

## 基于UPLC-QTOF-MS/MS和TCMIP v2.0辨识胆南星 防治中风的质量标志物

邓小芳<sup>1,2</sup>, 陈鸿<sup>2</sup>, 王爽<sup>2</sup>, 王萍<sup>2\*</sup>, 许海玉<sup>2\*</sup>

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(UPLC-QTOF-MS/MS)及中医药整合药理学研究平台(TCMIP)v2.0, 探索胆南星防治中风的潜在质量标志物。方法: 采用UPLC-QTOF-MS/MS, 流动相0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~3 min, 0.2%~5%B; 3~5 min, 5%~8%B; 5~8 min, 8%~10%B; 8~14 min, 10%~25%B; 14~18 min, 25%~50%B; 18~20 min, 50%~70%B; 20~21 min, 70%~98%B; 21~23 min, 98%B; 23~24 min, 98%~0.2%B; 24~26 min, 0.2%B), 流速0.5 mL·min<sup>-1</sup>, 电喷雾离子源(ESI), 在正、负离子模式下分别进行扫描并采集高质量MS/MS数据; 扫描范围 $m/z$  50~1 500。利用UNIFI 1.8建立胆南星药材化学成分的本地数据库。借助高分辨质谱仪提供的化合物精确相对分子质量和二级质谱等信息, 与本地数据库匹配, 并结合文献和对照品的相应信息, 完成对胆南星化学成分的定性鉴别; 利用TCMIP v2.0收集胆南星化学成分对应的候选靶标谱和中风的疾病基因集, 进行“疾病-方剂”关联分析, 通过拓扑特征值筛选核心靶标; 利用DAVID 6.8进行核心靶标的京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 并根据质量标志物“五原则”结合文献报道对胆南星防治中风质量标志物进行预测, 得到作用于这些目标基因的核心成分, 运用Cytoscape 3.8.0绘制“药材-活性成分-目标基因-通路”网络图。应用AutoDock Vina 1.2.2对候选成分与关键靶点进行分子对接计算和验证。结果: 在正、负离子模式下初步鉴定了76个化学成分; 通过“疾病-方剂”关联分析得到胆南星防治中风的85个核心靶标, 将核心靶标导入KEGG数据库, 筛选出与中风相关通路31条, 目标基因23个, 作用于目标基因的核心成分9个; 结合质量标志物成分可测性、特征性和传递性, 预测出胆南星防治中风可能的质量标志物4个。结论: 胆南星防治中风的可能质量标志物为没食子酸、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素、胆酸, 这4个成分的作用靶点可能是雌激素受体 $\alpha$ (ESR1)。

**[关键词]** 胆南星; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(UPLC-QTOF-MS/MS); 雌激素受体 $\alpha$ (ESR1); 分子对接; 中风; 质量标志物; 网络药理学

**[中图分类号]** R22; R28; R931; O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)12-0174-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220352 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220221.1742.004.html>

**[网络出版日期]** 2022-02-22 11:44

### Analysis of Q-markers of Arisaema Cum Bile Acting on Stroke Based on UPLC-QTOF-MS/MS and TCMIP v2.0

DENG Xiao-fang<sup>1,2</sup>, CHEN Hong<sup>2</sup>, WANG Shuang<sup>2</sup>, WANG Ping<sup>2\*</sup>, XU Hai-yu<sup>2\*</sup>

(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China;

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

**[Abstract]** **Objective:** To predict the possible quality markers (Q-markers) of Arisaema Cum Bile in the prevention and treatment of stroke based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS) and Integrative Pharmacology-based Research Platform

**[收稿日期]** 2021-12-04

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81774201, 81830111)

**[第一作者]** 邓小芳, 在读硕士, 从事中药药理学研究, E-mail: 1659236115@qq.com

**[通信作者]** \* 王萍, 博士, 研究员, 从事代谢组学研究, Tel: 010-64014411, E-mail: hudielanwp@sina.com;

\* 许海玉, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药整合药理学研究, Tel: 010-64014411, E-mail: hy\_xu627@163.com

of Traditional Chinese Medicine (TCMIP) v2.0. **Method:** UPLC-QTOF-MS/MS was employed with the mobile phase of 0.1% formic acid aqueous solution (A)-0.1% formic acid acetonitrile solution (B) for gradient elution (0-3 min, 0.2%-5%B; 3-5 min, 5%-8%B; 5-8 min, 8%-10%B; 8-14 min, 10%-25%B; 14-18 min, 25%-50%B; 18-20 min, 50%-70%B; 20-21 min, 70%-98%B; 21-23 min, 98%B; 23-24 min, 98%-0.2%B; 24-26 min, 0.2%B), the flow rate of 0.5 mL·min<sup>-1</sup> and electrospray ionization (ESI). High quality MS/MS data were scanned in positive and negative ion modes with scanning range of *m/z* 50-1 500. A local database of the chemical constituents in Arisaema Cum Bile was established by UNIFI 1.8. Then the chemical constituents in Arisaema Cum Bile were characterized by matching with the local database and comparing with the reference substances and literature information. TCMIP v2.0 was used to obtain the targets corresponding to the identified components of Arisaema Cum Bile and stroke, and the "disease-formula" correlation analysis was carried out to screen the core targets by topological eigenvalues. DAVID 6.8 was used for enrichment analysis of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway of core targets. According to the "five principles" of Q-markers and combined with literature reports, the Q-markers of Arisaema Cum Bile in the prevention and treatment of stroke were predicted, and the core components acting on these target genes were obtained. Cytoscape 3.8.0 was employed to draw the network diagram of "medicinal materials-active ingredients-target genes-pathways". Finally, AutoDock Vina 1.2.2 was used to calculate and verify the molecular docking between the candidate components and the key targets. **Result:** A total of 76 chemical components was identified in positive and negative ion modes, 85 core targets were collected for Arisaema Cum Bile in the prevention and treatment of stroke. A total of 31 stroke-related pathways, 23 target genes and 9 main active components of Arisaema Cum Bile acting on these genes were screened, and then we determined 4 possible Q-markers for Arisaema Cum Bile in the prevention and treatment of stroke according to the "five principles". **Conclusion:** The possible Q-markers of Arisaema Cum Bile for stroke are gallic acid, apigenin-6, 8-di-C-glucoside, apigenin and cholic acid, and the target of these four components may be estrogen receptor alpha (ESR1).

