

## 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

吴丹<sup>1</sup>, 陈鸿<sup>1,2</sup>, 江红<sup>1</sup>, 张美琴<sup>1</sup>, 时晨晶<sup>1</sup>, 焦园园<sup>1</sup>, 王萍<sup>1\*</sup>, 许海玉<sup>1,3\*</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

2. 沈阳药科大学, 沈阳 110000; 3. 陕西国际商贸学院, 西安 712046)

**【摘要】** 目的: 依托超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(UPLC-QTOF-MS/MS)和中医药整合药理学研究平台(TCMIP), 探讨续断治疗类风湿性关节炎(RA)的主要活性成分和作用机制。方法: 采用UPLC-QTOF-MS/MS, 分别在正、负离子扫描模式下对续断醇提液中的化学成分进行定性分析, 流动相0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~10 min, 0.2%~20%B; 10~20 min, 20%~40%B; 20~25 min, 40%~50%B; 25~33 min, 50%~98%B; 33~35 min, 98%~0.2%B), 电喷雾电离源(ESI), 扫描范围 $m/z$  50~2 000; 基于TCMIP, 分别获取续断、肝肾阴虚证和RA的候选靶标群, 进行“病-证-方”关联分析, 富集得到主要药效成分及关键作用靶标, 进一步进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络及生物功能富集分析。结果: 在正、负离子模式下共鉴定了续断醇提液中81个化学成分; 利用TCMIP收集到这些化学成分对应的283个候选靶标, RA对应的7个疾病基因, 以及肝肾阴虚证相关的215个基因。经“病-证-方”关联分析及网络拓扑特征值计算等方式最终确定了17个关键活性成分, 主要为续断皂苷类、脂肪酸类成分; 其主要涉及7个核心靶标, 即肿瘤坏死因子(TNF), 核转录因子- $\kappa$ B亚单位1(NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>), 肝细胞核因子4 $\alpha$ (HNF4A), 核受体亚家族3C组成员1(NR3C1), 过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (PPARG), 核受体亚家族1H组成员4(NR1H4)和核受体辅激活因子1(NCOA1), 均与炎症相关, 其中还有2个与胆汁酸途径相关; 涉及的RA相关通路主要为PPAR $\alpha$ 激活基因表达等炎症通路, 以及胆汁酸合成和代谢相关通路。结论: 液质联用技术联合中医药大数据平台初步阐明了续断多成分对多条炎症通路和胆汁酸相关通路的调控作用, 为续断治疗RA作用机制的深入阐释奠定了基础。

**【关键词】** 续断; 整合药理学; 类风湿性关节炎; 化学成分; 作用机制; 炎症; 胆汁酸

**【中图分类号】** R22; R857.3; R28; O657 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2021)16-0131-10

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211049 **【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.20210220.1401.001.html>

**【网络出版日期】** 2021-02-20 14:13

### Screening of Active Components and Analysis of Mechanism of Dipsaci Radix in Treating Rheumatoid Arthritis Based on UPLC-QTOF-MS/MS and TCMIP

WU Dan<sup>1</sup>, CHEN Hong<sup>1,2</sup>, JIANG Hong<sup>1</sup>, ZHANG Mei-qin<sup>1</sup>, SHI Chen-jing<sup>1</sup>,  
JIAO Yuan-yuan<sup>1</sup>, WANG Ping<sup>1\*</sup>, XU Hai-yu<sup>1,3\*</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110000, China;  
3. Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, Xi'an 712046, China)

**【Abstract】 Objective:** To explore active components and mechanism of Dipsaci Radix in treating rheumatoid arthritis (RA) based on ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-

**【收稿日期】** 20201127(009)

**【基金项目】** 国家重点研发计划项目(2017YFC1702303, 2017YFC1702104); 国家自然科学基金项目(81830111, 81774201); 国家“重大新药创制”科技重大专项(2019ZX09201005-001-003); 陕西省高校青年创新团队和陕西省科技厅项目(2016SF-378)

**【第一作者】** 吴丹, 在读硕士, 从事中药药理学研究, Tel: 010-64014411, E-mail: 3313665656@qq.com

**【通信作者】** \*王萍, 博士, 研究员, 从事代谢组学研究, 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: hyxu@icmm.ac.cn

flight tandem mass spectrometry (UPLC-QTOF-MS/MS) and Integrative Pharmacology-based Research Platform of Traditional Chinese Medicine (TCMIP). **Method:** UPLC-QTOF-MS/MS with electrospray ionization (ESI) was used to qualitatively analyze the chemical components in methanol extract of *Dipsaci Radix* under positive and negative ion scanning modes. The mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution (A)-acetonitrile (B) for gradient elution (0-10 min, 0.2%-20%B; 10-20 min, 20%-40%B; 20-25 min, 40%-50%B; 25-33 min, 50%-98%B; 33-35 min, 98%-0.2%B), and the scanning range was  $m/z$  50-2 000. Based on TCMIP, candidate target groups of *Dipsaci Radix*, RA and syndrome with Yin deficiency of liver and kidney were obtained, and correlation analysis on "disease-syndrome-prescription" was used to enrich the main active components and key targets. Cytoscape 3.8.0 and STRING 11.0 database were used to construct protein-protein interaction (PPI) network diagram. Metascape platform was used to analysis gene ontology biological progress and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signaling pathways. **Result:** A total of 81 ingredients were identified by UPLC-QTOF-MS/MS. Based on TCMIP, 283 candidate targets corresponding to 81 ingredients, 7 RA related targets and 215 genes corresponding to syndrome with Yin deficiency of liver and kidney were collected. With further correlation analysis on "disease-syndrome-prescription", 17 key active ingredients were predicted, mainly including saponins and fatty acids of *Dipsaci Radix*. It mainly involved 7 hub targets, namely tumor necrosis factor (TNF), nuclear factor- $\kappa$ B subunit 1 (NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>), hepatocyte nuclear factor 4 alpha (HNF4A), nuclear receptor subfamily 3 group C member 1 (NR3C1), peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARG), nuclear receptor subfamily 1 group H member 4 (NR1H4) and nuclear receptor coactivator 1 (NCOA1). All of them were related to inflammation, and two of them were related to bile acid pathway. The 7 hub targets and 7 pathways played an important role in RA were screen out, including 4 bile acid related pathways and 3 inflammatory related pathways. **Conclusion:** UPLC-QTOF-MS/MS combined with TCMIP preliminarily elucidates the regulatory effect of multi-components in *Dipsaci Radix* on several pathways related to the inflammatory response and bile acid synthesis and metabolism, which lays a foundation for further study on the mechanism of *Dipsaci Radix* against RA.

