12	35.982	羟基红花黄色素 A 同分异构体	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	612.169 0	612.169 9 ^a	491.116 8, 473.109 9, 341.073 0, 325.074 5
13	38.782	3-allyl-5'-O-arabinose-safflor yellow A	C ₂₉ H ₃₄ O ₁₆	638.184 7	638.159 0 ^a	505.097 1, 461.114 2, 341.055 6, 271.062 9, 243.055 7
14	41.660	4-O-β-glucopyranosyl-cis-coumaric acid	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	326.100 2	326.100 5 ^a	325.095 5, 163.041 3, 119.050 4
15	42.818	3-hydroxy-3'-(2-amino) vinylalcohol safflor yellow A	C ₂₃ H ₂₅ NO ₁₃	523.132 6	523.131 5 ^a	505.100 1, 461.108 1, 341.056 4, 315.052 2, 297.040 3, 271.059 7
16	43.192	3-羟基-羟基红花黄色素 A	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₇	628.163 9	628.165 8 ^a	507.119 5, 343.068 9, 325.055 6
17	43.267	羟基红花黄色素葡萄糖-6-O 葡萄糖醛酸苷同分异构体	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₂	788.201 1	788.201 9 ^a	611.162 4, 491.117 1, 323.000 0
18	44.557	羟基红花黄色素葡萄糖-6-O 葡萄糖苷	C ₃₃ H ₄₂ O ₂₁	774.221 9	774.223 6 ^a	653.174 2, 487.123 7, 445.113 8, 325.071 0, 283.063 7
19	48.810	羟基红花黄色素葡萄糖-6-O 葡萄糖醛酸苷同分异构体	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₂	788.201 1	788.201 9 ^a	611.162 4, 491.117 1
20	50.062	3'-(1-(5,7-dimethylquinolin-6-yl)prop-vinylalcohol)safflor yellow-5'-C-glucuronide	C ₃₄ H ₃₁ NO ₁₃	661.179 5	661.178 7 ^a	505.097 4, 461.108 1
21	53.205	dihydrocinnacasside	C ₁₅ H ₂₀ O ₈	328.115 8	328.115 8 ^a	165.058 9, 121.071 4
22	57.723	3-hydroxy-safflomin A 同分异构体	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₇	628.163 9	628.164 1 ^a	507.119 5, 303.075 2
23	58.152	羟基红花黄色素葡萄糖-6-O 葡萄糖苷同分异构体	C ₃₃ H ₄₂ O ₂₁	774.221 9	774.223 6 ^a	491.117 6, 473.100 4, 325.069 2
24	61.663	绿原酸 ^a	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.095 1	354.096 3 ^a	191.058 5, 173.047 6, 134.042 2
25	62.950	3-羟基-羟基红花黄色素 A 同分异构体	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₇	628.163 9	628.164 1 ^a	437.108 4, 419.096 7, 299.057 5, 179.002 4
26	64.295	咖啡酸-4-O-鼠李糖苷	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	326.100 2	326.100 3 ^a	163.042 2, 119.054 4
27	66.670	柚皮素-3'-甲酸-3,4-二羟基苯甲醇酯	C ₂₃ H ₁₈ O ₉	438.095 1	438.115 6 ^a	299.049 4, 269.048 8, 179.001 2, 153.017 3
28	67.902	6-羟基槲皮素-3,5,7-O-三葡萄糖苷	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₃	804.196 0	804.195 3 ^a	641.134 9, 479.081 5, 461.067 5, 317.032 1
29	72.128	羟基红花黄色素 A ^a	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	612.169 0	612.170 3 ^a	491.116 8, 455.098 3, 323.056 9, 283.060 0
30	78.332	6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖-7-O-葡萄糖醛酸苷	C ₃₃ H ₃₈ O ₂₃	802.180 4	802.180 9 ^a	625.141 8, 463.087 3, 301.035 2, 271.019 1
31	80.312	6-hydroxykaempferol-3,6,7-tri-O-glucoside ^a	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₂	788.201 1	788.200 9 ^a	625.140 0, 463.087 0, 301.035 5, 255.025 4
32	85.028	长寿花糖苷 ^a	C ₁₉ H ₃₀ O ₈	386.194 1	386.191 6 ^b	385.188 0, 223.133 6, 205.123 8, 153.095 4
33	87.277	6-羟基山柰酚-3-O-芸香糖苷-7-O-葡萄糖醛酸苷	C ₃₃ H ₃₈ O ₂₂	786.185 5	786.183 8 ^a	301.035 4, 463.087 0, 609.145 5
34	88.435	4-去氧羟基红花黄色素 A	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	596.174 1	596.174 2 ^a	385.094 7, 355.082 7
35	94.478	红花苷	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₂	480.126 8	480.128 2 ^a	317.069 0, 299.052 5, 274.049 4, 168.008 3
36	97.282	deglicosyl hydroxysafflor yellow A	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	450.116 2	450.114 9 ^a	359.073 5, 329.068 0, 301.070 0, 223.025 1, 195.030 3, 167.040 6
37	98.333	6-羟基山柰酚-6-O-(6-乙酰葡萄糖)-7-O-(6-乙醇基葡萄糖)-3-O-葡萄糖苷	C ₃₇ H ₄₆ O ₂₄	874.237 9	874.201 7 ^a	829.209 8, 667.151 6, 625.143 1, 463.094 7, 301.032 6
38	112.038	6-羟基山柰酚-3-芸香糖-6-葡萄糖苷 ^a	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	772.206 2	772.205 8 ^a	609.146 8, 463.089 9, 301.035 0
39	128.990	脱水红花黄色素 B 异构体 ^a	C ₄₈ H ₅₂ O ₂₆	1 044.274 7	1 044.275 2 ^a	863.208 9, 593.150 5, 449.107 3
40	136.768	脱水红花黄色素 B 异构体	C ₄₈ H ₅₂ O ₂₆	1 044.274 7	1 044.274 8 ^a	863.209 2, 593.152 1, 449.109 5