**[Keywords]** Arisaema Cum Bile; ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS); estrogen receptor alpha (ESR1); molecular docking; stroke; quality markers (Q-markers); network pharmacology

2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)(一部)收录的胆南星有2种,一种为生天南星细粉与牛、羊或猪胆汁经发酵加工而成的发酵制品,另一种为制天南星细粉与牛、羊或猪胆汁经蒸制加工而成的混合制品<sup>[1]</sup>。脑卒中(俗称中风)是全球常见的一类脑部疾病,以高致残率、高死亡率及多后遗症为主要特征,每年高达1 000万患者受其影响<sup>[2-3]</sup>。胆南星载于《本草拾遗》,味苦、微辛,性凉,归肺、肝、脾经,功效清热化痰、息风定惊,是化痰开窍之常用药物,是临床治疗中风患者的常用处方药<sup>[4]</sup>。

周莹等<sup>[5]</sup>研究发现胆南星在治疗急性缺血性脑卒中痰热腑实证中使用频率高达72.88%。其主要基于胆南星清热化痰的功效,再配伍其他类中药,用于治疗缺血性脑卒中效果显著<sup>[6-7]</sup>。例如,星萎承气汤(胆南星、全瓜蒌、大黄、芒硝)可改善患者血液流变学、调节脑肠轴并抑制炎症反应,以达到治疗

效果<sup>[8]</sup>。马永琦等<sup>[9]</sup>以胆南星、天麻、天竺黄等共为主药对急性脑梗死患者进行治疗,结果发现其能显著改善患者神经功能缺损程度,改善血脂、血液流变学指标及脑部供血供氧。然而,胆南星治疗中风的物质基础尚不明确。同时,2020年版《中国药典》收录胆南星的质量控制体系仅有性状、显微及理化鉴别标准,难以全面反映胆南星的品质。因此,本实验拟采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(UPLC-QTOF-MS/MS)对胆南星的化学成分进行系统表征,利用中医药整合药理学研究平台(TCMIP)v2.0进行机制挖掘和质量标志物预测,再以分子对接技术对预测的成分和关键目标基因进行虚拟验证,以期为胆南星防治中风的物质基础解析和机制探索奠定基础。

## 1 材料

XS105DU型分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司),5418型离心机(德国Eppendorf公司),

ACQUITY UPLC I-Class 型超高效液相色谱仪和 Xevo G2-S QTOF 型四极杆飞行时间质谱仪(美国 Waters 公司), Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。胆南星(北京盛实中医诊所有限公司,产地四川,批号 D180903001)经中国中医科学院中药研究所何希荣主管药师鉴定为天南星科植物天南星 *Arisaema erubescens* 的干燥块茎经猪胆汁发酵的炮制品;芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、胆酸、没食子酸、芹菜素、鸟苷、尿苷对照品(北京倍特仁康生物医药科技有限公司,批号 21030288、20050822、201221027、BT443、BT2579、20050619,纯度均 $\geq 98\%$ ),水为屈臣氏蒸馏水或自制超纯水,甲醇、甲酸、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

**2.1 混合对照品溶液的制备** 取芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、胆酸、没食子酸、芹菜素、鸟苷、尿苷对照品各约 2 mg,精密称定,分别置于 2 mL 量瓶中,加 70% 甲醇制成质量浓度约  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液。分别精密量取以上母液各 0.2 mL 至 2 mL 量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,即得混合对照品溶液。

**2.2 供试品溶液的制备** 将胆南星粉碎过五号筛,精密称定 1.0 g 装入锥形瓶,加入 10 倍量 70% 甲醇,摇匀,超声 30 min(功率 200 W,频率 40 kHz)后转移至离心管中,离心(转速  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,时间 20 min,离心半径 8.5 cm),取上清液,过  $0.22 \mu\text{m}$  微孔滤膜,装入液相小瓶,置  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱备用。

### 2.3 检测条件

**2.3.1 色谱条件** ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 ( $2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ ,  $1.8 \mu\text{m}$ ),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~3 min, 0.2%~5%B; 3~5 min, 5%~8%B; 5~8 min, 8%~10%B; 8~14 min, 10%~25%B; 14~18 min, 25%~50%B; 18~20 min, 50%~70%B; 20~21 min, 70%~98%B; 21~23 min, 98%B; 23~24 min, 98%~0.2%B; 24~26 min, 0.2%B),流速  $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温  $35 \text{ }^\circ\text{C}$ ,进样量  $1 \mu\text{L}$ 。

**2.3.2 质谱条件** 数据采集选用全扫描自动模式,电喷雾离子源(ESI),正、负离子模式扫描,扫描范围  $m/z$  50~1 500,离子源温度  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ ,脱溶剂气温度  $450 \text{ }^\circ\text{C}$ ,气帘气体积流量  $900 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ ,锥孔电压 40 V,ESI 毛细管电压 2.5 kV,ESI<sup>-</sup>毛细管电压 0.5 kV。在低碰撞能量扫描下,自动 MS 碰撞能量 6 eV;在高碰撞电压(CE)扫描下,ESI<sup>+</sup>碰撞能量 30~50 eV,ESI<sup>-</sup>碰撞能量 80~100 eV。