**[Keywords]** *Dipsaci Radix*; integrative pharmacology; rheumatoid arthritis; chemical components; mechanism; inflammation; bile acid

类风湿性关节炎(RA)是一种主要侵犯关节,并可累及全身脏器的慢性、自身性免疫疾病,发病率高、病程反复且难以治愈<sup>[1]</sup>。RA的病理关键和治疗难点在于滑膜血管翳增生,以及软骨和骨质的破坏。目前临床上常应用非甾体抗炎药、糖皮质激素等进行治疗,但这些药物主要发挥抗炎镇痛作用,无法改善RA造成的关节破坏,且长期应用容易产生不良反应<sup>[2]</sup>。

中医药治疗RA已有2 000多年历史,“整体观念、辨证论治”的理念使其在治疗RA上具有独特的优势。在中医学上,RA属于“痹证”范畴,病因病机较为复杂,主要包括正虚、邪侵(风、寒、湿、热)和痰瘀<sup>[3]</sup>。由于病因、病程及患者自身体质的不同,RA常展现出不同的证候。国家中医药管理局发布的《中医病证诊断疗效标准》将RA分为六型,即风湿痹阻证,寒湿痹阻证,湿热痹阻证(初期、活动期),痰瘀痹阻证(中后期),气血两虚证和肝肾阴虚证

(晚期)<sup>[4]</sup>。不同的临床证型需要应用不同的治疗方法,其中RA晚期由于长期病变造成肝肾阴虚进而引起的关节损伤最难治愈。

续断为川续断科植物川续断*Dipsacus asper*的干燥根,归肝、肾经,具有祛风湿、强筋骨、补肝肾、续折伤等功效,可用于肝肾不足、风湿痹痛、腰膝酸软、筋伤骨折等证。与其他药味配伍,续断已被广泛用于治疗RA和骨关节炎相关疾病<sup>[5-9]</sup>。但尚无相关文献对续断治疗RA的作用机制进行网络药理学研究,多是对其配伍药对或方剂的研究。因此,本研究拟利用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(UPLC-QTOF-MS/MS)明确续断的成分组成,并基于中医药整合药理学研究平台(TCMIP)v2.0对续断治疗RA晚期肝肾阴虚证的主要药效成分和作用机制进行分析,识别其可能的药效成分群及作用靶点、通路,旨在为深入研究续断抗RA的机制及其临床用药提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 续断化学成分及候选靶标的收集

**1.1.1 供试品溶液的制备** 利用CPA225D型电子天平(德国赛多利斯公司)精密称取续断饮片(辽宁上药好护士药业有限公司提供,中国中医科学院中药研究所许海玉研究员鉴定,符合2020年版《中华人民共和国药典》的相关要求)1.0 g,加入75%甲醇20 mL,超声提取30 min(功率250 W,频率45 kHz),静置至室温,取上清液少许置于1.5 mL离心管中,用H1850R型离心机(湖南湘仪,离心半径8 cm)于12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清,经0.22 μm微孔滤膜过滤,得供试品溶液。

**1.1.2 UPLC-QTOF-MS/MS分析** 采用ACQUITY UPLC I-Class型超高效液相色谱仪联用Xevo G2-S Q-TOF型高分辨质谱仪(美国Waters公司),联合UNIFI数据库,分别在正、负离子模式下对续断醇提液中化学成分进行定性分析。色谱条件为ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),流动相0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~10 min, 0.2%~20%B; 10~20 min, 20%~40%B; 20~25 min, 40%~50%B; 25~33 min, 50%~98%B; 33~35 min, 98%~0.2%B),流速0.5 mL·min<sup>-1</sup>,柱温40 °C,进样量2.0 μL。质谱条件为电喷雾电离源(ESI),正、负离子模式扫描。负离子模式扫描时,离子源碰撞电压-2.2 kV,离子源温度100 °C,脱溶剂气温度400 °C,样品锥孔电压30 kV,萃取锥孔电压4 kV,低碰撞能量15 eV,高碰撞能量45 eV,锥孔气流速20 L·h<sup>-1</sup>,溶媒挥发流速800 L·h<sup>-1</sup>;正离子模式扫描时,离子源碰撞电压3.0 kV,其余参数同负离子模式。采用MassLynx 4.1软件进行数据采集和图谱处理,质荷比扫描范围m/z 50~2 000。

**1.1.3 候选靶标群获取** 利用TCMIP v2.0<sup>[10]</sup>,以收集到的续断化学成分名称为关键词进行检索,在结果中选取相似性分数≥0.8的靶标作为候选靶标,导出去重后,即得续断的候选靶标群。

**1.2 证候靶标来源** 基于TCMIP v2.0的证候相关分子挖掘及功能分析模块,根据RA晚期肝肾阴虚证的临床表型合集,以临床表现的英文词条为检索词,建立RA肝肾阴虚证的相关基因集,保存到本地,用于后期分析。见表1。

**1.3 疾病靶标来源** 依托TCMIP v2.0的疾病相关分子集及其功能挖掘模块,以“Rheumatoid Arthritis”为关键词进行检索,获取RA的候选靶标群。该模块系统整合了在线人类孟德尔遗传数据

表1 RA肝肾阴虚证相关证候的检索词

Table 1 Search words of related syndromes of Yin deficiency of liver and kidney in RA

临床表现	英文词条
关节肿胀	joint swelling
关节变形	abnormal joint morphology
肌肉疼痛	myalgia
屈伸不利	limited elbow movement, limited shoulder movement, limited wrist movement, limited of movement at ankles
腰膝酸软	low back pain, abnormality of the knee
头晕	jerky head movement
耳鸣	tinnitus
失眠	insomnia
盗汗	night sweats
舌红少苔	tongue telangiectasia

库(OMIM),人类表型本体(HPO)数据库,治疗靶标数据库(TTD),京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库等的信息资源<sup>[10]</sup>,比较全面地收集了多种疾病的已知治疗靶点。

**1.4 “病-证-方”关网络分析** 基于TCMIP v2.0的中医药关网络挖掘模块,选择“疾病-证候-方剂”功能,分别上传前期得到的续断、肝肾阴虚证和RA的候选靶标群,提交后即可进行网络构建、分析和可视化。通过计算网络节点的连接度(degree),介度(betweenness)和紧密度(closeness),首先以连接度的2倍中位数为卡值筛选得到网络中的核心节点;在此基础上,以连接度、紧密度、介度的中位数为卡值,选取同时满足这3个卡值的核心节点作为网络的核心靶标<sup>[10]</sup>。将筛选到的核心靶标与化学成分进行对应,根据成分所对应的核心靶标数量多少进行排序,筛选得到核心成分。对核心靶点进行Reactome通路富集分析,筛选其中与RA相关的通路作为核心通路。基于前面得到的核心成分、核心靶点和核心通路,运用Cytoscape 3.8.0软件构建“药材-成分-靶点-通路”网络图,并进行可视化。