^a经过相应对照品比对; a-[M-H]⁻, b-[M+COO]⁻, c-[M+HCOO]⁻。

^aafter comparison with corresponding reference standards; a-[M-H]⁻, b-[M+COO]⁻, c-[M+HCOO]⁻。

双氯芬酸是一种常用的非甾体抗炎药, 其致敏机制是双氯芬酸本身不具备抗原性, 由于与血清白蛋白的高亲和力, 形成全抗原, 从而引发超敏反应,

是公认的半抗原。从表 3 中可以看出, 化合物 1~6 的对接得分均低于阳性药双氯芬酸, 表明它们与 HSA 的结合能力强于阳性药, 引起过敏反应的作用



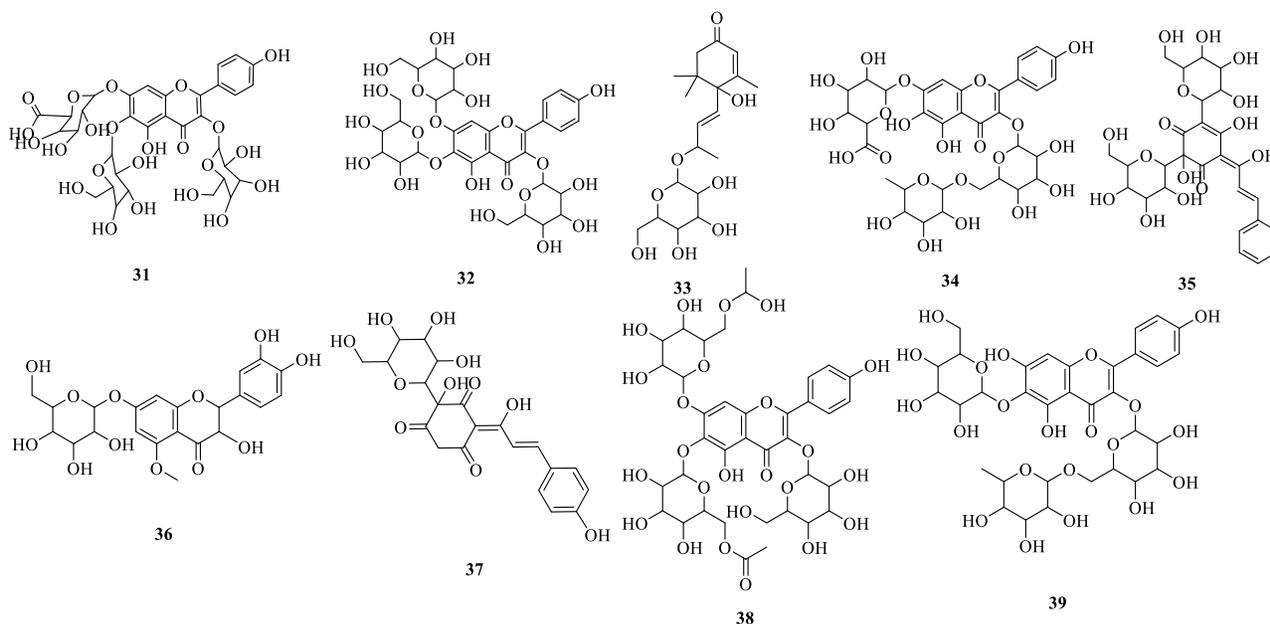


图 2 红花注射液中部分化合物结构

Fig. 2 Structural analysis of selected compounds isolated from Safflower Injection

表 3 红花注射液中化合物与 HSA 对接结果和位点

Table 3 Docking results and binding sites of compounds in Safflower Injection with HSA

序号	化合物名称	对接得分	对接结合能/ (kcal·mol ⁻¹)	氢键相互作用	盐桥相 相互作用	π -cation 作用
1	6-羟基山柰酚-6-O-(6-乙酰葡萄糖)-7-O-(6-乙醇基葡萄糖)-3-O-葡萄糖苷	-14.001	-77.576	Glu153, Gln196, Arg218, Arg257, Glu292		
2	6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖-7-O-葡萄糖醛酸苷	-13.649	-59.308	Glu153, Gln196, Arg218, Arg257, Ser287, Glu292	Lys199	Lys199
3	6-羟基山柰酚-3-芸香糖-6-葡萄糖苷	-12.792	-49.993	Tyr148, Glu153, Gln196, Lys199, Cys245, Arg257, Ala291		