**2.4 胆南星化学成分的定性鉴别** 按 2.3 项下条件进行 UPLC-QTOF-MS/MS 分析,记录图谱,使用 UNIFI 1.8 进行胆南星化学成分的自动识别。先通过查阅胆南星化学成分相关的文献,将化学成分的化学结构保存成 mol 格式文件,导入 UNIFI 1.8,建立胆南星数据库;应用 UNIFI 1.8 自动筛查、鉴定化合物,代替传统的人工提峰、计算分子式及分析碎片断裂情况;建立 1 个过滤筛选方法,即设定质量误差为  $-5 \sim 5 \text{ ppm}$  ( $1 \text{ ppm} = 1 \times 10^{-6}$ ,下同);通过结合碎片离子理论精确质量数、相对保留时间( $t_r$ )及相关文献对化合物进行人工识别和确认。为检测 2.3 项下条件的准确度和精密度,对混合对照品溶液连续进样 6 次检测来评价相对分子质量测量的精度,计算其  $t_r$  的相对标准偏差(RSD)。

**2.5 基于胆南星成分分析** 中药质量标志物的必备条件是“可测性”。结合 UPLC-QTOF-MS/MS、TCMIP v2.0 的初筛成分和已有文献对初筛化合物检测方法及其含量检测情况进行整理。中药质量标志物原则之一的“特有性”主要表现为 2 个层次:①能代表与反映同种药材的共有性,但却有别于其他药材的特有性成分;②能反映同一类、不同种药材的差异性成分<sup>[10]</sup>。先从胆南星有别于其他药材的特征性成分即黄酮类、胆汁酸类、脂肪酸类化合物开展研究;再从不同品种、产地的主要活性化合物含量差异进行比较以确定其质量标志物。

**2.6 基于胆南星成分传递与溯源** 制剂工艺是中药质量传递与溯源的重要环节<sup>[11]</sup>。基于中医药百科全书数据库(ETCM)中的方剂数据库,以“胆南星”为关键词进行搜索,得到 113 首与胆南星相关的方剂。以证候、适应证为条件,筛选出与中风相关方剂,对其制剂工艺进行归纳整理。结合 ADMETlab 2.0 数据库(<https://admetmesh.scbdd.com/>)<sup>[12]</sup>,依据化合物的相关理化性质,梳理胆南星防治中风的潜在质量标志物。

### 2.7 胆南星防治中风的有效成分挖掘

**2.7.1 化学成分和疾病潜在核心靶标预测** 将 2.4 项下初步鉴定的化合物在 PubChem 数据库中下载 mol 格式文件,上传至 TCMIP v2.0<sup>[13]</sup>,预测胆南星化学成分的候选靶标谱(相似性阈值 $\geq 0.7$ )。其次以“Stroke、Brain Injury、Cerebral Ischemia”为关键词在 TCMIP v2.0 疾病数据库中进行检索,可获得与之相关的基因集。基于目标疾病基因和中药候选靶标谱之间的互作信息,构建“疾病-中药”关联网。根据胆南星药材、成分、靶标、疾病四者之间的关联

性,挖掘胆南星治疗中风的可能有效成分及核心靶标,完成质量标志物初筛。

**2.7.2 基于核心靶标及相关疾病富集分析** 利用 DAVID 6.8 数据库对上述核心靶点进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路注释分析,明确胆南星发挥药效的关键途径<sup>[14]</sup>。

**2.8 构建“药材-活性成分-目标基因-通路”可视化网络** 明确与 KEGG 通路所含靶点对应的化学成分,根据靶点频次筛选核心活性成分,以统计学中的中位数作为选取原则,将所有靶点频次按高低排序,其靶点频次的中位数为 28 次,故选取靶点频数 > 27 次的成分作为核心活性成分,利用 Cytoscape 3.8.0 软件构建“药材-活性成分-目标基因-通路”的可视化多维网络图<sup>[15]</sup>。

**2.9 基于分子对接模拟结合关键靶标蛋白与候选质量标志物** 从 PubChem 数据库中下载小分子 sdf 格式文件,使用 Open Babel 2.3.2 软件将 sdf 文件转化为 pdbqt 文件。从 RCSB PDB 数据库获得关键蛋白晶体结构。运用 AutoDock 4.2 软件对蛋白结构进行优化,添加缺失氢原子,减去多余的水分子。根据文献报道及 PyMOL 2.5 插件 GetBox Plugin 确定蛋白分子的活性口袋。AutoDock Vina 1.2.2 和 Python 脚本进行高通量分子对接,运用 PyMOL 2.5 对小分子和蛋白结合模式进行可视化分析,并分析关键结合位点。结合能是衡量配体是否能与受体分子有效结合的重要指标,结合能越低,说明小分子和蛋白的结合效果越佳。据报道,当分子对接结合能  $< -1.2 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  ( $1 \text{ cal} \approx 4.2 \text{ J}$ ,下同)<sup>[16]</sup>时,则认为小分子与蛋白可以结合。

### 3 结果

**3.1 基于 UPLC-QTOF-MS/MS 的胆南星化学成分识别** 按 2.3 项下条件对混合对照品溶液进样分析,其在负离子模式下响应较正离子模式下好,且在负离子模式下所有对照品的精密度和准确度分别为  $< 0.96 \text{ ppm}$  和  $< 4.92 \text{ ppm}$ ,且  $\text{RSD} < 1.7\%$ ,表明 2.3 项下条件稳定可行。按该检测条件从胆南星中共鉴定和推断出 76 个化合物,其总离子流色谱图见增强出版附加材料,鉴定的成分信息见表 1。

#### 3.2 质谱裂解规律分析

**3.2.1 核苷类化合物** 峰 18 和 27 在负离子模式下的准分子离子峰分别为  $m/z$  243.061 2  $[\text{M}-\text{H}]^-$ 、 $m/z$  266.088 4  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,推断二者分子式分别为  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$  和  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$ ,以  $m/z$  243.061 2 作为母离子进行二级质谱分析,得碎片离子  $m/z$  200、110。与

对照品中尿苷母离子裂解形成的特征碎片离子一致,结合  $t_R$ ,确定该化合物为尿苷;以  $m/z$  266.088 4 作为母离子进行二级质谱分析,得碎片离子  $m/z$  150、134,与文献[17]中腺苷的离子碎片一致,推断该化合物为腺苷。峰 29 在负离子模式下的准分子离子峰为 282.083 5  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,推断其分子式  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_5$ ,二级质谱分析得碎片离子  $m/z$  150、133,与对照品中鸟苷母离子裂解形成的特征碎片离子一致,结合  $t_R$ ,确定此化合物为鸟苷,其裂解途径见增强出版附加材料。