**1.5 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析** 将续断治疗RA的核心靶点上传至STRING 11.0进行PPI网络分析,将互作信息的TSV文本导入Cytoscape 3.8.0进行网络构建和拓扑学分析,统计PPI网络中各靶点的连接度和介度。PPI网络中的节点代表靶点,边代表相互作用关系。节点的颜色越深,形状越大,其度值就越大,说明该靶点与其他靶点关联度越高,越可能是关键作用靶点。

**1.6 基因功能富集分析** 基于基因本体(GO)数据

库提取核心靶标基因的分子功能(MF),富集到的细胞组分(CC)及其所参与的生物学过程(BP),并进行富集计算。以 $P < 0.05$ 为筛选条件,根据 $P$ 将排名前10的GO条目展示在结果中<sup>[11]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 续断成分的UPLC-QTOF-MS/MS分析 获取

续断醇提液在正、负离子扫描模式下的基峰离子流图。通过UNIFI数据库识别和人工确认,对续断醇提液进行定性分析,最终共解析得到正离子模式下化学成分74个和负离子模式下化学成分49个,见表2,3;二者共有成分42个,主要为三萜皂苷类、环烯醚萜及其苷类、脂肪酸类及少量生物碱类成分。

表2 续断醇提液在正离子模式下的化学成分UPLC-QTOF-MS/MS鉴定

Table 2 Components identified from methanol extract of Dipsaci Radix by UPLC-QTOF-MS/MS under positive ion mode

峰号	$t_R$ /min	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	响应值	加和离子	分子式	化合物	碎片离子
1	0.82	365.105 6	0.3	62 926	+Na, +H, +NH <sub>4</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	蔗糖	325.112 8, 203.052 2, 169.067 8
2	0.88	150.090 9	-2.8	228 204	+NH <sub>4</sub>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	肉桂醛	102.053 9, 90.045 1
3	0.88	150.090 9	-2.8	228 204	+H	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO	venoterpine	132.080 0, 117.056 4
4	2.37	95.048 5	-6.7	2 192	+H	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	苯酚	77.037 8, 72.937 1, 65.038 6
5	4.80	208.096 8	-0.1	559 577	+H	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	cantleyine	190.085 9, 176.069 4, 158.059 4
6	5.13	165.090 0	-5.9	3 133	+H	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	丁香酚	135.079 2, 97.968 1, 96.960 2
7	6.18	629.281 6	1.9	804	+H	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>14</sub>	laciniatoside V	215.091 3, 179.070 0, 109.064 0
8	6.19	123.081 0	-4.6	4 871	+H	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	2,4-二甲基苯酚	109.064 1, 105.069 1, 91.053 4
9	6.19	167.069 9	-2.0	2 059	+H	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	丹皮酚	151.074 9, 137.059 0, 109.064 0
10	6.19	394.170 9	0.4	77 532	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	demethylsecologanol	341.123 1, 215.091 3, 179.070 0
11	6.19	109.064 1	-6.0	9 718	+H	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	邻甲酚	91.053 4, 79.053 5, 77.037 9
12	6.77	355.102 7	1.1	271 097	+H, +Na	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	绿原酸	163.038 8, 145.027 9, 215.052 1
13	6.79	353.086 4	6.0	5 875	+Na	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	dipsaicin	163.038 8, 89.037 8, 117.032 8
14	7.17	181.049 0	-2.9	7 301	+H	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	咖啡酸	163.038 5, 145.027 9, 135.043 5
15	7.47	240.123 1	0.4	5 180	+NH <sub>4</sub> , +H	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	邻苯二甲酸二乙酯	136.061 3, 148.061 4, 137.059 7
16	7.55	176.070 2	-2.1	35 616	+H	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	秦艽碱甲	146.059 3, 118.064 0, 117.056 4
17	7.93	127.038 6	-2.9	77 947	+H	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	5-羟甲基糠醛	97.027 7, 69.032 7
18	7.93	99.043 3	-7.9	1 154	+H	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	糠醇	69.032 7, 81.032 7, 83.048 5
19	7.93	359.133 5	-0.5	180 779	+H, +Na	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	獐牙菜苷	197.080 8, 127.038 5, 111.079 8
20	7.99	413.141 3	-1.2	75 654	+Na, +H, +NH <sub>4</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	马钱子苷	229.106 6, 203.088 6, 109.064 1
21	8.41	153.126 8	-3.7	1 093	+H	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	香芹醇	135.116 2, 95.084 6, 111.079 7
22	9.49	137.095 2	-6.9	1 324	+H	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O	2-ethyl-4-methylphenol	109.063 6, 105.068 9, 93.068 8
23	10.10	838.331 2	-3.3	2 116	+NH <sub>4</sub>	C <sub>36</sub> H <sub>52</sub> O <sub>21</sub>	续断苷E	475.209 1, 193.085 6, 130.049 2
24	10.40	189.090 4	9.7	1 585	+Na	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	1,2-dimethoxy-4-ethylbenzene	137.058 7, 107.048 0, 119.047 5
25	10.40	207.101 0	-2.9	1 008	+H	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	乙酸丁香酚酯	161.058 6, 137.058 7, 107.048 0
26	11.10	587.232 8	-1.1	68 981	+H	C <sub>27</sub> H <sub>38</sub> O <sub>14</sub>	laciniatoside VI	464.191 0, 197.080 7, 179.070 0
27	11.20	771.266 3	-2.5	29 177	+Na, +H, +NH <sub>4</sub>	C <sub>33</sub> H <sub>48</sub> O <sub>19</sub>	匙羹藤皂苷 I	554.222 6, 389.158 7, 197.080 7
28	11.40	517.133 9	-0.3	95 338	+H, +Na	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	3,4-二-O-咖啡酰基奎宁酸	499.123 4, 319.080 9, 163.038 5
29	11.60	655.259 9	4.0	1 782	+Na	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>15</sub>	续断苷G	337.091 0, 238.106 7, 191.069 5
30	11.90	393.111 9	-9.4	21 319	+Na	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	5-咖啡酰奎宁酸甲酯	357.117 9, 213.075 5, 151.038 4
31	11.90	585.218 9	1.9	756 835	+H	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>14</sub>	匙羹藤皂苷 III	423.165 1, 213.075 5, 151.038 4
32	12.00	107.048 6	-5.0	11 677	+H	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	苯甲醛	105.068 4, 81.068 8, 77.037 7
33	12.10	764.297 0	-0.1	231 020	+NH <sub>4</sub> , +H	C <sub>33</sub> H <sub>46</sub> O <sub>19</sub>	吴茱萸苷	585.218 5, 423.165 2, 213.075 9, 151.038 7
34	13.10	531.165 3	0.0	4 659	+H	C <sub>26</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸甲酯	382.128 3, 361.118 8, 211.096 2

