

• XXXX •

基于体外化学成分-体内移行成分探究榧藤子治疗 神经病理性疼痛的物质基础

李森森¹, 吴含雪¹, 李元滨², 赵丽敏¹, 苏晓慧¹, 熊慧³, 马卫华⁴,
王超¹, 马兆臣^{1*}, 林娜^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学 东直门医院, 北京 100700;
3. 中南民族大学 药学院, 武汉 430074; 4. 滕州市中医院, 滕州 277500)

[摘要] 目的:本研究旨在系统表征榧藤子的体外化学成分及其在神经病理性疼痛(NP)模型下的入血原型成分与代谢产物,从而阐明其镇痛活性的潜在药效物质基础。方法:采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)对榧藤子80%甲醇提取液进行成分分析,36只小鼠分为空白组,榧藤子提取物低、中、高(25、50、100 mg·kg⁻¹)剂量组,阿司匹林(400 mg·kg⁻¹)组,吗啡(10 mg·kg⁻¹)组,每组6只,检测甩尾阈值;24只小鼠随机分为空白组和榧藤子低、中、高剂量(25、50、100 mg·kg⁻¹)组,每组6只,检测小鼠协调功能。构建小鼠脊神经结扎(SNL)模型,将24只小鼠随机分为假手术(Sham)组,SNL组,SNL+榧藤子提取物(KB)组(750 mg·kg⁻¹),SNL+pregbalin组(20 mg·kg⁻¹),每组6只,进行机械痛敏、热痛敏检测;结合行为学评价明确其镇痛作用的最佳起效时间,并于该时间点采集血浆样本。通过精确质量、串联质谱法(MS/MS)二级碎片、保留时间及文献和标准品比对,系统鉴定入血成分及代谢物;同时结合网络药理学、靶点相似性分析及分子对接验证,评估入血成分干预疾病的潜在作用。结果:与空白组比较,榧藤子提取物高剂量组和吗啡组痛反应阈值显著升高($P<0.01$),且不影响正常小鼠协调功能;与Sham组比较,SNL组的机械痛敏、热辐射痛敏阈值显著降低($P<0.01$),与SNL组比较,SNL+KB组和SNL+pregbalin组的机械痛敏、热辐射痛敏阈值显著升高($P<0.01$);榧藤子在给药后2 h镇痛效果最显著,体外共鉴定出70种成分,血浆中检测到22种原型成分及29种代谢产物。入血成分的靶点主要富集于与疼痛信号感知与传递相关的生物学过程,且与神经病理性疼痛相关疾病基因具有较高重合度;同时多种成分亦与疼痛核心靶点具有较强结合能。综合体外含量、血浆暴露水平及靶点关联性,榧藤酰胺A- β -D-吡喃葡萄糖苷和榧藤子苷被确定为镇痛最具代表性的药效物质。结论:本研究从化学成分特征、体内行为特征及作用靶点三方面系统揭示了榧藤子干预神经病理性疼痛的物质基础,为其药效机制研究及镇痛新药研发提供了重要理论依据和实验支持。

[关键词] 榧藤子; 神经病理性疼痛; 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS); 成分鉴定; 网络药理学

[中图分类号] R277;R285;R289 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(XXXX)XX-0001-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252343

[网络出版地址]

[网络出版日期] XXXX-XX-XX [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



Material Basis of *Entada phaseoloides* against Neuropathic Pain Based on *in vitro* Chemical Profiling and *in vivo* Absorbed Constituents

LI Sensen¹, WU Hanxue¹, LI Yuanbin², ZHAO Limin¹, SU Xiaohui¹, XIONG Hui³,
MA Weihua⁴, WANG Chao¹, MA Zhaochen^{1*}, LIN Na^{1*}

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

[收稿日期] 2025-10-08

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2022YFC3502202);中国中医科学院科技创新工程项目(CI2024E003);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(L2025011)

[第一作者] 李森森,在读硕士,从事中药药理研究,E-mail:Zhongyaobao@163.com

[通信作者] *林娜,博士,研究员,从事抗炎免疫中药药理研究,E-mail:nlin@icmm.ac.cn;

*马兆臣,博士,助理研究员,从事中药抗炎免疫药理学研究,E-mail:mazaoc@163.com

China; 2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;
3. School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China;
4. Tengzhou Traditional Chinese Medical Hospital, Tengzhou 277500, China)

[Abstract] **Objective:** To systematically characterize the *in vitro* chemical constituents of *Entada phaseoloides* and its absorbed prototype compounds and metabolites in a neuropathic pain (NP) model, thereby elucidating the potential pharmacological material basis underlying its analgesic activity. **Methods:** Ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) was used to analyze the constituents of the 80% methanol extract of *E. phaseoloides*. Thirty-six mice were divided into a blank group, low-, medium-, and high-dose *E. phaseoloides* extract groups (25, 50, and 100 mg·kg⁻¹, respectively), an aspirin group (400 mg·kg⁻¹), and a morphine group (10 mg·kg⁻¹), with six mice in each group. The tail-flick threshold was measured. Twenty-four mice were randomly divided into a blank group and low-, medium-, and high-dose *E. phaseoloides* extract groups (25, 50, and 100 mg·kg⁻¹, respectively), with six mice in each group, and motor coordination was evaluated. A spinal nerve ligation (SNL) model was established in mice. Twenty-four mice were randomly divided into a sham-operated (Sham) group, an SNL group, an SNL + *E. phaseoloides* extract group (750 mg·kg⁻¹), and an SNL + pregabalin group (20 mg·kg⁻¹), with 6 mice in each group. Mechanical allodynia and thermal hyperalgesia were evaluated. Behavioral assessments were combined to determine the optimal onset time of the analgesic effect, and plasma samples were collected at this time point. Absorbed components and metabolites were systematically identified based on accurate mass, MS/MS fragmentation patterns, retention time, and comparisons with literature data and reference standards. Meanwhile, network pharmacology, target similarity analysis, and molecular docking validation were integrated to evaluate the potential effects of absorbed components on disease intervention. **Results:** Compared with the blank group, the high-dose *E. phaseoloides* extract group and morphine group showed significantly increased pain response thresholds ($P<0.01$), without affecting motor coordination in normal mice. Compared with the Sham group, the SNL group exhibited significantly decreased thresholds for mechanical allodynia and thermal hyperalgesia ($P<0.01$). Compared with the SNL group, the SNL + *E. phaseoloides* extract group and SNL + pregabalin group showed significantly increased thresholds for mechanical allodynia and thermal hyperalgesia ($P<0.01$). The analgesic effect of *E. phaseoloides* was most significant at 2 h after administration. A total of 70 constituents were identified *in vitro*, and 22 prototype compounds and 29 metabolites were detected in plasma. The targets of the absorbed components were mainly enriched in biological processes associated with pain signal perception and transmission and showed a high degree of overlap with disease genes related to neuropathic pain. In addition, multiple components exhibited strong binding energies with core pain-related targets. Based on integrated analysis of *in vitro* content, plasma exposure levels, and target associations, ketanthamide α - β -D-pyranoside and ketengzide were identified as the most representative pharmacologically active substances responsible for the analgesic effect. **Conclusion:** This study systematically elucidates the material basis of *E. phaseoloides* intervention in neuropathic pain from three aspects, including chemical constituent characteristics, *in vivo* behavioral characteristics, and potential targets, providing important theoretical foundations and experimental support for further studies on its pharmacological mechanism and analgesic drug development.