**3.2.2 有机酸类化合物** 峰 22 在负离子模式下的准分子离子峰为 169.014 1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,推断其分子式  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ,二级质谱分析得碎片离子  $m/z$  151、125,与对照品中没食子酸母离子裂解形成的特征碎片离子一致,结合  $t_R$ ,确定此化合物为没食子酸,其裂解途径见增强出版附加材料。

**3.2.3 黄酮类化合物** 峰 33 在负离子模式下的准分子离子峰为 593.167 2  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,推断其分子式为  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$ ,二级质谱分析得碎片离子  $m/z$  503、473、413、383、353。与芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷对照品母离子裂解形成的特征碎片离子一致,结合  $t_R$ ,确定此化合物为芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷,其裂解途径见增强出版附加材料。峰 52 在负离子模式下的准分子离子峰为 269.057 8  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,推断其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ ,二级质谱分析得碎片离子  $m/z$  241、227、225、201,与芹菜素对照品母离子裂解形成的特征碎片离子一致,结合  $t_R$ ,确定此化合物为芹菜素,其裂解途径见增强出版附加材料。

**3.2.4 胆汁酸类化合物的鉴定** 峰 62 在负离子模式下的准分子离子峰为 407.274 1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,推断其分子式为  $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_5$ ,二级质谱分析得碎片离子  $m/z$  389、371、363、353、345,与胆酸对照品母离子裂解形成的特征碎片离子一致,结合  $t_R$ ,确定此化合物为胆酸。

#### 3.3 基于 TCMIP v2.0 挖掘胆南星防治中风的质量标志物<sup>[18-19]</sup>

**3.3.1 化学成分候选靶标谱预测和疾病基因集筛选** 基于 TCMIP v2.0 对初步鉴定的 76 个化学成分进行靶标预测,去除重复靶标后,共得到胆南星主要化学成分候选靶标 1 075 个。基于 TCMIP v2.0 “中医药关联网络挖掘”功能模块中的“疾病-方剂”关联分析,得到核心节点共 265 个。以连接度(degree)、介度(betweenness)、紧密度(closeness)的中位数为卡值圈定核心靶标 85 个。

表1 胆南星化学成分的上PLC-QTOF-MS/MS鉴定

Table 1 Components identified from Arisaema Cum Bile by UPLC-QTOF-MS/MS

峰号	化合物	$t_R$ /min	分子式	离子碎片 $m/z$	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	检测离子
1	精氨酸	0.50	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	110.071 4、86.096 4、70.065 0	175.118 8	-4.6	[M+H] <sup>+</sup>
2	牛磺酸	0.51	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub> S	96.959 1、89.023 5	124.007 0	1.6	[M-H] <sup>-</sup>
3	缬氨酸	0.55	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	104.106 7、85.028 2	118.086 0	-2.3	[M+H] <sup>+</sup>
4	葫芦巴碱	0.58	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	162.075 9、127.038 6、116.070 1、85.028 2	138.054 7	-2.2	[M+H] <sup>+</sup>
5	苹果酸	0.70	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	124.006 5、101.022 0、96.959 1	133.013 2	-3.0	[M-H] <sup>-</sup>
6	腺嘌呤	0.81	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	163.059 8、145.049 2、85.028 2	136.061 5	-2.1	[M+H] <sup>+</sup>
7	尿嘧啶	0.85	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	121.066 0、85.029 0	113.034 2	-3.0	[M+H] <sup>+</sup>
8	柠檬酸	0.98	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	161.043 3、111.008 4、96.959 1	191.018 5	-3.1	[M-H] <sup>-</sup>
9	次黄嘌呤	0.99	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O	132.101 3、97.027 8、86.096 4	137.045 5	-2.3	[M+H] <sup>+</sup>
10	5-羟基-2-羟甲基吡啶	1.39	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	97.027 8、86.029 0	126.054 5	-3.4	[M+H] <sup>+</sup>
11	异亮氨酸	1.47	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	97.027 8、86.096 1	132.101 5	-2.9	[M+H] <sup>+</sup>
12	黄嘌呤	1.68	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	136.076 7、132.101 3、86.096 4	153.040 4	-1.8	[M+H] <sup>+</sup>
13	酪氨酸	1.70	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>	179.053 5、161.043 3、101.022 0	280.065 4	-3.3	[M-H] <sup>-</sup>
14	对羟基桂皮酸	2.45	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	182.081 2、165.054 4、136.075 3	151.054 4	-1.4	[M+H] <sup>+</sup>
15	acortatarin A	3.21	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub>	163.061 0、145.048 4、85.029 0	254.103 3	3.7	[M+H] <sup>+</sup>
16	苯丙氨酸	3.50	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	161.043 3、124.006 5、101.024 1	224.076 2	-4.9	[M+HCOO] <sup>-</sup>
17	2,2'-次甲基咪唑	3.61	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	166.086 0、120.080 3	149.059 4	-1.8	[M+H] <sup>+</sup>
18	尿苷 <sup>1)</sup>	2.59	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	200.013 0、110.023 2	243.061 2	-1.6	[M-H] <sup>-</sup>
19	鹅肌肽	3.68	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	240.080 1、182.081 1、164.070 3	241.129 1	-1.5	[M+H] <sup>+</sup>
20	5-甲基-2-糠基咪唑	4.42	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	195.112 7、125.070 4、98.059 7	180.101 6	-1.6	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
21	1,8-桉树脑	4.75	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	169.133 2、72.085 6	193.233 8	-1.9	[M+K] <sup>+</sup>
22	没食子酸 <sup>1)</sup>	3.18	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	151.018 1、125.023 1	169.014 1	0.6	[M-H] <sup>-</sup>
23	5-羟甲基糠醛	5.05	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	163.061 0、128.183 7、85.029 0	127.038 8	-1.6	[M+H] <sup>+</sup>
24	5-羟基-麦芽酚	5.12	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	180.958 2、163.059 8、127.038 6	143.033 6	-1.8	[M+H] <sup>+</sup>
25	色氨酸	6.05	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	188.070 4、146.059 6	305.097 1	-0.2	[M+H] <sup>+</sup>
26	乙酸糠酯	6.37	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	214.106 7、132.080 3	141.054 2	-2.8	[M+H] <sup>+</sup>
27	腺苷	3.52	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	150.064 5、134.061 5	266.088 4	-1.9	[M-H] <sup>-</sup>
28	对羟基苯甲酸	7.86	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	123.043 6、72.080 7	139.038 5	-3.2	[M+H] <sup>+</sup>
29	鸟苷 <sup>1)</sup>	3.61	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub>	150.065 6、133.053 5	282.083 5	-1.1	[M-H] <sup>-</sup>
30	sachalicide	8.06	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	221.065 6、161.043 3、128.034 4	371.134 3	-1.2	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>
31	水仙碱	8.72	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>	236.091 6、120.080 4、86.096 2	288.123 4	1.2	[M+H] <sup>+</sup>
32	癸二酸	9.50	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	128.034 4、124.006 5、79.965 8	201.113 3	3.5	[M-H] <sup>-</sup>
33	芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷 <sup>1)</sup>	10.13	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	503.056 7、473.074 4、413.044 2、383.035 7、353.092 1	593.167 2	0.3	[M-H] <sup>-</sup>
34	芹菜素-6-C- $\alpha$ -L-阿拉伯糖-8-C- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷	10.25	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	325.070 8、295.060 3、147.043 7	565.155 2	0.1	[M+H] <sup>+</sup>
35	芹菜素-6-C- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖-8-C- $\alpha$ -L-阿拉伯糖苷	10.26	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	563.140 0、353.054 9、117.033 8	563.141 1	0.7	[M-H] <sup>-</sup>
36	胸苷	10.75	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	221.065 6、161.043 3、101.022 0、89.023 5	241.082 3	-2.8	[M-H] <sup>-</sup>
37	2-羟基己酸	11.07	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	131.000 1、113.000 0、85.000 3	131.070 1	-5.0	[M-H] <sup>-</sup>
38	甘氨酸猪胆酸	11.31	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>6</sub>	393.290 4、391.285 0、373.273 6	464.290 7	-1.1	[M-H] <sup>-</sup>
39	夏佛托苷	11.50	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	514.277 8、496.273 6、407.279 9	595.307 5	0.5	[M+H] <sup>+</sup>