续表 2

峰号	$t_R$ /min	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	响应值	加和离子	分子式	化合物	碎片离子
35	13.20	843.290 2	1.0	3 570	+Na	C <sub>36</sub> H <sub>52</sub> O <sub>21</sub>	续断苷 C	492.222 7, 471.220 1, 138.054 4
36	13.40	389.144 2	0.0	1 266	+H	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	断马钱子苷	227.091 2, 213.075 6, 195.065 0
37	13.40	815.295 5	1.4	6 013	+Na	C <sub>35</sub> H <sub>52</sub> O <sub>20</sub>	triplostoside A	423.165 4, 389.144 0, 227.091 2
38	13.50	1 492.553 0	2.3	316 896	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>66</sub> H <sub>90</sub> O <sub>37</sub>	续断苷 A	1133.411 1, 809.303 3, 581.203 3
39	13.50	791.293 1	-4.8	48 444	+H, +Na, +NH <sub>4</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	匙羹藤皂苷 II	581.203 3, 211.096 2, 193.085 3
40	16.00	751.460 2	-3.4	28 029	+H	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub>	dipsacobioside	455.350 9, 437.340 4, 409.345 3, 189.163 3
41	16.50	1 259.604 0	0.4	79 150	+Na, +H, +NH <sub>4</sub>	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>27</sub>	灰毡毛忍冬皂苷甲	1113.540 4, 913.513 6, 751.461 9
42	17.00	1 092.593 0	-1.6	120 863	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	川续断皂苷乙	951.490 7, 437.341 4, 203.179 3
43	17.00	1 092.593 0	-1.6	120 863	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	灰毡毛忍冬次皂苷乙	951.490 7, 688.326 1, 619.419 3
44	17.20	221.189 8	-0.8	1 074	+H	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	石竹素	187.148 1, 147.116 6, 119.085 0
45	17.20	767.458 0	0.5	58 943	+H, +NH <sub>4</sub>	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>13</sub>	HN saponin F	391.336 5, 215.179 7, 201.163 9
46	17.30	946.538 5	1.6	3 362 886	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	木通皂苷 D	455.353 0, 295.102 9, 207.174 7
47	17.30	946.538 5	1.6	3 362 886	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	川续断皂苷 V	437.342 3, 295.102 9, 207.174 7
48	17.30	207.174 4	0.5	17 053	+H	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	2,4-二叔丁基苯酚	189.163 9, 177.163 7
49	17.30	473.363 2	1.5	18 360	+H	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	常春藤皂苷元	437.342 3, 409.347 2, 207.174 7
50	19.40	814.494 8	0.1	131 154	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	dipsacussaponin A	425.341 5, 207.174 3, 189.163 7
51	20.10	930.543 3	1.3	1 103 149	+NH <sub>4</sub> , +H, +Na	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub>	3-O-L-arabinose-ivy sapogenin	439.357 7, 191.179 1, 145.048 7
52	20.10	457.367 5	-0.2	6 514	+H	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	giganteaside D	249.184 6, 205.194 3, 203.179 0
53	20.10	205.194 2	-4.4	1 596	+H	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	$\beta$ -石竹烯	191.179 0, 189.163 2, 95.084 3
54	21.50	1 353.672 0	2.7	15 670	+H, +Na, +NH <sub>4</sub>	C <sub>64</sub> H <sub>104</sub> O <sub>30</sub>	dipsacussaponin C	751.463 4, 455.352 0, 437.341 6, 279.106 1
55	21.60	1 221.628 0	1.1	24 271	+H, +Na, +NH <sub>4</sub>	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>26</sub>	dipsacussaponin B	751.461 5, 688.326 2, 437.340 8
56	21.60	1 221.628 0	1.1	24 271	+H, +Na, +NH <sub>4</sub>	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>26</sub>	japondipsaponin E <sub>1</sub>	751.461 5, 688.326 2, 437.340 8
57	22.80	298.273 9	-0.4	7 725	+NH <sub>4</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	亚油酸	97.100 5, 81.069 2, 79.053 4
58	24.40	627.387 3	0.9	48 777	+Na, +H	C <sub>35</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>	akebia saponin PA	455.351 9, 437.341 7, 409.346 5, 391.336 0
59	26.90	358.368 4	1.3	168 210	+NH <sub>4</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	花生酸乙酯	85.099 6, 97.063 5
60	26.90	249.184 6	8.3	6 085	+Na	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	肉豆蔻油酸	184.072 0, 111.078 7, 104.106 0
61	26.90	314.341 8	0.1	5 419	+NH <sub>4</sub>	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	叶绿醇	203.178 6, 189.162 7
62	27.00	279.232 0	9.3	110 377	+Na	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	棕榈酸	97.099 3, 69.068 2, 89.057 9
63	27.10	437.375 2	-0.5	1 351	+Na	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	$\beta$ -谷甾醇	227.178 0, 221.152 7, 219.173 4
64	27.20	277.216 4	9.3	65 997	+Na	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	hexadeca-1,4-lactone	179.141 9, 81.068 0, 95.083 6
65	27.20	179.141 9	6.9	8 725	+Na	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	癸醛	122.096 4, 99.078 9, 79.053 3
66	27.30	249.221 4	0.5	3 852	+H	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O	phenol-2,4-dimethyl-nonyl	165.126 2, 151.110 8, 133.099 8
67	27.50	279.159 2	0.5	9 468	+H, +Na	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	邻苯二甲酸二丁酯	149.022 5, 121.027 4, 105.032 3
68	27.80	291.232 0	0.6	3 433	+H	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	6,9-octadecadiynoic acid methyl ester	184.072 0, 163.111 4, 122.096 4
69	27.80	324.290 2	1.7	52 656	+NH <sub>4</sub> , +H	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	ethyl 9,12,15-octadecatrienoate	291.232 0, 247.205 5, 95.085 4, 89.059 4
70	28.10	280.263 6	0.3	3 336	+NH <sub>4</sub> , +H	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O	2,4,6-三叔丁基苯酚	149.095 7, 147.077 7, 245.226 3
71	28.10	293.247 2	7.2	1 546	+Na	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	棕榈酸甲酯	257.247 2, 89.059 0, 85.100 5
72	28.10	300.289 8	0.2	14 375	+NH <sub>4</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	顺式-13-十八碳烯酸	227.200 0, 165.126 9
73	28.30	277.216 1	8.4	2 330	+Na	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	棕榈油酸	95.084 5, 81.068 7, 67.053 0
74	29.60	391.284 6	0.9	2 387	+H	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	邻苯二甲酸二异辛酯	149.022 5, 122.096 4, 106.905 1