[Keywords] *Entada phaseoloides*; neuropathic pain; ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS); component identification; network pharmacology

槭藤子 *Entada phaseoloides* 为豆科植物槭藤的干燥成熟种仁,是傣医常用药材,具有补益气血、健胃消食、除风止痛等功效,传统用于治疗风湿痹痛、气虚血亏、食欲不振及性功能减退等症^[1]。现代药理研究表明,其具有抗炎、镇痛、抗肿瘤、降血糖、促胃肠动力、抗菌和抗病毒等多重生物活性^[2]。主要化学成分包括三萜皂苷类、含硫酰胺类、酚类及酚苷类等^[3]。

神经病理性疼痛(NP)是由神经损伤引起的难治性慢性疼痛综合征,具有病程长、复发率高、发病机制复杂,现有药物疗效有限且伴随明显不良反应等特征,使其成为疼痛医学领域亟待突破的重大科

学问题。尽管槭藤子具有确切的镇痛效应,已有动物实验表明其水提取物在醋酸扭体实验中可显著降低小鼠扭体次数,但其镇痛的化学物质基础仍不明确^[4-5]。目前关于槭藤子入血成分的研究仍十分有限,既往相关研究多集中在其总皂苷、水/醇提取物等粗提部位的镇痛、抗炎、降血糖及其他药效活性评价层面,缺乏对具体吸收成分、体内暴露行为及作用靶点的深入解析。尤其是其在病理状态下的入血成分尚未被系统鉴定,导致其镇痛机制难以进一步阐明。近年来,超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)在中药现代化研究中的应用使得成分解析、代谢追踪

及成分-药效关联研究更加高效、准确^[6]。相比传统部位化学分析,基于“入血成分”开展物质基础研究更能反映药物真正发挥系统药效的化学依据,有助于锁定具有生物可及性和药效潜力的活性候选化合物。而在神经病理性疼痛研究中,病理模型条件下开展的入血成分分析更具临床相关性^[3]。与此同时,网络药理学、靶点相似性分析和分子对接等计算药理技术的成熟,为构建“成分-靶点-疾病”关联框架提供了可行路径,也为中药活性成分的精准筛选提供了新的研究范式。

脊神经结扎(SNL)模型是经典神经病理性疼痛模型,为系统探究槭藤子治疗神经病理性疼痛的潜在物质基础,本研究构建SNL模型,结合行为学评价明确其镇痛作用的起效时间,并在相应时间点采集血浆样本。随后,采用UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术对其体外提取物及入血成分进行系统分析,结合标准品、文献资料及数据库信息进行化合物鉴定。在此基础上,进一步整合网络药理学、靶点相似性分析及分子对接验证,筛选出对神经病理性疼痛相关靶点具有较强调控潜力的关键候选成分。本研究旨在明确槭藤子的入血暴露成分,系统筛选其干预神经病理性疼痛的潜在活性物质,并建立“成分-靶点-疾病”通路的作用关联图谱,从而为揭示其镇痛作用机制提供物质基础证据。研究不仅丰富了槭藤子现代药理研究,也为开发具有民族医药特色的天然镇痛候选药物提供理论依据和方法学参考。

1 材料

1.1 动物 140只健康雄性ICR小鼠,SPF级,体重(25±2)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2016-0006。饲养于中国中医科学院中药研究所实验动物中心;饲养室温度22~24℃,湿度50%~60%,光照/黑暗周期循环12h,不限制摄食饮水。

1.2 伦理 所有动物实验获得中国中医科学院中药研究所实验动物福利伦理审查委员会审核和批准,编号2023B111。

1.3 药物 槭藤子(采集于云南景洪,中南民族大学药学院刘新桥教授鉴定)。

1.4 试剂 甜菜碱(批号RFS-Y09811804026)、葫芦巴碱(批号RFS-H05702206014)、格列风内酯(批号RFS-G02402212005)、槭藤酰胺A-β-D-吡喃葡萄糖苷(批号RFS-K02901905028)、新绿原酸(批号RFS-X01402112013)、儿茶素(批号E-011-180725)、

绿原酸(批号RFS-L00702402028)、隐绿原酸(批号RFS-Y06702107008)、刺五加苷B(批号RFS-C00902403022)、表儿茶素(批号RFS-B02002005025)、獐牙菜苷(批号RFS-Z00902112017)、落新妇苷(批号RFS-L00211812017)、虎杖苷(批号RFS-H01202103019)、阿魏酸(批号RFS-A00211812016)、冬凌草乙素(批号RFS-D11602404028)、小檗碱(批号RDD-X04502406011)、卡枯醇(批号RFS-K02301905020)、甲基丁香酚(批号RFS-J06211804026)、白术内酯Ⅲ(批号RFS-B03502306029)、胡椒碱(批号RFS-H00111802014)、和厚朴酚(批号RFS-H00502401001)、莪术二酮(批号RFS-E00911812016)、厚朴酚(批号RFS-H00402404010)、异土木香内酯(批号RDD-Y05902112020)、丁香酚(批号RFS-D06411705008)、白术内酯Ⅰ(批号RFS-B03302302006)均购自成都瑞芬思德丹生物科技有限公司,纯度均≥98%。甲醇、乙腈、甲酸和水均购自美国Thermo Fisher Scientific公司,均为质谱级,批号分别为A456-4、A955-4、A117-50、W6-4;阿司匹林(德国拜耳医药保健公司,批号BJ57877,规格100mg/片);吗啡(沈阳第一制药厂,批号047008,规格1mL:10mg)。

1.5 仪器 Vanquish Flex UHPLC系列超高效液相色谱仪、Q-Exactive四极杆轨道离子阱质谱(美国Thermo Fisher Scientific公司);Mikro 220R型高速冷冻离心机(德国Hettich Lab Technology公司);KQ3200D型超声波提取仪(中国昆山市超声仪器有限公司);SW-201型光热尾痛测试仪、ZB-200型疲劳转棒仪(成都泰盟软件有限公司);Aesthesio型Von frey疼痛测试包(深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司);37300型热辐射痛敏检测仪(意大利UGO Basile公司)。

2 方法

2.1 槭藤子提取物制备 参照课题组前期提取方法,即:取槭藤子2.4kg,用10倍量70%乙醇于24℃浸提取2次(每次20L,48h/次),得到621.0g粗提取物。该粗提取物用2L水分散后,用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇连续提取。然后将正丁醇提取物浓缩干燥,得到59.0g精制提取物(后文槭藤子均特指槭藤子精制提取物),占槭藤种仁的2.46%^[7]。

2.2 光源热所致正常小鼠尾部疼痛反应检测 参考RAUP-KONSAVAGE等^[8]的方法,稍作改进。将

42只ICR小鼠提前适应3 d,甩尾痛觉测试仪辐射功率设置为34周;为避免灼伤鼠尾,设置保护阈值10 s。将小鼠放入固定器中,暴露尾部,辐照部位固定在小鼠尾根部1/3处,小鼠安静后即可进行检测。记录从照射开始到出现甩尾反应的潜伏期,作为其痛阈值。所有小鼠在给药前先测2次基础痛阈值,基础痛阈3~6 s为合格,淘汰不合格的小鼠。将36只合格小鼠按体质量均衡分为6组:空白组(生理盐水),槭藤子低、中、高(25、50、100 mg·kg⁻¹,灌胃)剂量组,阿司匹林(400 mg·kg⁻¹,灌胃)组,吗啡(10 mg·kg⁻¹,皮下注射)组,每组6只,其中50 mg·kg⁻¹为槭藤子的临床等倍剂量。槭藤子组小鼠给药后2 h进行检测,阿司匹林与吗啡给药0.5 h进行检测,各组均行3次痛阈值测定,每次间隔5 min,取平均值为痛阈值,为保护动物尾部灼伤,超过10 s不甩尾记为10 s。