续表 1

峰号	化合物	$t_R$ /min	分子式	离子碎片 $m/z$	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	检测离子
40	壬二酸	12.22	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	178.839 9、128.034 4、124.006 5	187.096 5	-2.7	[M-H] <sup>-</sup>
41	γ-杜松烯	13.11	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	123.043 6、86.096 3	227.187 0	-3.9	[M+Na] <sup>+</sup>
42	β-红没药烯	13.11	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	123.043 6、86.096 3	227.175 5	-3.9	[M+Na] <sup>+</sup>
43	牛磺胆酸	13.18	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	124.006 2、79.956 7	322.279 3	-0.1	[M-H] <sup>-</sup>
44	细辛醚	13.63	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	136.076 7、126.021 1、120.079 7、86.096 4	209.116 9	-1.6	[M+H] <sup>+</sup>
45	鹅去氧胆酸	15.06	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	124.006 4、79.956 7	391.284 8	0.7	[M-H] <sup>-</sup>
46	2-呋喃甲醇乙酸酯	15.70	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	269.044 2、128.034 4、124.006 5、79.956 8	213.169 7	-3.8	[M-H] <sup>-</sup>
47	没食子酸乙酯	15.91	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	126.002 2、124.006 5、79.956 8	197.269 6	1.8	[M-H] <sup>-</sup>
48	秋水仙碱	15.97	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>6</sub>	337.253 0、319.242 2、134.096 5	438.129 7	-3.6	[M+K] <sup>+</sup>
49	牛磺鹅去氧胆酸	16.00	C <sub>26</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>6</sub> S	128.034 4、124.006 5、106.980 2	498.290 3	1.6	[M-H] <sup>-</sup>
50	甘氨酸去氧胆酸	16.17	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>5</sub>	480.278 8、462.268 4、126.022 1	450.289 4	2.0	[M+H] <sup>+</sup>
51	甘氨酸胆酸	16.56	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>6</sub>	369.194 8、255.210 5、99.044 1	466.327 7	1.6	[M+H] <sup>+</sup>
52	芹菜素 <sup>1)</sup>	16.44	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	225.012 0、241.034 4、201.023 5、227.001 1	269.057 8	1.1	[M-H] <sup>-</sup>
53	甘氨酸胆酸	16.81	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>6</sub>	430.295 6、412.285 1、337.253 2、157.101 1	466.316 7	0.9	[M+H] <sup>+</sup>
54	牛磺脱氧胆酸	16.95	C <sub>26</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>6</sub> S	482.294 0、464.283 7、201.164 0、126.021 9	500.304 2	0.4	[M+H] <sup>+</sup>
55	牛磺猪去氧胆酸	16.96	C <sub>26</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>6</sub> S	446.291 5、124.006 5、79.956 9	498.291 2	3.4	[M-H] <sup>-</sup>
56	猪胆酸	17.02	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>	344.259 0、96.959 4、74.024 2	407.292 1	2.0	[M-H] <sup>-</sup>
57	isoamericanol A	17.41	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	383.119 8、281.043 5、221.065 6	389.123 5	-1.9	[M+CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>
58	异油酸	17.70	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	145.100 8、105.069 7、91.054 2	300.289 9	0.6	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
59	甘氨酸胆酸	17.80	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>6</sub>	406.267 1、405.263 4、109.06 5	510.332 7	-0.8	[M+HCOO] <sup>-</sup>
60	甲硫氨酸	17.88	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S	159.116 5、145.102 6、105.070 0	167.086 2	-1.3	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
61	对异丙基甲苯	18.13	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	133.101 1、119.085 5、105.069 9	135.116 8	-0.1	[M+H] <sup>+</sup>
62	胆酸 <sup>1)</sup>	18.12	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>	389.021 3、371.25 8、353.247 3、363.163 9、 345.010 0	407.274 1	-1.2	[M-H] <sup>-</sup>
63	油酸	18.44	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	131.085 4、109.101 0、105.069 8	300.290 1	1.2	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
64	甘氨酸去氧胆酸	18.70	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>5</sub>	296.295 3、284.295 1、278.284 5	450.337 6	1.1	[M+H] <sup>+</sup>
65	二十四烷酸	18.83	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	336.268 1、300.289 5、97.101 2	407.326 7	-4.7	[M+K] <sup>+</sup>
66	亚麻酸	19.16	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	280.301 0、132.101 3、84.080 8	279.232 0	0.6	[M+H] <sup>+</sup>
67	苯乙烯	19.52	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>	95.086 7、81.070 8	105.069 9	0.1	[M+H] <sup>+</sup>
68	戊基苯	19.53	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub>	147.116 6、119.085 3、105.069 8	149.132 3	-1.0	[M+H] <sup>+</sup>
69	十七烷酸	19.56	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	277.216 6、253.216 4、106.979 7	269.253 5	-1.8	[M-H] <sup>-</sup>
70	去氧胆酸	19.71	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	357.279 0、339.268 3、105.069 8	415.282 2	0.8	[M+Na] <sup>+</sup>
71	牛磺猪去氧胆酸钠	19.71	C <sub>26</sub> H <sub>46</sub> NNaO <sub>6</sub> S	345.278 9、343.263 6、327.268 4、311.236 8	522.285 6	0.5	[M-H] <sup>-</sup>
72	胆固醇	19.79	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O	373.187 4、108.044 3、96.044 5	409.342 8	-3.1	[M+Na] <sup>+</sup>
73	棕榈酸	19.79	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	311.238 0、255.234 5、152.993 4	255.253 3	-2.5	[M-H] <sup>-</sup>
74	甘氨酸去氧胆酸	20.21	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>5</sub>	416.317 4、355.264 9、184.073 8	488.293 5	1.1	[M+K] <sup>+</sup>
75	3-羟基-十六酸	21.11	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	225.221 5、100.932 7	271.227 5	-1.4	[M-H] <sup>-</sup>
76	正十八醛	21.48	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	255.232 4、199.850 2、134.893 6	267.290 2	-0.9	[M-H] <sup>-</sup>