表3 续断醇提液在负离子模式下的化学成分UPLC-QTOF-MS/MS鉴定

Table 3 Components identified from methanol extract of Dipsaci Radix by UPLC-QTOF-MS/MS under negative ion mode

峰号	$t_R$ /min	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	响应值	加和离子	分子式	化合物	碎片离子
1	0.81	387.110 0	-0.2	712 974	+HCOO, -H	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	蔗糖	179.056 3, 133.014 4, 101.024 5
2	2.63	252.090 0	0.5	2 966	+HCOO	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	cantleyine	179.056 2, 130.066 3
3	4.55	165.060 0	2.7	5 620	-H, +HCOO	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	丹皮酚	149.061 2, 133.029 9, 107.050 6
4	5.31	375.130 0	-1.3	31 310	-H, +HCOO	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	马钱苷酸	213.076 6, 151.076 1, 125.060 5
5	6.19	375.130 0	-1.1	981 104	-H, +HCOO	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	demethylsecologanol	213.077 2, 191.056 4, 169.087 3
6	6.74	177.060 0	2.6	2 551	+HCOO	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	肉桂醛	161.025 0, 149.061 8, 85.029 6
7	6.76	353.090 0	-0.3	631 850	-H	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	绿原酸	191.056 9, 161.025 0, 135.045 5
8	6.8	389.110 0	-1.0	29 097	+CH <sub>3</sub> COO	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	dipsaicin	281.066 5, 193.014 5, 149.024 8
9	7.18	179.040 0	2.1	230 399	-H	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	咖啡酸	135.045 3, 134.037 5
10	7.18	179.070 0	5.5	5 511	+CH <sub>3</sub> COO	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	苯乙醛	96.960 2, 89.039 7
11	7.86	433.130 0	-1.7	11 663	+HCOO	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	断马钱子苷	375.131 4, 353.087 3, 213.077 3
12	7.93	403.120 0	-0.7	1 316 039	+HCOO, -H	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	獐牙菜苷	227.092 9, 191.056 7, 125.025 0
13	7.99	435.150 0	-0.9	571 984	+HCOO, -H	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	马钱子苷	337.092 5, 227.092 9, 101.024 9
14	11.14	793.280 0	-0.4	530 842	+HCOO, -H	C <sub>33</sub> H <sub>48</sub> O <sub>19</sub>	匙羹藤皂苷 I	585.218 3, 485.165 7, 227.092 4
15	11.26	369.120 0	-0.9	2 840	-H	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	5-咖啡酰奎宁酸甲酯	267.064 8, 207.066 1, 97.029 3
16	11.37	515.120 0	-0.3	1 309 188	-H, +HCOO	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	3,4-二-O-咖啡酰基奎宁酸	353.087 7, 191.056 3, 135.045 3
17	11.55	865.300 0	-1.3	4 516	+HCOO, -H	C <sub>36</sub> H <sub>52</sub> O <sub>21</sub>	续断苷 C	731.246 1, 603.270 3, 409.149 2
18	11.91	791.260 0	1.2	3 884 080	+HCOO, -H	C <sub>33</sub> H <sub>46</sub> O <sub>19</sub>	吴茱萸苷	583.203 4, 515.120 0, 459.150 1
19	12.63	585.220 0	0.4	27 142	-H, +HCOO	C <sub>27</sub> H <sub>38</sub> O <sub>14</sub>	laciniatoside VI	513.161 2, 353.087 3, 191.056 2
20	12.66	529.130 0	-1.2	645	-H	C <sub>26</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	methyl 3,5-di-O-caffeoyl quinate	515.119 0, 339.050 5, 173.045 7
21	13.08	529.130 0	-2.5	10 236	-H	C <sub>26</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	methyl 4,5-di-O-caffeoyl quinate	353.086 8, 299.092 7, 179.034 8, 135.045 3
22	13.13	529.150 0	-2.1	18 464	-H	C <sub>26</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	3,5-O-二咖啡酰基奎宁酸甲酯	382.128 1, 339.086 8, 297.097 2
23	13.36	837.300 0	-0.5	84 653	+HCOO	C <sub>35</sub> H <sub>52</sub> O <sub>20</sub>	triplostoside A	745.255 9, 629.244 3, 495.149 9
24	13.46	1 473.500 0	-1.6	898 583	-H	C <sub>66</sub> H <sub>90</sub> O <sub>37</sub>	续断苷 A	1293.443 6, 1083.354 7, 851.292 5
25	13.47	835.290 0	-0.1	25 080	+HCOO, -H	C <sub>35</sub> H <sub>50</sub> O <sub>20</sub>	匙羹藤皂苷 II	736.252 4, 459.150 0, 101.024 5
26	13.59	583.200 0	-0.6	745 756	-H	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>14</sub>	匙羹藤皂苷 III	373.113 2, 353.087 1, 193.050 8
27	16.30	1 119.600 0	-2.1	21 210	+HCOO, -H	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	灰毡毛忍冬次皂苷乙	844.368 0, 749.448 5, 179.057 2
28	16.50	1 281.600 0	-1.0	1 172 017	+HCOO, -H	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>27</sub>	灰毡毛忍冬皂苷甲	1057.557 9, 911.501 3, 323.098 6
29	16.95	1 119.600 0	-0.9	755 182	+HCOO, -H	C <sub>53</sub> H <sub>86</sub> O <sub>22</sub>	川续断皂苷乙	927.496 2, 749.448 7, 603.390 5
30	17.26	973.510 0	6.3	2 633 108	+HCOO, -H	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	木通皂苷 D	603.391 4, 323.098 3, 179.056 7
31	17.26	973.510 0	6.3	2 633 108	+HCOO, -H	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>18</sub>	川续断皂苷 V	603.391 4, 323.098 3, 179.056 8
32	19.40	841.460 0	0.9	238 948	+HCOO, -H	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>14</sub>	dipsacussaponin A	471.347 2, 619.385 5, 325.200 9
33	19.58	811.450 0	1.0	287 497	+HCOO, -H	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>13</sub>	HN saponin F	603.390 3, 207.050 6, 309.205 9
34	20.07	957.510 0	0.4	1 770 767	+HCOO, -H	C <sub>47</sub> H <sub>76</sub> O <sub>17</sub>	3-O-L-arabinose-ivy sapogenin	821.397 0, 587.395 7, 323.097 9
35	21.46	1 351.700 0	0.4	702 024	-H	C <sub>64</sub> H <sub>104</sub> O <sub>30</sub>	dipsacussaponin C	1205.594 8, 927.496 3, 749.448 7
36	21.56	1 219.600 0	-0.3	712 849	-H, +HCOO	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>26</sub>	dipsacussaponin B	1073.552 5, 823.412 5, 749.449 0
37	21.56	1 219.600 0	-0.3	712 849	-H, +HCOO	C <sub>59</sub> H <sub>96</sub> O <sub>26</sub>	japondipsaponin E <sub>1</sub>	1073.552 5, 823.412 5, 749.449 0
38	23.59	795.460 0	2.1	174 544	+HCOO, -H	C <sub>41</sub> H <sub>66</sub> O <sub>12</sub>	dipsacobioside	603.390 8, 525.358 2, 455.352 6
39	24.39	649.400 0	-0.4	925 182	+HCOO, -H	C <sub>35</sub> H <sub>56</sub> O <sub>8</sub>	akebia saponin PA	471.347 3, 290.966 0, 152.995 7
41	26.25	315.250 0	-1.6	2 692	+HCOO	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	十七烷酸	223.206 1, 152.995 7, 116.927 9
41	26.28	285.210 0	-0.9	1 122	+CH <sub>3</sub> COO	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	肉豆蔻油酸	152.995 7, 121.102 4, 78.958 8