2.3 转棒实验检测正常小鼠协调功能 参考WIDJAJA等^[9]的方法,稍作改进。将50只ICR小鼠适应性饲养3 d,采用疲劳转棒仪进行检测,正式实验前筛选出转速为30 r·min⁻¹,1 min内不掉落的小鼠;对实验鼠每日同一时间进行适应性训练,设置转速20 r·min⁻¹,每只适应15 min,连续适应3 d。剔除多次抱轴和跌落的小鼠,保证24只小鼠用于正式实验。第3天适应筛选结束后将合格小鼠按体质量随机分为4组,空白组和槭藤子低、中、高(25、50、100 mg·kg⁻¹,灌胃)剂量组^[7],每组6只。正式检测时间与适应时间段保持一致,调整转速30 r·min⁻¹,记录槭藤子给药2 h时小鼠在转轴上停留时间,转棒时长设置5 min,大于总时长记5 min。测试期间保持周围环境安静,每组小鼠检测结束清理转棒,并擦拭转棒底部与侧壁,减少干扰。

2.4 SNL小鼠造模、分组及给药 SNL造模参照有学者在1992年建立的大鼠SNL模型操作流程^[10],小鼠腹腔注射戊巴比妥钠(40~50 mg·kg⁻¹),清除小鼠腰背部毛发,碘酒自内向外常规消毒乙醇脱碘后,铺动物手术巾,于后正中线左侧约5 mm处纵向切开皮肤,切口长度15 mm左右,髂嵴以上的切口长度大概10 mm。然后显微解剖镜下用显微镊钝性分离胸腰筋膜,并小心钝性分离竖脊肌,暴露第6腰椎横突后用咬虎钳咬断,轻轻剥离L₆脊神经,用6号丝线紧紧结扎,观察到同侧后肢肌肉轻微颤动即为成功^[10]。生理盐水冲洗伤口,青霉素消毒后,逐层缝合肌肉、皮肤。

将24只ICR小鼠随机分为4组,Sham组、

SNL组、SNL+KB组、SNL+pregbalin组;Sham组及SNL组小鼠予生理盐水(0.1 mL·10 g⁻¹,灌胃);SNL+KB组予人临床给药剂量的15倍槭藤种仁提取物,使用生理盐水溶解后灌胃给药(750 mg·kg⁻¹,灌胃)^[7,11],适应性饲养3 d,第4天小鼠造模,造模次日起每天灌胃2次,间隔12 h,连续给药3 d;SNL+pregbalin组予普瑞巴林灌胃(20 mg kg⁻¹,灌胃)。

2.5 SNL小鼠机械痛敏阈值检测 造模2 d后,每日同一时间将小鼠放于自制机械痛敏检测金属网格上适应1 h,用红色树脂检测盒将动物按组别分隔,适应3 d。当适应结束后的小鼠处于静息状态且探寻行为明显减少时,用Von Frey filament(0.008~4 g)对各组小鼠左足足跖部进行检测,检测时间点为给药后0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、6、24 h,检测时用纤维丝垂直对准小鼠足跖部正中,轻轻抵住至纤维丝轻微弯曲,作用时间维持3 s左右,观察小鼠在刺激时间内的缩足、抖足、舔足的反应情况,若出现则记为阳性,使用Dixon's up and down方法计算50%缩足阈值^[12]。

2.6 SNL小鼠热辐射痛敏阈值检测 造模2 d后,将小鼠置于足底红外热刺激仪的有机玻璃板上,盖上定制透明检测盒分隔组别,适应3 d。当适应结束后的小鼠呈静息状态且探索行为明显减少时,将一定强度的红外辐射热源对准小鼠左足足跖部正中,记录照射时间。将空白组小鼠的基础热辐射潜伏时间调整为9~12 s,为防止小鼠烫伤,设置最大潜伏时间为20 s(cut-off time=20 s)^[13]。检测时间为给药后0、1、2、3、4、6、24 h。

2.7 血浆采集 造模、分组及给药同机械痛敏检测。连续给药3 d后,禁食12 h,正常饮水,次日再行单次给药,SNL组(生理盐水,10 mL·kg⁻¹)及SNL+KB组(750 mg·kg⁻¹)小鼠于给药后0.5、1、1.5、2、4、6 h的每一个时间点取1只动物眼球采血,置于肝素管中;血浆采集完成后轻轻摇动抗凝管,室温4 500 r·min⁻¹离心15 min(离心半径15.7 cm),取上层血浆,将不同时间点上清液各取50 μL混于1.5 mL离心管中,每组各300 μL,涡旋振荡混匀,干冰保存。

2.8 样品制备

2.8.1 对照品溶液的制备 分别取甜菜碱、葫芦巴碱、格列风内酯、槭藤酰胺A-β-D-吡喃葡萄糖苷、新绿原酸、儿茶素、绿原酸、隐绿原酸、刺五加苷B、表儿茶素、獐牙菜苷、落新妇苷、虎杖苷、阿魏酸、冬凌草乙素、小檗碱、卡枯醇、甲基丁香酚、白术内酯Ⅲ、胡椒碱、和厚朴酚、莪术二酮、厚朴酚、异土木香内

酯、丁香酚、白术内酯 I 等对照品适量,精密称定,加 80% 甲醇定容,配制成质量浓度为 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.8.2 供试品溶液的制备 取槭藤子粉末(过 3 号筛)1.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入 80% 甲醇 40 mL,超声 30 min。取溶液 1 mL,置于 1.5 mL 离心管中,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min (离心半径 7 cm,下同)。取溶液 100 μL ,置于进样瓶中,待测。

2.8.3 血浆样品的制备 取血浆样品 100 μL ,置于 1.5 mL 离心管中,加入甲醇 300 μL ,涡旋振摇 10 min。将离心管置于低温离心机中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 10 min。取上清液 270 μL ,真空离心浓缩 4 h。加入 50% 甲醇水溶液 90 μL ,涡旋振摇 1 min。将离心管置于低温离心机中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 10 min。取上清液 80 μL ,置于进样瓶中,待测。

2.9 使用 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 进行成分分析 色谱条件:采用配备 ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm) (Waters Corp., MA, USA)反相色谱柱的 Vanquish Flex UHPLC(Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA)超高效液相色谱进行色谱分离。流动相由 A 相(水+0.1% 甲酸)和 B 相(乙腈)组成,梯度洗脱(0~1 min, 98%A; 1~14 min, 98%~70%A; 14~25 min, 70%~0%A; 25~28 min, 0%~0%A; 28~28.1 min, 0%~98%A; 28.1~30 min, 98%~98%A)。流速为 $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,色谱柱温度为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样量为 6.0 μL 。

质谱条件:采用配备热电喷雾离子源的四极杆轨道离子阱质谱仪(Q ExactiveTM, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA)进行质谱分析。正、负离子的离子源电压分别为 3.7 kV 和 3.5 kV;毛细管加热温度为 $320\text{ }^{\circ}\text{C}$;鞘气压力为 30 psi,辅助气压力为 10 psi;溶剂加热蒸发温度为 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$;鞘气和辅助气均为氮气;碰撞气为氮气,压力为 1.5 mTorr。采用 Full scan/dd-MS²模式采集数据,Full scan 参数:分辨率 70 000,自动增益控制目标 1×10^6 ,最大隔离时间 50 ms,质荷比扫描范围 100~1 500;dd-MS²参数:分辨率 17 500,自动增益控制目标 1×10^5 ,最大隔离时间 50 ms,质量分离窗口 2,碰撞能 10 V、30 V、60 V,强度限定 1×10^5 。