注：<sup>1)</sup>通过对对照品比对后确认的化合物

**3.3.2 KEGG 通路注释分析** 将上述 85 个核心靶标导入 DAVID 6.8 进行 KEGG 通路富集分析,以  $P < 0.05$  为卡值,得中风相关通路 31 条。其中与炎症及免疫相关 14 条、细胞功能相关 5 条、代谢相关 5 条、

内分泌相关 7 条。

**3.3.3 胆南星治疗中风的核心成分筛选** 对核心靶点对应成分进行频次统计,选取靶点频数  $> 27$  次的成分作为核心活性成分,见增强出版附加材料。

**3.4 基于成分传递与溯源确定质量标志物** 通过TCMIP v2.0获得胆南星产生药理作用的9个有效活性成分。在ETCM中的方剂数据库,以“胆南星”为关键词进行搜索,得到113首与胆南星相关的方剂。在以证候、适应证为条件筛选出16首与中风相关方剂。对16首方剂的制剂工艺进行归纳整理,其打粉和水提目的都是为了获得药材的药效物质,将单味药材中的有效成分传递到复方中,从而发挥药效,此过程体现了药材成分的传递性,见增强出版附加材料。在ADMETlab 2.0<sup>[12]</sup>查询得到上述有关胆南星活性成分的常见理化性质及其相关参数,见表2。其中,lgS(S为化合物在水中的溶解度)代表药物的溶解度,其最佳浓度在-4~0.5 mol·L<sup>-1</sup>;lgD(D为分布系数)和lgP(P为分配系数)均代表药物的油水分分配系数,药物的最佳lgD在1~3 mol·L<sup>-1</sup>,最适lgP在0~3 mol·L<sup>-1</sup>,二者均满足,说明药物具有较好的吸收作用。中药发挥作用的基础是进入体内的成分及其代谢产物,从质量传递与溯源的角度,胆南星入血成分是质量传递体系的关键环节。但目前尚无胆南星体内成分研究的报道。由表2可知,没食子酸、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素、胆酸的油水分分配系数及其吸收效率均在最佳范围内,且吸收效率较好,可作为胆南星防治中风的质量标志物。

表2 胆南星活性成分的理化性质

Table 2 Physicochemical properties of active ingredients in Arisaema Cum Bile

成分	lgS	lgD	lgP
鸟苷	-1.292	-1.913	-2.228
腺苷	-1.081	-1.195	-2.028
尿苷	-0.446	-1.812	-1.709
没食子酸	-1.220	1.343	0.645
芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷	-1.603	1.807	1.923
芹菜素	-3.606	2.704	2.769
5-羟基-麦芽酚	-0.974	0.142	-0.158
壬二酸	-4.216	3.609	1.216
胆酸	-1.490	1.568	1.783
去氧胆酸	-4.677	3.332	3.293
猪去氧胆酸	-4.759	3.893	3.359
腺嘌呤	-2.458	-0.633	-1.686
对羟基桂皮酸	-1.363	-0.547	-0.331
胸苷	-0.395	-0.681	-1.011

**3.5 构建“药材-核心活性成分-目标基因-通路”多维网络图** 该网络图共有59个节点(1个药材、4个

活性成分、23个目标基因、31个KEGG通路)和162条边。在23个目标基因中,腺苷酸激酶1(AK1)为没食子酸、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素共有,蛋白激酶B1(Akt1)为芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷和芹菜素共有,雌激素受体α(ESR1)为没食子酸、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、芹菜素、胆酸共有。说明胆南星中的质量标志物成分可能作用于整个生物网络系统,而不是仅作用于单个目标基因。网络图见增强出版附加材料。