续表3

峰号	$t_r$ /min	$m/z$ 实测值	$\delta$ /ppm	响应值	加和离子	分子式	化合物	碎片离子
42	26.92	471.350 0	-0.6	89 968	-H,+HCOO	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	常春藤皂苷元	233.154 9,203.108 5,149.097 7
43	28.19	219.180 0	0.9	2 833	-H	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	石竹素	147.081 5,116.927 9
44	28.24	251.170 0	-0.5	2 213	+HCOO	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	2,4-二叔丁基苯酚	130.087 7,116.927 9
45	28.24	211.130 0	0.3	1 146	+CH <sub>3</sub> COO	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	carvotanacetone	116.927 9,99.924 9,96.960 2
46	28.24	253.220 0	0.2	1 357	-H	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	棕榈油酸	125.097 4,71.013 4,111.081 3
47	28.55	455.350 0	-0.2	355 613	-H,+HCOO	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	giganteaside D	407.331 4,392.315 8
48	28.59	279.230 0	0.1	65 403	-H	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	亚油酸	101.060 9,195.139 0
49	30.51	621.440 0	0.0	31 820	+HCOO	C <sub>35</sub> H <sub>60</sub> O <sub>6</sub>	西托糖苷	493.404 7,339.197 3,325.181 3

## 2.2 续断治疗RA的“病-证-方”关联网路分析

**2.2.1 核心靶点** 基于TCMIP v2.0,分别以续断所含化学成分名称、证候临床表现词条及疾病名称为关键词进行检索,导出去重后,最终共收集到续断候选靶标283个,肝肾阴虚证相关靶标215个,RA相关靶标7个。在“疾病-证候-方剂”关联网路中共有核心节点50个。以连接度、紧密度、介度的中位数为卡值,选取同时满足这3个卡值的节点作为核心靶点,共得到7个核心靶点,分别为肿瘤坏死因子(TNF),核转录因子- $\kappa$ B亚单位1(NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>),肝细胞核因子4 $\alpha$ (HNF4A),核受体亚家族3C组成员1(NR3C1),过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (PPARG),核受体亚家族1H组成员4(NR1H4)和核受体辅激活因子1(NCOA1)。

**2.2.2 核心成分** 将筛选到的核心靶点与靶点所对应的化学成分进行靶点数量统计,选取核心靶点数量 $\geq 3$ 的成分作为核心成分,共得到17个核心成分,分别为亚油酸,十七烷酸,dipsacussaponin B, dipsacussaponin C, japonidipsaponin E<sub>1</sub>, dipsacobioside,灰毡毛忍冬皂苷甲,木通皂苷D,棕榈酸,肉豆蔻油酸,棕榈油酸,3-O-L-arabinose-ivy sapogenin, dipsacussaponin A,川续断皂苷V,灰毡毛忍冬次皂苷乙,川续断皂苷乙,HN saponin F。

**2.2.3 通路富集分析** 对17个核心成分所对应的核心靶点进行Reactome通路富集分析,以 $P < 0.05$ 为筛选条件,共富集到9条通路,经过进一步查询文献<sup>[12-15]</sup>,从中筛选出7条与RA可能相关的通路,包括3条炎症相关通路[核受体转导通路(nuclear receptor transcription pathway),白色脂肪细胞分化转录调控(transcriptional regulation of white adipocyte differentiation)和PPAR $\alpha$ 激活基因表达(PPARA activates gene expression)]和4条胆汁酸相关通路[胆汁酸和胆汁的合成(synthesis of bile acids and bile salts),胆汁酸和胆汁的循环(recycling of bile

acids and bile salts),经27-羟基胆固醇的胆酸和胆盐合成(synthesis of bile acids and bile salts via 27-hydroxycholesterol)和经7 $\alpha$ -羟基胆固醇的胆酸和胆盐合成(synthesis of bile acids and bile salts via 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol)]。提示续断可能主要通过胆汁酸类成分的合成和代谢,以及炎症相关通路发挥对RA的治疗作用。

**2.2.4 “病-证-方”关联核心网络分析** 基于续断治疗RA肝肾阴虚证的17个核心成分,7个核心靶点和7条通路,构建“药材-成分-靶点-通路”核心网络,结果发现网络图中每个节点都对应着多条边,体现了续断在治疗RA上具有多成分、多靶点、多通路的作用特点,且主要是通过炎症-免疫相关通路和胆汁酸合成代谢相关通路发挥对RA的治疗作用。

**2.3 核心靶点的PPI网络分析** 将7个核心靶点上传至STRING 11.0,运用Cytoscape 3.8.0进行网络构建和可视化,得核心靶点的PPI互作网络,见图1。PPI网络中包含7个节点和14条边。其中,NR3C1,NCOA1,NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>,PPARG这4个靶点在网络中突出显示,表明其在PPI网络中发挥重要作用,可视为续断治疗RA的关键靶点。