获得的质谱数据采用 Progenesis QI 3.0 软件(Waters Corp., MA, USA)处理,步骤依次为导入原始数据、峰提取、去卷积。搜索对照品数据库(TCM

Pro 2.0,北京荷欣科技有限公司)和理论数据库(通过文献、公共数据库等构建),通过对照品保留时间误差、母离子质量误差、二级碎片匹配、同位素分布、峰强度等对鉴定结果进行多维综合判断分析,得到最终结果。

2.10 入血成分靶点及疾病基因收集 采用技术对槭藤子进行动物给药后血浆中原型成分分析,确定的入血成分共 26 个。通过 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)检索每个成分的 SMILES 格式用于靶点预测。利用 SwissTargetPrediction 数据库(<https://www.swisstargetprediction.ch/>),输入各成分 SMILES 结构,选择“Human”为目标物种,预测其潜在作用靶点。每个成分保留预测概率前列的靶点,合并后去除重复,得到槭藤子代谢成分的总靶点。从 DisGeNET 数据库(<https://disgenet.com/>)中以“Neuropathic pain”为关键词,筛选相关疾病基因,设置 Score ≥ 0.3 作为筛选阈值,提取与神经病理性疼痛相关的疾病基因。

2.11 “成分靶点-疾病基因”相互作用网络构建及分析 对药物靶点和疾病基因取交集,将交集靶点导入蛋白互作网络分析数据库,选择人类物种,设定交互置信度阈值为 0.7,构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,并使用 Cytoscape 3.9.1 软件插件 CytoHubba,以 Degree 方法筛选关键靶点,并构建“成分靶点-疾病基因”相互作用网络图。用注释、可视化和集成发现数据库对交集靶点进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析,筛选错误发现率(FDR) < 0.05 的显著富集项,用于分析靶点生物学功能和通路分布。

2.12 成分靶点与疾病基因的 JACCARD 相似性评价 通过公式 $J(A, B) = |A \cap B| / |A \cup B|$ 计算每个成分靶点集合(A)与疾病基因集合(B)之间的 Jaccard 相似性系数。Jaccard 指数越高,说明该成分与神经病理性疼痛的潜在相关性越强。

2.13 分子对接 核心靶标导入蛋白质结构数据库(PDB)pdb format 格式文件;从 PubChem 及文献检索中得到厚朴酚、槭藤子苷、槭藤酰胺 *A*- β -D-吡喃葡萄糖苷、Oxynarcotine 的 SDF 结构,使用 Openbabel 软件转换为 pdbqt 格式后导入 AUTODOCK VINE 进行分子对接^[15],使用 Graphpad Prism 将对接结合能可视化处理,PYMOL 进行对接图可视化处理。

2.14 统计学分析 使用 GraphPad Prism 8.0.2 进行

数据分析。根据正态分布检验结果,采用参数或非参数统计分析;进一步采用单因素方差分析,并进行Tukey事后检验或Kruskal-Wallis检验的Dunn事后检验。 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 槭藤子具有显著的中枢镇痛作用且无常见不良反应 与空白组比较,槭藤子高剂量组、吗啡组给药2 h后可使正常小鼠的痛反应潜伏期显著延长($P<0.01$),槭藤子低、中剂量组及阿司匹林组对痛阈值比较差异无统计学意义,说明槭藤子发挥对正常小鼠镇痛作用的部位可能位于脊髓以上水平,即中枢镇痛,见表1。与空白组比较,槭藤子低、中、高剂量组对正常小鼠协调功能差异无统计学意义,说明槭藤子对神经病理性疼痛的镇痛不依赖于中枢神经系统的抑制或运动功能的损害,见表2。

3.2 槭藤子可显著改善小鼠各种神经病理性疼痛反应 与Sham组比较,SNL组小鼠的机械痛敏阈值显著降低($P<0.01$),提示造模成功,见表3;与SNL组比较,SNL+KB组在0.5 h即起效,镇痛效果于给药后2 h达到峰值,药效持续时间约为3.5 h,给药后6 h几乎没有镇痛效果。给药后24 h各组与SNL组差异无统计学意义;SNL+pregbalin组发挥药效能够维持6 h左右,但最佳药效弱于槭藤子。与Sham组比较,SNL组的热辐射痛敏阈值显著降低

表1 槭藤子对小鼠光源热所致尾部疼痛反应的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 1 Effect of *Entada phaseoloides* (KB) on pain response induced by light source heat in tail of mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	甩尾基础阈值/s
空白组		4.23±0.73
槭藤子低剂量组	25	4.63±0.33
槭藤子中剂量组	50	5.65±0.95
槭藤子高剂量组	100	7.85±0.26 ¹⁾
阿司匹林组	400	4.25±0.38
吗啡组	10	9.58±0.06 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$

表2 槭藤子对正常小鼠协调功能的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)
Table 2 Effect of KB on coordination function in normal mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	轮替主轴停留时间/s
空白组		290.80±7.20
槭藤子低剂量组	25	297.50±2.13
槭藤子中剂量组	50	290.50±7.22
槭藤子高剂量组	100	297.30±1.98

($P<0.01$);与SNL组比较,SNL+KB组可明显缓解热辐射痛敏,可见槭藤子缓解热辐射痛敏的药效时程和最佳药效时间点与机械痛敏阈值的结果相似;SNL+pregbalin组能长时程降低SNL小鼠热辐射痛敏阈值,同机械痛敏阈值检测结果,见表4。

表3 槭藤子对SNL小鼠机械痛敏阈值的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of KB on mechanical pain sensitivity threshold threshold in SNL mice ($\bar{x}\pm s, n=6$) g							
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	机械痛基线值	机械痛0.5 h值	机械痛1 h值	机械痛1.5 h值	机械痛2 h值	机械痛2.5 h值
Sham组		1.25±0.09	1.25±0.05	1.37±0.07	1.26±0.11	1.43±0.06	1.37±0.06
SNL组		0.11±0.01 ¹⁾	0.13±0.02 ¹⁾	0.10±0.01 ¹⁾	0.07±0.01 ¹⁾	0.06±0.01 ¹⁾	0.10±0.01 ¹⁾
SNL+KB组	750	0.09±0.02	0.42±0.05 ²⁾	0.82±0.06 ²⁾	1.06±0.11 ²⁾	1.18±0.06 ²⁾	0.97±0.11 ²⁾
SNL+pregbalin组	20	0.07±0.02	0.49±0.11 ²⁾	0.88±0.02 ²⁾	0.90±0.05 ²⁾	0.92±0.05 ²⁾	0.87±0.08 ²⁾
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	机械痛3 h值	机械痛3.5 h值	机械痛4 h值	机械痛6 h值	机械痛24 h值	
Sham组		1.37±0.12	1.31±0.06	1.28±0.10	1.29±0.07	1.31±0.07	
SNL组		0.10±0.02 ¹⁾	0.10±0.01 ¹⁾	0.09±0.02 ¹⁾	0.09±0.01 ¹⁾	0.11±0.01 ¹⁾	
SNL+KB组	750	0.87±0.02 ²⁾	0.42±0.05 ²⁾	0.13±0.02	0.12±0.02	0.12±0.02	
SNL+pregbalin组	20	0.82±0.10 ²⁾	0.85±0.06 ²⁾	0.84±0.08 ²⁾	0.12±0.02	0.09±0.02	