4	6-羟基山柰酚-3,6,7-O-三葡萄糖苷	-12.485	-44.134	Glu153, Arg218, Hid242, Arg257, Hid288, Glu292		
5	saffloquinoside D	-12.202	-64.767	Glu153, Gln196, Hid242, Arg257, Hid288	Lys199	Arg257
6	长寿花糖苷	-9.031	-45.038	Glu153, Lys199, Arg257, Ser287		
7	双氯芬酸	-7.900	-34.038	Arg257	Arg257	

也会更强。这是因为这些化合物除了与双氯芬酸有相同的结合位点 Arg257 外，还有其他的结合位点。比如：6-羟基山柰酚-6-O-(6-乙酰葡萄糖)-7-O-(6-乙醇基葡萄糖)-3-O-葡萄糖苷和 6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖-7-O-葡萄糖醛酸苷等化合物除了有结合位点 Arg257 外，还有 Glu153、Gln196、Arg218、Glu292 等结合位点。

3.2.2 红花注射液中化合物与 MRGPRX2 对接结果 红花注射液中 40 个化合物与 MRGPRX2 蛋白分子对接结果及对接位点见表 4。

C48/80 (N-甲基对甲氧基苯乙胺与甲醛缩合反

应生成的混合物) 是一种聚胺类化合物，不通过免疫原性致敏，而是直接作用于肥大细胞表面的受体(如 G 蛋白偶联受体)，促使细胞脱颗粒，释放组胺、白三烯等炎症介质，引发类似过敏反应，是公认的类过敏原。从表 4 中可以看出，化合物 1~9 的对接得分均低于阳性药 C48/80，表明它们与 MRGPRX2 的结合能力均强于阳性药，引起过敏反应的作用也会更强。这是因为这几个化合物除了与 C48/80 有相同的结合位点 Asp184 或 Leu247 外，还有其他的结合位点。比如：6-羟基山柰酚-3,6,7-O-三葡萄糖苷和 6-羟基槲皮素-3,6,7-O-三葡萄糖苷等化