**3.6 关键靶标蛋白ESR1与候选质量标志物的分子对接分析** 为了进一步验证胆南星治疗中风的候选质量标志物,通过PyMOL 2.5对关键靶标蛋白ESR1(PDBID:5ACC)分别与没食子酸、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、胆酸、芹菜素4个配体小分子进行分子对接和可视化,对接结合模式见增强出版附加材料,结合能和结合位点信息见表3。

表3 胆南星中候选质量标志物与关键靶标蛋白对接的结合能及结合位点

Table 3 Docking parameters and binding sites of candidate quality markers in Arisaema Cum Bile to key target proteins

化合物	结合能 /kcal·mol <sup>-1</sup>	结合位点
没食子酸	-6.1	亮氨酸(LEU)-346、LEU-387、谷氨酸(GLU)-353、精氨酸( ARG)-394
芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷	-10.4	苏氨酸(THR)-483、丝氨酸(SER)-512、天冬酰胺(ASN)-455、ARG-515
芹菜素	-8.9	LEU-391
胆酸	-7.2	SER-512、ARG-515、ASN-455

## 4 讨论

目前,液质联用技术已被广泛应用于中药活性成分的定性和定量分析<sup>[20-21]</sup>。网络药理学是融合了系统生物学、药理学和分子网络等多学科的新技术,为多靶点药物的治疗提供了一种理想的模式,近年来已成功应用于中药或方剂中有效成分的预测<sup>[22-23]</sup>。分子对接则可以探索药物小分子与大分子受体的具体作用方式和结合构型,可筛选出与靶点结合的先导药物,解释药物分子产生活性的原因,指导合理地优化药物分子结构。中药的作用特点是多成分、多靶点、多途径,单一成分不能反映中药的实际疗效。胆南星是治疗中风的常用中药之一,但尚无适宜的质量控制标准来保证胆南星的治疗效果。因此,本文采用UPLC-QTOF-MS/MS、网络药理学及分子对接技术等相结合的方法对胆南星治疗中风的潜在质量标志性成分进行解析。结果

发现胆南星治疗中风体现了中医整体性的特点,但鉴于中药的作用特点,后续将对其药效成分群和候选靶标开展进一步的体内外实验验证与临床转化研究。

现代药理研究表明,没食子酸对BALB/c小鼠脑卒中后抑郁具有治疗作用,能减少脑卒中后抑郁症状和氧化应激<sup>[24]</sup>。缺血性脑卒中由于脑组织葡萄糖和氧供应不足而导致神经元损伤,有研究表明芹菜素可通过影响核转录因子-E<sub>2</sub>相关因子2(Nrf2)、p53基因的表达及其下游靶基因的转录,减轻氧糖剥夺/复糖复氧诱导的神经元损伤;同时,芹菜素已被证明具有抗氧化、抗炎、抗癌和神经保护等作用<sup>[25]</sup>。炎症是中风病理特征之一,而芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷在多种炎症细胞和动物模型中发挥着抗炎作用。体外研究发现,芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷对脂多糖(LPS)诱导人单核细胞白血病细胞(THP-1)和原代单核细胞炎症具有抑制作用,对其分泌的白细胞介素(IL)-18、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 等促炎细胞因子具有下调作用<sup>[26]</sup>。胆酸已被报道能够扩散到磷脂双分子层,并进一步跨越血脑屏障。据报道,在体外氧糖剥夺/复氧损伤下,胆酸通过增加脑源性神经营养因子(BDNF)的释放,进一步刺激BDNF-酪氨酸蛋白激酶B(TrkB)-磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)和BDNF-TrkB-丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶(MAPK/ERK)信号通路对神经血管单位有多种保护作用<sup>[27]</sup>,综上所述,从胆南星中筛选的核心活性成分主要有抗炎、抗氧化、氧化应激、神经保护等作用;同时,胆南星治疗中风并不是单一成分发挥作用,而是多组分共同发挥疗效。

在“药材-核心活性成分-目标基因-通路”多维网络图的23个目标基因中,AK1、Akt1、ESR1与4个活性成分(没食子酸、芹菜素-6,8-二-C-葡萄糖苷、胆酸、芹菜素)之间都存在一定关联性,且都与中风相关<sup>[28-30]</sup>。其中ESR1为4个成分共有关键靶标蛋白。其分子对接结果显示,上述4个成分通过氢键等作用与ESR1蛋白相互作用,具有较好的结合性能,推测ESR1是胆南星治疗中风的核心靶点。KEGG通路富集分析表明,胆南星通过多条信号通路参与中风的治理过程。如柠檬酸循环是碳水化合物、脂肪和氨基酸的共同氧化途径,是线粒体能量代谢最基本的过程<sup>[31]</sup>。据报道,当发生缺血性脑卒中时,葡萄糖释放减少,引起线粒体功能缺乏,导致脑组织中三磷酸腺苷(ATP)的产生减少,从而导

致神经元死亡和不可逆脑损伤<sup>[32]</sup>。TNF信号的干扰会导致微血管张力和全身血液动力学的变化<sup>[33]</sup>。当发生缺血性脑卒中时,TNF水平明显升高,其在缺血性脑卒中的发病机制中发挥重要作用<sup>[34]</sup>。小胶质细胞活化在缺血性脑卒中后神经炎症中起重要作用,活化的小胶质细胞可以迁移到损伤部位,增殖和释放物质,导致继发性脑损伤,而小胶质细胞迁移与MAPK信号通路的激活有关<sup>[35]</sup>;PI3K/Akt信号通路激活参与了脑缺血的病理过程,其能调控能量产生、清除氧自由基、抑制细胞凋亡、保护神经元,在对抗脑缺血损伤中发挥着重要作用<sup>[36]</sup>。