注:与Sham组比较¹⁾ $P<0.01$;与SNL组比较²⁾ $P<0.01$ (表4同)

3.3 槭藤子化学成分鉴定 采用Progenesis QI 3.0软件分析槭藤子样品在正、负离子模式下采集的质谱数据,获得正、负离子模式下总离子图见增强出版附加材料。通过对照品保留时间误差、母离子质量误差、二级碎片匹配、同位素分布、峰强度等对鉴定结果进行多维综合判断分析,同时参考TCM Pro

2.0对照品数据库和理论数据库,共从槭藤子样品中初步鉴定了70个化合物,主要包含12个酚及酚苷类成分、12个脂肪酸及酚酸等有机酸类成分、9个内酯类成分、5个环烯醚萜苷类成分、5个黄酮及黄酮苷类成分、4个生物碱类成分、3个含硫酰胺类成分、3个皂苷类成分、2个苯丙素类成分和15个糖苷及

表4 槭藤子对SNL小鼠热辐射痛敏阈值的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	热辐射痛 基线值	热辐射痛 1 h值	热辐射痛 2 h值	热辐射痛 3 h值	热辐射痛 4 h值	热辐射痛 6 h值	热辐射痛 24 h值
Sham组		14.57±0.88	12.35±0.65	13.40±0.68	13.60±0.48	12.90±0.82	12.25±0.73	13.21±0.64
SNL组		2.72±0.48 ¹⁾	2.65±0.26 ¹⁾	3.20±0.51 ¹⁾	4.27±0.94 ¹⁾	3.10±0.41 ¹⁾	2.62±0.51 ¹⁾	3.23±0.38 ¹⁾
SNL+KB组	750	2.97±0.53	8.20±0.87 ²⁾	11.42±0.65 ²⁾	8.51±1.53 ²⁾	6.63±1.01 ²⁾	3.15±0.46	3.00±0.45
SNL+pregbalin组	20	2.63±0.21	6.42±1.14 ²⁾	7.72±2.13 ²⁾	7.20±0.99 ²⁾	6.15±0.49 ²⁾	2.95±0.28	2.87±0.41

萜等其他类成分(增强出版附加材料)。各成分分子离子峰、二级离子碎片等信息见增强出版附加材料。

3.4 槭藤子入血成分鉴定 在正、负离子模式下对大鼠血浆样本进行数据采集(见增强出版附加材料),与前期收集的分子量、保留时间和准分子离子峰及二级碎片离子峰信息进行对照分析,鉴定得到22个槭藤子入血原型成分及29个相应的代谢产物,主要包含10个酚及酚苷类成分、7个环烯醚萜苷类成分、5个酚酸等有机酸类成分、3个生物碱类成分、3个含硫酰胺类成分、3个皂苷类成分、2个内酯类成分、2个黄酮苷类成分、1个苯丙素类成分和15个糖苷及萜等其他类成分(见增强出版附加材料)。29个代谢产物的主要代谢形式包括Ⅰ相代谢和Ⅱ相代谢,Ⅰ相代谢反应包括氧化(如+O、+O₂、-H₂+O₂)、还原(如+H₂、-O)、水解(如+H₂O)、脱水(如-H₂)、脱羧(如-CO)、断裂或结构重排(如-C₃H₆+O);二相代谢反应包括硫酸化(如+SO₃)、抗坏血酸加和(如+C₆H₈O₆)、氨基酸衍生物加合(如+C₅H₇O₃N)。入血成分相关信息见增强出版附加材料。

3.5 基于网络药理学的槭藤子入血成分干预神经病理性疼痛的潜能分析 通过UPLC-Q-Orbitrap HRMS技术共鉴定出26个槭藤子入血相关成分,包括22个原型成分及4个代谢产物原型成分。利用SwissTargetPrediction数据库预测这些成分的潜在作用靶点,共获得382个成分靶点;在DisGeNET数据库中检索与神经病理性疼痛相关的疾病靶点,共得到1 818个靶点。将上述2个靶点集合进行Venn分析,发现共有137个交集靶点,提示这些靶点可能是槭藤子发挥抗神经病理性疼痛作用的关键分子基础(增强出版附加材料)。

随后,将137个交集靶点导入STRING数据库构建“成分-靶点-疾病”相互作用网络,并通过网络拓扑结构分析按Degree值筛选出自由度最高的前10个核心靶点,主要包括肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)6、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)3、蛋

白激酶B(Akt)1、环氧合酶-2(PTGS2)等。这些靶点广泛参与炎症调节、神经损伤修复及疼痛信号传导等关键过程,与神经病理性疼痛的发病机制密切相关(增强出版附加材料)。

对上述137个靶点进一步开展GO功能注释与KEGG通路富集分析,结果显示其主要富集于“G蛋白偶联受体信号通路-偶联到环核苷酸第二信使”“激活磷脂酶C的G蛋白偶联受体信号通路”“化学突触传递的突触前调节”等生物学过程,这些功能均与疼痛信号的感知、传递密切相关(增强出版附加材料)。KEGG通路分析结果表明,靶点显著富集于“神经活性配体-受体相互作用”“神经营养因子信号通路”“5-羟色胺能突触”及“炎症介质调控TRP通道”等通路(增强出版附加材料),进一步支持上述入血成分具有干预神经病理性疼痛的潜力。

3.6 基于Jaccard相似性系数的槭藤子入血成分作用潜力分析 为进一步评估各入血成分干预神经病理性疼痛的潜在能力,采用Jaccard相似性算法分析成分靶点与疾病相关基因之间的重合程度。Jaccard相似性系数越高,表明成分靶点与疾病基因的重叠程度越大,其在疾病干预中的潜在作用也越强。分析结果显示(表5),厚朴酚、槭藤子苷、槭藤酰胺A-β-D-吡喃葡萄糖苷、Oxynarcotine等4个成分与神经病理性疼痛相关基因的重合度最高,提示上述成分在槭藤子干预神经病理性疼痛中可能发挥重要作用,具有较高的研究与开发价值。

3.7 分子对接验证潜在活性成分与疼痛核心靶点间的相互作用 将神经病理性疼痛相关核心靶点AKT1、MAPK3、ERK2、HSP90AA1、TNF、STAT3与厚朴酚、槭藤子苷、槭藤酰胺A-β-D-吡喃葡萄糖苷、Oxynarcotine分别进行分子对接,结合能均小于-5 kcal·mol⁻¹,说明结合能力较好;其中结合能最低的受体-配体组合为Akt1-Phaseoloidin(-8.1 kcal·mol⁻¹)、MAPK3-Oxynarcotine(-6.9 kcal·mol⁻¹)、Akt1-Magnolol(-8.5 kcal·mol⁻¹)、Akt1-Entadamide A-β-D-glucopyranoside