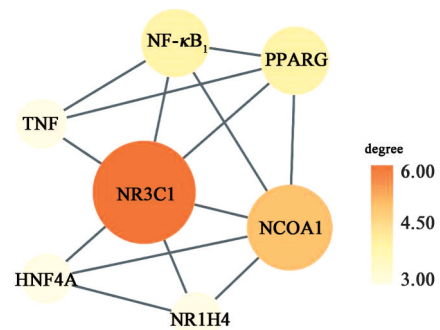


图1 续断治疗RA的PPI核心网络

Fig. 1 PPI core network of Dipsaci Radix against RA

**2.4 续断治疗RA靶点的GO基因功能分析** 对续断治疗RA的7个核心靶点进行GO富集分析,筛选

P排名前10的GO条目。其中,在BP分析中,其主要与信号转导过程相关,例如核糖核酸(RNA)聚合酶II启动子转录的正调控、转录因子结合调控和脱氧核糖核酸(DNA)模板的转录正调控等;在CC分析中只涉及细胞核(nucleus)和核质(nucleoplasm)共2种细胞内成分;在MF分析中,其主要涉及一些结合过程,包括类固醇激素受体活性、维甲酸X受体结合、转录调控区DNA结合等功能。

### 3 讨论

RA是一种全身炎症性疾病,其病理特点是持续性的滑膜炎、全身炎症和自身抗体。临床上常用的抗风湿药物主要通过控制滑膜炎症,减轻炎症反应,从而改善疾病。续断具有补肝肾、强筋骨、续伤折等功效,常用于RA晚期肝肾阴虚证的治疗,疗效确切。但目前尚缺乏对续断治疗RA的物质基础和作用机制的研究。本文运用UPLC-QTOF-MS/MS,并联合UNIFI数据库及已有文献资料,在正、负离子2种扫描模式下,比较全面地预测了续断醇提液中的化学成分,避免了只在单一离子模式下检测而造成某些化合物无法被检测到<sup>[16]</sup>的问题,但该方法也存在一定的局限性,其对小分子非极性化合物、蛋白质及多肽等成分的反应较弱,难以检测到。

明确成分后,结合TCMIP v2.0对续断治疗RA晚期肝肾阴虚证的分子机制进行了初步分析,得到了续断治疗RA可能的17个关键活性成分,7个核心靶点和7条核心通路。其中,多个成分均有文献报道具有确切的抗炎、抗骨质疏松作用。dipsacussaponin A, B, C和川续断皂苷V均属续断皂苷类成分。据报道,续断总皂苷对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀具有显著抑制作用<sup>[17]</sup>,还可通过上调B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),下调半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-9, Caspase-3和Bcl-2相关X蛋白(Bax)的表达,抑制凋亡信号转导,从而有效抑制软骨细胞凋亡,维持软骨细胞功能,具有抑制骨量丢失、增加骨密度、提高骨生物力学的作用<sup>[18]</sup>。木通皂苷D可通过调节PPARG通路抑制脂多糖(LPS)激活的小胶质细胞炎症反应,发挥抗炎作用<sup>[19]</sup>;其还可通过抑制脂肪干细胞释放TNF- $\alpha$ ,白细胞介素(IL)-6和IL-1 $\beta$ ,诱导骨相关蛋白表达,促进脂肪干细胞向成骨细胞分化,具有治疗骨缺损的潜在活性<sup>[20]</sup>。续断中的饱和脂肪酸类成分也对RA具有一定治疗作用。例如,肉豆蔻油酸可抑制肉瘤基因编码的酪氨酸蛋白激酶(Src)和富含脯氨酸的酪氨酸激酶2(Pyk2)的激活,从而抑制关节炎中功能亢进的破骨

细胞和骨吸收,减缓骨损伤<sup>[21]</sup>。此外,棕榈酸、十七烷酸等脂肪酸类成分可引起细胞因子的释放,从而有可能在RA中发挥作用<sup>[22-24]</sup>。其余活性成分的抗RA作用还有待于实验确认。本文研究结果表明,续断治疗RA的药效成分除了熟知的三萜皂苷类成分外,脂肪酸类成分也具有重要作用。提示在进行质量控制或机制研究时,不应忽视脂肪酸类成分。

“病-证-方”关联网络分析显示,续断活性成分主要通过NR3C1, NCOA1, NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>等7个核心靶点发挥抗RA作用。已往研究表明这7个靶点均与炎症密切相关,此外还涉及胆汁酸的合成和代谢。炎症是RA发生发展进程中十分重要的因素, TNF和NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>编码炎症相关蛋白, NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>可抑制破骨细胞分化和RA中发生的骨吸收<sup>[18]</sup>,而TNF是RA发病的重要因子之一,可影响滑膜中包括软骨细胞、破骨细胞、巨噬细胞、滑膜细胞在内的多种细胞,诱导局部炎症和血管翳形成,最终导致软骨侵蚀和骨破坏<sup>[25-26]</sup>。NR3C1基因编码糖皮质激素受体(GR), GR在RA症状的发生和控制中起着重要作用<sup>[27]</sup>。PPARG在骨髓间充质干细胞中表达,是骨髓间充质干细胞定向成脂和成骨的重要调节因子<sup>[28]</sup>。NCOA1辅助信号转导和转录激活因子6(STAT6)在免疫和抗炎细胞反应中起着至关重要的作用<sup>[29]</sup>。NR1H4编码胆汁酸受体,既参与天然免疫反应,也参与胆酸、胆盐的合成与运输<sup>[30]</sup>。且已有研究表明,胆酸途径也对RA有着重要作用。牛磺鹅脱氧胆酸可能通过NF- $\kappa$ B<sub>1</sub>信号通路诱导成纤维细胞样滑膜细胞发生凋亡<sup>[31]</sup>;鹅去氧胆酸可用于治疗RA<sup>[32]</sup>;熊去氧胆酸可通过激活单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK)通路而对RA小鼠及其他自身免疫性疾病发挥治疗作用<sup>[33]</sup>。本文研究结果将续断的抗RA作用与胆汁酸通路关联,提示除炎症通路外,其他通路在RA的发生发展中也发挥着重要作用。