[利益冲突] 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,2020:273.
- [2] BENJAMIN E J, MUNTNER P, ALONSO A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: A report from the American Heart Association [J]. Circulation, 2019, 139(10): e56-e528.
- [3] FEIGIN V L, KRISHNAMURTHI R V, PARMAR P, et al. Update on the global burden of ischemic and hemorrhagic stroke in 1990-2013: The GBD 2013 study [J]. Neuroepidemiology, 2015, 45(3): 161-176.
- [4] 周义杰,胡启洋,王昭凤. 解语丹方药分析及临床运用[J]. 中医研究, 2019, 32(2): 8-10.
- [5] 周莹,孟繁兴,周彦吉,等. 基于数据挖掘分析急性缺血性脑卒中痰热腑实证的用药规律[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(21): 1635-1642.
- [6] 魏天谊,姜惟. 缺血性脑卒中的中医治法[J]. 吉林中医药, 2014, 34(2): 130-131, 156.
- [7] 彭俊亮,祝美珍. 中医药治疗缺血性脑中风的概况[J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(6): 145-147.
- [8] 王爽,吴丹,张敬博,等. 星萎承气汤治疗中风痰热腑实证的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(10): 213-221.
- [9] 马永琦,淡增刚. 益气豁痰化瘀法治疗急性脑梗死48例[J]. 陕西中医, 2011, 32(6): 679-681.
- [10] 张铁军,白钢,刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法[J]. 药科学, 2019, 54(2): 186-196.
- [11] 张铁军,白钢,陈常青,等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物(Q-marker)研究路径[J]. 中草药, 2018, 49(1): 1-13.
- [12] XIONG G L, WU Z X, YI J C, et al. ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties [J].

- Nucleic Acids Res, 2021, 49(W1): W5-W14.
- [13] 许海玉,刘振明,付岩,等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3633-3638.
- [14] 彭诚艺,曾逸佳,熊海均,等. 基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS和网络药理学分析桑姜感冒注射液治疗普通感冒的物质基础及作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(14): 155-163.
- [15] 吴丹,陈鸿,江红,等. 基于UPLC-QTOF-MS/MS和TCMIP的续断治疗类风湿性关节炎活性成分筛选及作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(16): 131-140.
- [16] TROTT O, OISON A J. AutoDockVina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading[J]. J Comput Chem, 2010, 31(2): 455-461.
- [17] 刘颖,卢建秋,张加余,等. 苦碟子药材及其注射液中化学成分的HPLC-ESI-MS<sup>n</sup>分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(16): 2675-2681.
- [18] 蔡宇忆. 胆南星的质量标准提高研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2016.
- [19] 杨丹,冯瑞红,关树光,等. 天南星中两个多不饱和脂肪酸的含量测定[J]. 长春工业大学学报: 自然科学版, 2010, 31(1): 74-80.
- [20] 严雅慧,吴涛,陈菊,等. 乃孜来颗粒中化学成分的UHPLC-Q-Orbitrap-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(21): 156-166.
- [21] 王月,刘晓谦,梁曜华,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的甘青乌头抗乙酰胆碱酯酶活性成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(20): 130-137.
- [22] 陈丽华,肖发林,黄诗雨,等. 中药质量评价研究思路及创新发展趋势[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2541-2547.
- [23] XIANG W, SUO T C, YU H, et al. A new strategy for choosing "Q-markers" via network pharmacology, application to the quality control of a Chinese medical preparation [J]. J Food Drug Anal, 2018, 26 (2) : 858-868.
- [24] NABAVI S F, HABTEMARIAM S, DILORENZO A, et al. Post-stroke depression modulation and *in vivo* antioxidant activity of gallic acid and its synthetic derivatives in a murine model system [J]. Nutrients, 2016, 8(5): 248.
- [25] GUO H Z, KONG S Z, CHEN W M, et al. Apigenin mediated protection of OGD-evoked neuron-like injury in differentiated PC12 cells [J]. Neurochem Res, 2014, 39(11): 2197-2210.
- [26] HASSAN N, ALI A, WITHYCOMBE C, et al. TET-2 up-regulation is associated with the anti-inflammatory action of vicenin-2 [J]. Cytokine, 2018, 108: 37-42.
- [27] LI C, WANG X, YAN J, et al. Cholic acid protects *in vitro* neurovascular units against oxygen and glucose deprivation-induced injury through the BDNF-TRKB signaling pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 1201624.
- [28] XIE R, CHENG M, LI M, et al. Akt isoforms differentially protect against stroke-induced neuronal injury by regulating mTOR activities [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2013, 33(12): 1875-1885.
- [29] SHE D T, WONG L J, BAIK S H, et al. SIRT2 inhibition confers neuroprotection by downregulation of FOXO3a and MAPK signaling pathways in ischemic stroke [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55 (12) : 9188-9203.
- [30] 张燕,谢汝萍,王国英,等. 雌激素受体基因多态性与脑梗死的相关性研究[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(21): 6-9.
- [31] AKRAM M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism [J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 68(3): 475-478.
- [32] MCEWEN B S, REAGAN L P. Glucose transporter expression in the central nervous system: relationship to synaptic function [J]. Eur J Pharmacol, 2004, 490(1/3): 13-24.
- [33] 裴丽珊,沈霞,颜永刚,等. 基于血管内皮生长因子信号通路/肿瘤坏死因子信号通路的桃核承气汤防治脑卒中双向调节分子网络机制[J]. 药学学报, 2020, 55(5): 898-906.
- [34] WU J C, ZHANG X, WANG J H, et al. Gene polymorphisms and circulating levels of the TNF-alpha are associated with ischemic stroke: A Meta-analysis based on 19, 873 individuals [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 75: 105827.
- [35] HU H, LI Z, ZHU X, et al. Gualou Guizhi decoction inhibits LPS-induced microglial cell motility through the MAPK signaling pathway [J]. Int J Mol Med, 2013, 32(6): 1281-1286.
- [36] ZHOU Z Y, DUN L L, WEI B X, et al. Musk ketone induces neural stem cell proliferation and differentiation in cerebral ischemia via activation of the PI3K/Akt signaling pathway [J]. Neuroscience, 2020, 435: 1-9.

[责任编辑 刘德文]