表5 JACCARD相似性分析
Table 5 JACCARD similarity analysis

序号	活性成分	Jaccard 系数
1	Magnolol	0.022 4
2	Phaseoloidin	0.021 6
3	Entadamide-a-β-d-glucopyranoside	0.018 2
4	Oxynarcotine	0.013 8
5	7beta-hydroxy-13-oxopodocarpa -8 (14) -ene-18-oic acid	0.012 3
6	4-hydroxy-4- [2- [3, 4, 5-trihydroxy -6-(hydroxymethyl) oxan -2-yl] oxyethyl] cyclohexa-2, 5-dien-1-one	0.012
7	1-o-(4-coumaroyl) -beta-d-glucose	0.011
8	Gingerglycolipid b	0.010 4
9	Icariside f2	0.010 3
10	Isoalantolactone	0.009 3
11	Sweroside	0.009 2
12	Chaihuxinoside b	0.009 2
13	Cuchiloside	0.006 6
14	Dihydrosyringin	0.006 5
15	Neochlorogenic acid	0.006
16	Cryptochlorogenic acid	0.006
17	Clinacoside c	0.004 9
18	Tuberonic acid glucoside	0.004 4
19	Piceid	0.003 3
20	Violutoside	0.003 3
21	Glucosyringic acid	0.002 7
22	Zedoarofuran	-
23	10-o-acetylgeniposidic acid	-
24	Entadamide a	-
25	Icariside d1	-
26	Yemuoside ym2	-

(-6.5 kcal·mol⁻¹)。上述结果进一步证明了厚朴酚、槭藤子苷、槭藤酰胺 A-β-D-吡喃葡萄糖苷、Oxynarcotine在槭藤子干预神经病理性疼痛中可能发挥重要作用。见图1。

3.8 槭藤子干预神经病理性疼痛药效物质分析

在体外化学成分中,峰面积排名前十的主要成分依次为:槭藤子苷、槭藤酰胺 A-β-D-吡喃葡萄糖苷、剪秋罗糖、蔗糖、2-甲氧基-4-乙酰基苯基-1-O-β-D-芹菜糖基-(1"→6')-β-D-葡萄糖苷、格列风内酯、3-羧基吲哚-10-O-β-D-葡萄糖苷(1→2)-β-D-葡萄糖苷酯、3-O-β-D-半乳糖基-(1→2)-β-D-葡萄糖醛酸基-人参皂苷-28-O-β-D-木糖基-(1→4)-[β-D-6-O-乙酰

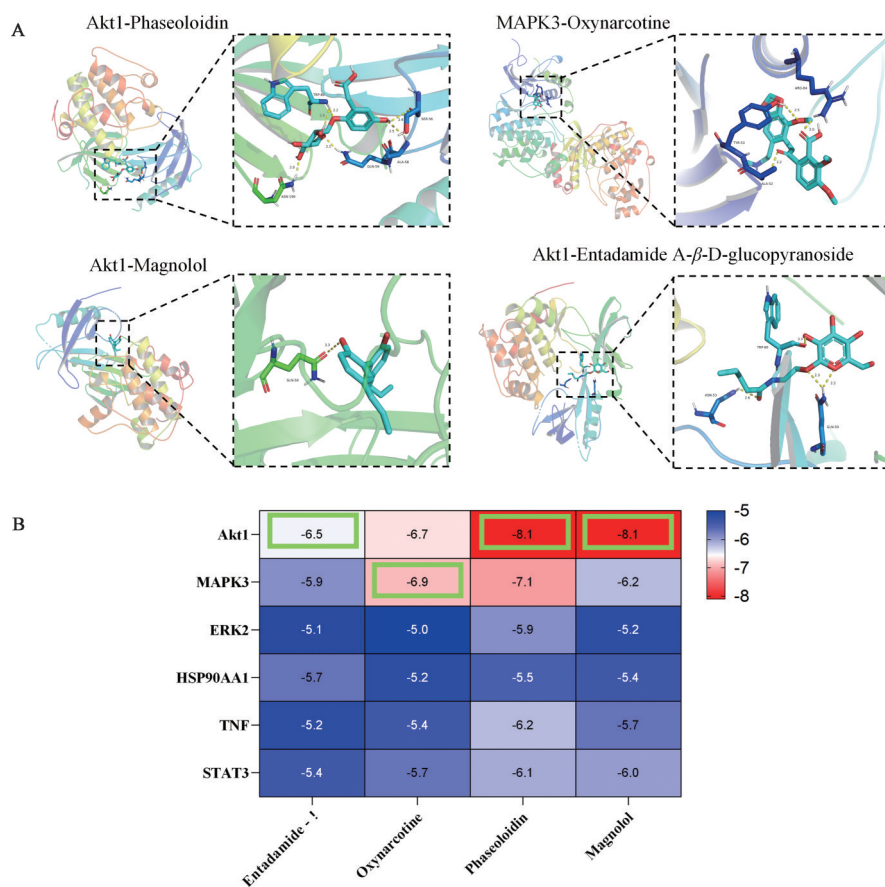
葡萄糖基-(1→3)]-α-L-鼠李糖基-(1→2)-β-D-岩藻糖苷、Violutoside和葫芦巴碱。在大鼠血浆中检测到的入血原型成分中,峰面积前十位的化合物分别为:槭藤酰胺 A-β-D-吡喃葡萄糖苷、槭藤子苷、旱莲草皂苷 V、2-甲氧基-4-乙酰基苯基-1-O-β-D-芹菜糖基-(1"→6')-β-D-葡萄糖苷、新绿原酸、虎杖苷、4-羟基-4-[2-[3, 4, 5-三羟基-6-(羟基甲基)氧杂环己烷-2-基]氧乙基]环己烯-2, 5-二烯-1-酮、Oxynarcotine、Violutoside和忍冬苷 C(表6)。

3.9 槭藤子干预神经病理性疼痛核心药效物质的确认 通过体外提取物与血浆中原型成分的对比发现,槭藤酰胺 A-β-D-吡喃葡萄糖苷、槭藤子苷等4种成分体外含量高、体内血浆暴露良好,口服吸收与代谢稳定性佳,或为槭藤子改善神经病理性疼痛的关键药效物质;剪秋罗糖、蔗糖等多种体外高含量成分血浆检出信号显著降低,体内吸收差,易被肠道菌群与代谢酶降解。结合网络药理学构建“成分靶点-疾病基因”互作网络,槭藤子26个人血原型及代谢成分对神经病理性疼痛相关基因调控潜力较高;Jaccard系数分析显示,厚朴酚、槭藤子苷、槭藤酰胺 A-β-D-吡喃葡萄糖苷、Oxynarcotine的系数最高,与疾病靶点关联最强,是主要活性成分。分子对接结果显示,4种成分与Akt1、MAPK3等6个疼痛核心靶点形成的24组配体-受体结合能均低于-5 kcal·mol⁻¹,印证其药效作用。

综上,经体外含量、体内吸收代谢、靶点作用潜力多维度分析,槭藤酰胺 A-β-D-吡喃葡萄糖苷、槭藤子苷为槭藤子治疗神经病理性疼痛最具潜力的核心药效物质。

4 讨论

既往研究提示槭藤子具有镇痛抗炎作用,但其镇痛的化学物质基础尚不明确,本研究首先基于SNL小鼠模型验证了槭藤子在神经病理性疼痛中的干预效应,并明确了其起效的最佳时间窗口。行为学实验发现,槭藤子(25~100 mg·kg⁻¹)可剂量依赖性延长ICR小鼠的甩尾反射潜伏期,且对轮替实验无显著影响,提示其对急性或生理性热痛有效,具有中枢或周围镇痛效应且无明显的中枢不良反应^[14];进一步研究表明,15倍临床等效剂量的槭藤子提取物可显著提升SNL小鼠机械痛敏阈值和热辐射痛敏阈值,其镇痛效应与普瑞巴林相当,提示其对慢性疼痛亦有镇痛效应。为探索槭藤子发挥镇痛作用的物质基础,本研究采用UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术对15倍临床等效剂量槭藤子提