表4 红花注射液中化合物与MRGPRX2对接结果和位点

Table 4 Docking results and binding sites of compounds in Safflower Injection with MRGPRX2

序号	化合物名称	对接得分	对接结合能/(kcal·mol ⁻¹)	氢键相互作用	盐桥相互作用	π-Cation作用	π-π相互作用
1	6-羟基山柰酚-3,6,7-O-三葡萄糖苷	-12.780	-84.760	Cys168, Gly169, Asp184, Leu247, Ser253			Trp243
2	6-羟基槲皮素-3,6,7-O-三葡萄糖苷	-12.327	-76.276	Cys168, Gly169, Asp184, Leu247, Ser253, Asp254			
3	6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖-7-O-葡萄糖醛酸苷	-10.879	-67.452	Ser103, Leu164, Cys168, Gly169, Trp243, Leu247			
4	2'-二氢-3-羟基红花黄色素A	-10.827	-63.371	Cys168, Asp184, Trp243, Leu247			
5	脱水红花黄色素B	-9.570	-51.057	Leu22, Phe101, Asp184, Leu247, Ser253, Asp254			Trp248
6	羟基红花黄色素A	-9.148	-65.646	Cys168, Leu247, Lys251			
7	3-羟基红花黄色素A	-8.850	-63.623	Leu22, Cys168, Asp184			Trp243
8	saffloquinoside D	-8.649	-55.931	Cys168, Asp184, Leu247, Lys251			Leu247
9	6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷	-8.537	-70.566	Cys168, Asp184, Leu247, Ser253			Trp248
10	C48/80*	-7.593	-97.063	Asp184, Leu247	Glu164, Asp184, Asp254	Trp243, Trp248	Phe170

合物除了有结合位 Asp184 或 Leu247 外, 还有 Cys168、Gly169、Ser253 等结合位点。

3.2.3 红花注射液中化合物与 RhoA 对接结果 红花注射液中 40 个化合物与 RhoA 蛋白分子对接结果及对接位点分别见表 5。

RhoA 也是类过敏原致敏通路之一, 在文献中也有用 RhoA 蛋白进行类过敏原筛选。在本研究中, 红花注射液中 40 个成分中仅有 6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷与 RhoA 对接得分低于阳性对照药

5'-鸟苷二磷酸-硫代磷酸酯 (GSP), 表明其与 RhoA 的结合能力强于阳性药。6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷与 RhoA 的结合位点比 GSP 少, 但结合强度高, 是潜在的类过敏原成分。

4 讨论

本研究采用 HPLC-IT-TOF 对红花注射液中化学成分进行了分析, 共鉴定出了 40 个化合物, 其中 26 个查耳酮碳苷类化合物, 8 个黄酮类化合物, 3 个生物碱类化合物和 3 个其他类化合物。接着将鉴

表5 红花注射液中化合物与RhoA对接结果和位点

Table 5 Docking results and binding sites of compounds in Safflower Injection with RhoA

序号	化合物名称	对接得分	对接结合能/(kcal·mol ⁻¹)	氢键相互作用	盐桥相互作用	π-Cation作用	π-π相互作用
1	6-羟基山柰酚-3,6,7-O-三葡萄糖苷	-17.736	-62.92	Val14, Asp87, Asp120, Thr127		Lys118	
2	GSP	-15.146	-119.96	Ala15, Cys16, Gly17, Thr19, Cys20, Thr37, Gly62, Asp120, Ala161, Lys162	Lys18	Lys118	Phe30