基因GO功能富集结果显示,在MF方面,续断抗RA的作用与类固醇激素受体活性的相关性最强。据报道,许多类固醇激素有显著的抗炎作用,例如可的松、氢化可的松等。同时,有研究显示,类固醇激素相关基因多态性与RA中骨侵蚀的发生有关<sup>[34]</sup>,RA患者关节滑膜液中类固醇激素表达发生显著变化<sup>[35]</sup>,表明类固醇激素在RA研究具有重要作用。此外,胆汁酸也属于类固醇的一种,进一步表明续断通过胆汁酸途径对RA发挥治疗作用。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] SCOTT D L, WOLFE F, HUIZINGA T W. Rheumatoid arthritis [J]. *Lancet*, 2010, 376 (9746): 1094-1108.
- [2] FAVALLI E G, RAIMONDO M G, BECCIOLINI A, et al. The management of first-line biologic therapy failures in rheumatoid arthritis: current practice and future perspectives [J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16 (12):1185-1195.
- [3] 李满意,刘红艳,姜玉铃. 姜多峰教授“虚邪痰”治痹原则及用药经验[J]. *风湿病与关节炎*, 2013, 2(12): 42-43.
- [4] 吴闵,姚晓玲,姚血明,等. 类风湿关节炎中医证候分型研究进展[J]. *风湿病与关节炎*, 2018, 7(11): 71-74.
- [5] 郑乐,韩隆胤,许舒迪,等. 基于网络药理学探讨牛膝-续断药对在类风湿关节炎中的作用机制[J]. *中国新药杂志*, 2020, 29(16):1911-1920.
- [6] 祝乃强,侯静怡,刘鳌欣,等. 基于网络药理学的续断-补骨脂药对治疗骨关节炎作用机制研究[J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(10):1157-1165.
- [7] 张林华. 基于数据挖掘的中医治疗风湿病临床用药规律与作用机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2019.
- [8] 魏赓权. 断藤益母汤对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞活化、迁移和侵袭的调控及其机制研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2019.
- [9] 吉海旺,罗强,曹晓菊,等. 尪痹片治疗RA(肝肾两虚兼瘀血痹阻证)临床疗效观察[C]//中国中西医结合学会会风. 全国第十一届中西医结合风湿病学术会议论文汇编:2013年卷. 西安:出版社不详, 2013:5.
- [10] 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.
- [11] 张琪,成砚萍,马博,等. 续断总皂苷和三七总皂苷配伍对去卵巢大鼠骨质疏松症的治疗作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2010, 21(5):502-505.
- [12] FONTAINE R H, CASES O, LELIÈVRE V, et al. IL-9/IL-9 receptor signaling selectively protects cortical neurons against developmental apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(10):1542-1552.
- [13] WANG X, WU H, YU W, et al. Hepatocyte nuclear factor 1b is a novel negative regulator of white adipocyte differentiation [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(9):1588-1597.
- [14] BROCKER C N, KIM D, MELIA T, et al. Long non-coding RNA Gm15441 attenuates hepatic inflammasome activation in response to PPARA agonism and fasting [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5847.
- [15] SCHUBERT K, DAMINK S W M O, BERGEN M V, et al. Interactions between bile salts, gut microbiota, and hepatic innate immunity [J]. *Immunol Rev*, 2017, 279(1):23-35.
- [16] TAO Y, HUANG S R, LI W D, et al. Simultaneous determination of ten bioactive components in raw and processed Radix Dipsaci by UPLC-Q-TOF-MS [J]. *J Chromatogr Sci*, 2019, 57(2):122-129.
- [17] LI X R, LI J, REN Q, et al. The molecular mechanism of treating osteoarthritis with dipsacus saponins by inhibiting chondrocyte apoptosis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(5):4527-4532.
- [18] ZHANG J Q, YI S N, XIAO C H, et al. Asperosaponin VI inhibits LPS-induced inflammatory response by activating PPAR- $\gamma$  pathway in primary microglia [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2020, 27(11):3138-3144.
- [19] DING X P, LI W Y, CHEN D S, et al. Asperosaponin VI stimulates osteogenic differentiation of rat adipose-derived stem cells [J]. *Regen Ther*, 2019, 11:17-24.
- [20] KWON J O, JIN W J, KIM B J, et al. Myristoleic acid inhibits osteoclast formation and bone resorption by suppressing the RANKL activation of Src and Pyk2 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 768:189-198.
- [21] FROMMER K W, HASSELI R, SCHÄFFLER A, et al. Free fatty acids in bone pathophysiology of rheumatic diseases [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2757.
- [22] DARLINGTON L G, STONE T W. Antioxidants and fatty acids in the amelioration of rheumatoid arthritis and related disorders [J]. *Br J Nutr*, 2001, 85(3): 251-269.
- [23] CALDER P C, ZURIER R B. Polyunsaturated fatty acids and rheumatoid arthritis [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2001, 4(2):115-121.
- [24] SALINAS F L S, BENÍTEZ J G S, NAVARRO M D H, et al. NF- $\kappa$ B/ $\text{IKK}\epsilon$  gene expression and clinical activity in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Lab Med*, 2017, 49(1):11-17.
- [25] 张磊,魏伟,常艳,等. 肿瘤坏死因子- $\alpha$ 对胶原性关节炎大鼠滑膜细胞功能的影响及白芍总苷的作用[J]. *中国新药杂志*, 2007, 16(7):519-522.
- [26] ABBASI M, MOUSAVI M J, JAMALZEHI S, et al. Strategies toward rheumatoid arthritis therapy; the old and the new [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7):10018-10031.
- [27] BAZSÓ A, KÖVESDI A, RÁSONYI R, et al.

- Glucocorticoid receptor polymorphisms in rheumatoid arthritis: results from a single centre [J]. *Clin Exp Rheumatol*,2020,38(5):858-863.
- [28] KAWAI M, ROSEN C J. PPAR $\gamma$ : a circadian transcription factor in adipogenesis and osteogenesis [J]. *Nat Rev Endocrinol*,2010,6(11):629-636.
- [29] RUSSO L, GILLER K, PFITZNER E, et al. Insight into the molecular recognition mechanism of the coactivator NCoA1 by STAT6 [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):16845.
- [30] GUO C S, XIE S J, CHI Z X, et al. Bile acids control inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome [J]. *Immunity*, 2016,45(4):802-816.
- [31] LI L, LIU C, LIU M Q, et al. Taurochenodeoxycholic acid induces apoptosis of fibroblast-like synoviocytes [J]. *Eur J Pharmacol*,2013,706(1/3):36-40.
- [32] BRUUSGAARD A, ANDERSEN R B. Chenodeoxycholic-acid treatments of rheumatoid arthritis[J]. *Lancet*,1976,1(7961):700 .
- [33] LEE E J, KWON J E, PAEK M J, et al. Ursodeoxycholic acid attenuates experimental autoimmune arthritis by targeting Th17 and inducing pAMPK and transcriptional corepressor SMILE [J]. *Immunol Lett*,2017,188:1-8.
- [34] SÁNCHEZ-MALDONADO J M, CÁLIZ R, CANET L, et al. Steroid hormone-related polymorphisms associate with the development of bone erosions in rheumatoid arthritis and help to predict disease progression: results from the REPAIR consortium [J]. *Sci Rep*,2019,9:14812.
- [35] CARLSON A K, RAWLE R A, WALLACE C W, et al. Global metabolomic profiling of human synovial fluid for rheumatoid arthritis biomarkers [J]. *Clin Exp Rheumatol*,2019,37:393-399.

[责任编辑 刘德文]