注:A.Akt1-Phaseoloidin、MAPK3-Oxynarcotine、Akt1-Magnolol、Akt1-Entadamide A-β-D-glucopyranoside对接图;B.分子对接结合能热图;Entadamide-1、Entadamide A-β-D-glucopyranoside

图1 有效成分与核心靶点的分子对接结果

Fig. 1 Molecular docking results of active ingredients with core targets

取物口服后小鼠血浆中的成分进行分析,整合正、负离子模式下的高分辨质谱信息,共鉴定出槭藤子中70种化学成分,并在给药动物血浆中检测到22种入血原型成分及29种代谢产物。在此基础上,结合网络药理学分析、靶点相似性计算及分子对接验证,筛选出对神经病理性疼痛相关靶点具有显著调控潜能的候选活性成分。综合体外含量、血浆暴露水平及疾病靶点覆盖度三方面指标,最终发现槭藤酰胺A-β-D-吡喃葡萄糖苷和槭藤子苷不仅在提取物中含量丰富,在体内保持良好暴露,同时靶点重合度较高,是槭藤子干预神经病理性疼痛的核心潜在活性成分。

值得注意的是,药物需经吸收入血并分布至靶器官方能发挥作用,因此识别入血成分对于明确中药复方的药效物质基础具有重要意义^[15-16]。考虑到健康与病理状态下药物的吸收与代谢行为可能存在显著差异^[17],本研究在建立SNL模型的基础上,选择药效最佳时段采集血浆样本,进一步提高了入

血成分分析在病理条件下的生理相关性。

尽管如剪秋罗糖、蔗糖、格列风内酯、3-羧基吡啶类、复杂皂苷及葫芦巴碱等在体外含量较高,但在血浆中浓度显著下降。这可能与理化性质相关,如分子量较大、极性较强或结构中含有不稳定的酯键,导致其吸收能力差或在胃肠道中易被水解^[18-20]。相比之下,多数入血原型成分在体内产生了较为丰富的代谢物,进一步增强了其作为药效基础成分的潜力。例如:1-O-对香豆酰基-β-D-葡萄糖苷、二氢丁香苷、槭藤子苷、獐牙菜苷及4-羟基-4-[2-[3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)氧杂环己烷-2-基]氧乙基]环己烯-2,5-二烯-1-酮分别生成了3种代谢产物;10-O-乙酰基槭子苷酸、丁香酸葡萄糖苷、槭藤酰胺A-β-D-吡喃葡萄糖苷、生姜甘油糖脂B和淫羊藿次苷D₁生成2种代谢产物;其余原型成分也均至少产生1种代谢物。这一结果提示,在槭藤酰胺A-β-D-吡喃葡萄糖苷、槭藤子苷、2-甲氧基-4-乙酰基苯基-1-O-β-D-芹菜糖基-(1"→6')-β-D-葡萄糖苷和

表6 槭藤子中含量最高的10个的化学成分与相应入血成分的峰面积

Table 6 Peak area of top 10 most abundant components in *Entada phaseoloides* in vitro and their corresponding absorbed components in vivo

成分	峰面积(提取物)	峰面积(血浆)
1	136449057	3014168
2	123096296	5422255
3	39156226	0
4	27397983	0
5	17677586	647769
6	12991582	0
7	11121506	19902
8	10008488	70986
9	6825310	151946
10	6391633	0

注:1.槭藤子苷;2.槭藤酰胺 $A\text{-}\beta\text{-D}$ -吡喃葡萄糖苷;3.Lychnose; 4.Sucrose; 5.2-methoxy-4-acetylphenyl-1- $O\text{-}\beta\text{-D}$ -apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6')- $\beta\text{-D}$ -glucopyranoside; 6.Griffonilide; 7.Chaihuxinoside b; 8.3- $O\text{-}\beta\text{-D}$ -galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta\text{-D}$ -glucuronopyranosyl-gypsogenin-28- $O\text{-}\beta\text{-D}$ -xylopyranosyl (1 $\rightarrow$ 4) - [$\beta\text{-D}$ -6- O -acetylglucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 3)] - $\alpha\text{-L}$ -rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2) - $\beta\text{-D}$ -fucopyranoside; 9. Violutoside; 10.Trigonelline

Violutoside 4种高暴露成分之外,上述代谢活跃的原型成分亦应被视为槭藤子干预神经病理性疼痛的重要候选药效物质,值得进一步深入研究。

基于网络药理学进一步分析槭藤子26个入血成分及其代谢产物的作用潜力,构建“成分靶点-疾病基因”相互作用网络,发现其靶点与神经病理性疼痛相关基因之间存在较强的互作关系。通过Jaccard相似性系数评估靶点与疾病基因的重合程度,进一步筛选出厚朴酚、槭藤子苷、槭藤酰胺 $A\text{-}\beta\text{-D}$ -吡喃葡萄糖苷和 Oxynarcotine 等成分与神经病理性疼痛相关靶点相似性最高。实验进一步对核心靶点集的 TOP6 靶标 (Akt1、MAPK3、ERK2、HSP90AA1、TNF 及 STAT3) 与上述4种成分进行分子对接验证,结果显示24对配体-受体组合的结合能均小于 $-5\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$,表明其具有良好的结合稳定性,进一步支持其在缓解神经病理性疼痛中的潜在药效作用。此外,课题组前期研究还表明,槭藤子可通过瞬时受体电位阳离子通道亚家族A成员1 (TRPA1) 脱敏和抑制 MAPK、Janus 激酶 (JAK)/STAT3 通路缓解过敏性接触性皮炎的瘙痒与炎症^[7],而 TRP 相关通道和周围敏化密切相关;同时, AKT1、MAPK3 等核心靶标参与下行疼痛调制与内

源性阿片系统的调控^[21-23]。结合本研究药效学结果及甩尾实验表现,进一步提示槭藤子有潜在的周围和中枢镇痛效应。

目前关于槭藤子入血成分的系统研究仍较为有限,既往多集中于其总皂苷、水提或醇提部位的整体药效评价^[24],对其关键成分的体内行为和作用机制缺乏深入阐释。本研究通过高分辨质谱技术系统分析槭藤子体内原型及代谢成分谱,结合网络药理学手段及分子对接明确其可能靶点与通路,为后续开展作用机制研究、靶点验证及多成分联合作用研究提供了坚实基础。

此外,本研究仅在血清水平开展了成分检测与分析,而神经病理性疼痛的主要病理靶区集中于中枢神经系统,尤其是脊髓背角及相关脑区^[25]。由于血脑屏障的存在,部分入血成分是否能够进一步进入脑脊液或脑组织并发挥药效,尚缺乏直接证据^[26]。因此,未来研究将聚焦于脑脊液及关键脑区组织,对槭藤子入脑成分进行系统鉴定,以明确哪些成分能够透过血脑屏障并直接作用于中枢神经系统。从而更加全面深入地揭示槭藤子治疗神经病理性疼痛的物质基础,为新型镇痛药物的研发提供坚实的理论与实验支持。

综上,本研究通过体外-体内成分对比分析、网络药理学联合 Jaccard 相似性评估及分子对接验证,发现槭藤酰胺 $A\text{-}\beta\text{-D}$ -吡喃葡萄糖苷和槭藤子苷不仅在提取物中含量丰富,在体内表现出良好的原型暴露特征,同时与神经病理性疼痛相关疾病基因具有较强的结合作用,是具有代表性的潜在关键活性成分。本研究从化学成分、入血行为到作用靶点三方面全面解析了槭藤子干预神经病理性疼痛的物质基础,相关结果为其药效机制研究及新药研发提供了坚实的理论和实验基础。