定出的 40 个化合物分别与靶点蛋白 HSA、MRGPRX2、RhoA 进行分子对接。其中, 分别筛选出 6-羟基山柰酚-6-O-(6-乙酰葡萄糖)-7-O-(6-乙醇基葡萄糖)-3-O-葡萄糖苷、6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖-7-O-葡萄糖醛酸苷、6-羟基山柰酚-3-芸香糖-6-葡萄糖苷等 6 个与 HSA 结合亲和力比阳性药双氯芬酸强的化合物; 筛选出 6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷、6-羟基槲皮素-3,6,7-三-O-葡萄糖苷、6-羟基山柰酚-3,6-O-二葡萄糖-7-O-葡萄糖醛酸苷、6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷等 9 个与 MRGPRX2 结合亲和力比阳性药 C48/C80 强的化合物以及筛选出 1 个与 RhoA 结合亲和力比阳性药 GSP 强的化合物(6-羟基山柰酚-3,6,7-三-O-葡萄糖苷)。综合以上结论发现, 6-羟基山柰酚糖苷类化合物对这 3 种蛋白具有较强的结合活性, 应给予关注, 后期将对上述化合物进行细胞学和动物实验验证, 以确定红花注射液中的致敏物质。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhai J N, Ji Z C, Jin X Y, *et al.* Meta-analysis of the effect of Honghua Injection in the treatment of coronary heart disease angina pectoris [J]. *Evid Based Complement Altern Med*, 2022, 2022: 4537043.
- [2] Khimmaktong W, Komolkriengkrai M, Boonyoung P, *et al.* Effects of curcumin on testis microvascular complication in streptozotocin-induced diabetes rats [J]. *Funct Foods Health Dis*, 2019, 9(1): 34.
- [3] 龙玲莉, 郑淑慧, 李宇彬. 灯盏花素干预糖尿病模型大鼠睾丸组织增殖细胞核抗原和 c-fos 的表达 [J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(18): 2917-2922.
- [4] 赵雯, 胡玥, 龙玲莉, 等. 灯盏花素保护 II 型糖尿病大鼠睾丸损伤的机制研究 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2020, 41(2): 260-267.
- [5] Roshankhah S, Jalili C, Salahshoor M R. Effects of crocin on sperm parameters and seminiferous tubules in diabetic rats [J]. *Adv Biomed Res*, 2019, 8: 4.
- [6] 曹正喜. 红花注射液治疗冠心病心绞痛 122 例临床疗效观察 [J]. 中国中医药咨讯, 2011, 3(22): 108.
- [7] 劳兆友. 红花注射液治疗冠心病心绞痛合并高脂血症 100 例临床观察 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2004, 2(6): 318-319.
- [8] 瞿泽祥, 李鸿. 红花注射液联合颈椎牵引治疗椎动脉型颈椎病 [J]. 泸州医学院学报, 2010, 33(3): 312-313.
- [9] 李同军. 推拿加红花注射液治疗神经根型颈椎病 98 例 [J]. 中医药学报, 2003, 31(1): 34.
- [10] 韦冰, 吴铿. 红花注射液治疗原发性痛经 90 例 [J]. 中药材, 2000, 23(7): 430-431.
- [11] 张利梅, 翁双燕. 红花注射液穴位注射治疗原发性痛经 50 例 [J]. 中国中医急症, 2011, 20(8): 1332.
- [12] 张祝. 红花注射液致发热 1 例 [J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(12): 1563.
- [13] 董娜, 杨慧. 红花注射液致全身过敏性皮疹 2 例 [J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15(10): 1378.
- [14] 李波. 红花注射液致过敏性皮疹 1 例 [J]. 新医学, 2007, 38(7): 423.
- [15] 侯建国, 孙光兴, 毛俊国, 等. 红花注射液致过敏性寒战一例 [J]. 新医学, 2011, 42(9): 602.
- [16] 于峰. 红花注射液过敏引起急性哮喘发作 1 例 [J]. 药物流行病学杂志, 2010, 19(2): 114.
- [17] 杨桂红, 徐晓芹, 张晓娟. 红花注射液致过敏性休克 1 例 [J]. 河北医药, 2011, 33(13): 2055.

[责任编辑 王文倩]