[利益冲突] 林娜本刊编委,本文遵循期刊标准流程处理,其同行评审工作独立于编委会成员及其研究团队之外,本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:580.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Volume I) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020:580.
- [2] 张庆云,戴璐, YEOK F S, 等. 马来西亚部分豆科植物的花粉形态及其研究意义[J]. 生态学杂志, 2022, 41 (4): 693-702.
ZHANG Q Y, DAI L, YEOK F S, et al. Pollen morphological

- investigation on some *Leguminosae* species from Malaysia and its research significance[J]. *Chin J Ecol*, 2022, 41(4): 693-702.
- [3] 高梅,张婷婷,曲蒙蒙,等. 榼藤子的现代研究进展及质量标志物预测分析[J]. *中国现代中药*, 2023, 25(5): 1125-1134.
- GAO M, ZHANG T T, QU M M, et al. Modern study of *Entada phaseoloides* (Linn.) Merr. and predictive analysis on Q-markers[J]. *Mod Chin Med*, 2023, 25(5): 1125-1134.
- [4] 赵应红,林艳芳,赵远. 傣药榼藤子仁及榼藤子总皂苷的镇痛作用研究[J]. *中国民族医药杂志*, 2011, 17(2): 53-55.
- ZHAO Y H, LIN Y F, ZHAO Y. Analgesic effect of *Entada phaseoloides* seed and its total saponins from Dai medicine [J]. *J Med Pharm Chin Minor*, 2011, 17(2): 53-55.
- [5] 韦健全,罗莹,黄健,等. 榼藤的镇痛抗炎及急性毒性的实验研究[J]. *华西药理学杂志*, 2012, 27(4): 461-463.
- WEI J Q, LUO Y, HUANG J, et al. Experimental study on analgesic, anti-inflammatory effects and acute toxicity of *Entada phaseoloides* [J]. *West China J Pharm Sci*, 2012, 27(4): 461-463.
- [6] 陈可点,马兆臣,蔡冰冰,等. 基于UHPLC-Q exactive orbitrap HRMS的如意珍宝丸体内外成分分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(24): 78-84.
- CHEN K D, MA Z C, CAI B B, et al. Identification of *in vitro* and *in vivo* chemical constituents of Ruyi Zhenbaowan based on UHPLC-Q Exactive Orbitrap HRMS[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(24): 78-84.
- [7] JU Y, LUO M, YAN T, et al. TRPA1 is involved in the inhibitory effect of ke-teng-zi on allergic contact dermatitis via MAPK and JAK/STAT3 signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 307: 116182.
- [8] RAUP-KONSAVAGE W M, SEPULVEDA D E, WANG J, et al. Antinociceptive effects of cannabichromene (CBC) in mice: Insights from von Frey, tail-flick, formalin, and acetone tests[J]. *Biomedicines*, 2023, 12(1): 83.
- [9] WIDJAJA J H, SLOAN D C, HAUGER J A, et al. Customizable open-source rotating rod (rotarod) enables robust low-cost assessment of motor performance in mice[J]. *eNeuro*, 2023, 10(9): ENEURO. 123-23. 2023.
- [10] HO KIM S, MO CHUNG J. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat[J]. *Pain*, 1992, 50(3): 355-363.
- [11] ZHAO Y H, XIAO Y Q, LIN Y F, et al. Study and application of Dai medicine Ma-Ba (*Entada phaseoloides*) [J]. *J Med Pharm Chin Minor*, 2010, 16(6): 52-56.
- [12] TAN M, ZHANG C, ZENG W, et al. Determining the effective dose of esketamine for mitigating pain during propofol injection by Dixon's up-and-down method: A double-blind, prospective clinical study of drug dose response [J]. *BMC Anesthesiol*, 2022, 22(1): 368.
- [13] 杨菲,周方婷,宗瑛,等. 白脉软膏对慢性炎症性疼痛小鼠外周敏化的干预作用[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(24): 6730-6740.
- YANG F, ZHOU F T, ZONG Y, et al. Therapeutic effect of Baimai ointment on peripheral sensitization of chronic inflammatory pain in mice[J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2022, 47(24): 6730-6740.
- [14] WEI G, XIANG C, WANG H, et al. Qisheng Wan decoction alleviates the inflammation of CCI rats via TRP channels[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 338(Pt 1): 118990.
- [15] LE BARS D, GOZARIU M, CADDEN S W. Animal models of nociception[J]. *Pharmacol Rev*, 2001, 53(4): 597-652.
- [16] 马兆臣,陈奎奎,潘琦雪,等. 丹荷颗粒治疗高脂血症质量标志物发现研究[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(1): 43-49.
- MA Z C, CHEN K K, PAN Q X, et al. Study on discovery of quality markers for treatment of hyperlipidemia with Danhe granules[J]. *J Instrum Anal*, 2021, 40(1): 43-49.
- [17] LU J Z, YE D, MA B L. Constituents, pharmacokinetics, and pharmacology of Gegen-Qinlian decoction [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 668418.
- [18] LI Y, WANG Y, TAI W, et al. Challenges and solutions of pharmacokinetics for efficacy and safety of traditional Chinese medicine [J]. *Curr Drug Metab*, 2015, 16(9): 765-776.
- [19] TRUZZI F, TIBALDI C, ZHANG Y, et al. An overview on dietary polyphenols and their biopharmaceutical classification system (BCS)[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5514.
- [20] ZHAO Q, LUAN X, ZHENG M, et al. Synergistic mechanisms of constituents in herbal extracts during intestinal absorption: Focus on natural occurring nanoparticles [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(2): 128.
- [21] YANG J, LI K, HE D, et al. Toward a better understanding of metabolic and pharmacokinetic characteristics of low-solubility, low-permeability natural medicines [J]. *Drug Metab Rev*, 2020, 52(1): 19-43.
- [22] AI W, GONG J, YU L. MAP kinase activation by mu opioid receptor involves phosphatidylinositol 3-kinase but not the cAMP/PKA pathway[J]. *FEBS Lett*, 1999, 456(1): 196-200.
- [23] ZHOU L, PEI M, QI T, et al. IGF-1R promotes pain-like behavior in rats with myofascial pain syndrome via the PI3K/Akt pathway[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 29050.
- [24] DOMINGUEZ E, MAUBORGNE A, MALLET J, et al. SOCS3-mediated blockade of JAK/STAT3 signaling pathway reveals its major contribution to spinal cord neuroinflammation and mechanical allodynia after peripheral nerve injury[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(16): 5754-5766.
- [25] BARUA C C, BURAGOHAIR L, RIZAVI H, et al. Effect of seeds of *Entada phaseoloides* on chronic restraint stress in mice[J]. *J Ayurveda Integr Med*, 2020, 11(4): 464-470.
- [26] SHIMAZU R, ANADA M, MIYAGUCHI A, et al. Evaluation of blood-brain barrier permeability of polyphenols, anthocyanins, and their metabolites[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(39): 11676-11686.
- [27] KIBATHI L W, BAE S, PENZAK S R, et al. Potential influence of centrally acting herbal drugs on transporters at the blood - cerebrospinal fluid barrier and blood-brain barrier [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokin*, 2018, 43(6): 619-635.

[责任编辑 孙丛丛]