

排毒清脂片的 UPLC-Q-TOF-MS 成分分析及网络药理学探索

李泽运^{1,2}, 曹星³, 袁永亮¹, 崔浩², 杨二强¹, 田鑫¹, 张晓坚^{1*}

(1. 郑州大学第一附属医院, 郑州 450052; 2. 辅仁药业集团有限公司, 郑州 450046;
3. 吉林医药学院, 吉林 吉林 132000)

[摘要] **目的:** 利用 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定排毒清脂片的化学成分, 并在此基础上开展网络药理学研究。**方法:** 采用 Waters 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 ~ 17 min, 95% ~ 5% A; 17 ~ 17.01 min, 5% ~ 95% A; 17.01 ~ 20 min, 95% A), 流速 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C, 使用电喷雾离子源(ESI), 负离子模式采集数据, 质谱扫描范围 m/z 50 ~ 1 200, 通过对照品、相对分子质量、质谱裂解规律和文献信息鉴定排毒清脂片的化学成分; 运用多个数据库检索化学成分对应靶点、排毒清脂片所治疾病靶点以及代谢通路, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建“药材-成分-靶点-通路-疾病”的可视化网络拓扑关系图。**结果:** 从排毒清脂片甲醇提取物中鉴定出了 33 个成分, 其中 27 种来源大黄, 4 种来源西洋参, 2 种来源麦冬。网络药理学研究表明其中 31 个化学成分的 18 个直接靶点, 58 个间接靶点及类固醇激素生物合成通路、花生四烯酸代谢通路、胰岛素信号通路等 7 条通路与排毒清脂片治疗高脂血症、痤疮、单纯性肥胖有较强的相关性。**结论:** UPLC-Q-TOF-MS 技术可快速、高效对排毒清脂片进行化学成分定性分析, 揭示了排毒清脂片的药效物质基础; 网络药理学研究可辨识大黄、西洋参、麦冬 3 味中药的作用靶点及代谢通路, 初步阐释排毒清脂片的分子作用机制, 可为该制剂的质量控制与临床应用提供参考。

[关键词] 排毒清脂片; 甲醇提取物; 化学成分; 靶点; 通路; 疾病; 网络药理学

[中图分类号] R22; R28; R914; C37; R966 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)07-0129-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192351

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190816.1052.003.html>

[网络出版时间] 2019-08-16 11:09

Investigation of Paidu Qingzhi Tablets Based on UPLC-Q-TOF-MS and Network Pharmacology

LI Ze-yun^{1,2}, CAO Xing³, YUAN Yong-liang¹, CUI Hao², YANG Er-qiang¹, TIAN Xin¹, ZHANG Xiao-jian^{1*}

(1. *The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China;*

2. Furen Pharmaceutical Group Co. Ltd., Zhengzhou 450046, China;

3. Jilin Medical University, Jilin 132000, China)

[Abstract] **Objective:** To identify the active constituents of Paidu Qingzhi tablets by UPLC-Q-TOF-MS technique, and to reveal its potential targets and molecular mechanisms by network pharmacology. **Method:** Chromatography separation was achieved on an ACQUITY UPLC HSS T3 column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm) with mobile phase consisted of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile for gradient elution (0-17 min, 95% -5% A; 17-17.01 min, 5% -95% A; 17.01-20 min, 95% A), the flow rate was 0.3 mL·min⁻¹, the column temperature was 40 °C. Data acquisition was carried out in electrospray ionization (ESI) under the negative ion mode, the scanning range was 50-1 200. Ingredients in Paidu Qingzhi tablets were identified according to reference substance, relative molecular weight, mass spectrometric cleavage rule and literature information. Multiple

[收稿日期] 20190528(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81603287)

[第一作者] 李泽运, 博士, 主管药师, 从事中药质量评价研究, Tel:0371-66295652, E-mail:lizeyun2006@163.com

[通信作者] * 张晓坚, 博士, 主任药师, 从事医院药理学研究, Tel:0371-66295652, E-mail:zhxj0524@sina.com

databases were used to retrieve the targets of these identified ingredients and related diseases treated by the tablets, and metabolic pathways. A visual network of "herbs-compounds-targets-pathways-diseases" was constructed by Cytoscape 3.7.1. **Result:** A total of 33 active compounds in methanol extract of Paidu Qingzhi tablets were identified by UPLC-Q-TOF-MS, including 27 compounds from *Rhei Radix et Rhizoma*, 4 compounds from *Panacis Quinquefolii Radix*, 2 compounds from *Ophiopogonis Radix*. Totally 18 direct targets and 58 indirect targets corresponding to 31 ingredients were obtained, 7 metabolic pathways including steroid hormone biosynthesis pathway, arachidonic acid metabolic pathway, insulin signaling pathway were strongly correlated with the treatment of hyperlipidemia, acne and simple obesity by Paidu Qingzhi tablets. **Conclusion:** Ingredients of Paidu Qingzhi tablets are revealed by UPLC-Q-TOF-MS, based on these identified ingredients, targets and related metabolic pathways are visualized by network pharmacology. The current research can provide theoretical basis for quality control and clinical application of Paidu Qingzhi tablets.

[**Key words**] Paidu Qingzhi tablets; methanol extract; chemical compositions; targets; pathways; disease; network pharmacology

排毒清脂片由大黄、西洋参、麦冬组成,其中大黄具有清热解毒泻火、活血祛瘀功效;西洋参、麦冬养阴清火,所含西洋参皂苷及高异黄酮类提取物具有调节机体免疫、促进血液循环作用;诸药合用达到排毒、清脂、祛斑作用^[1]。目前,排毒清脂片的质量控制方法不太完善,对其所含化学成分的认知也不全面,仅见对其部分化学成分进行含量测定的报道^[2-3]。此外,排毒清脂片化学成分体内作用机制尚不明确,识别该片剂活性成分及体内作用靶点对阐释其药效物质基础和分子作用机制具有重要意义。

超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS)具有分辨率高、灵敏度高等优点,可快速分析和鉴定中药化学成分,结合网络药理学研究可初步阐明复方制剂体内多成分-多靶点-多通路作用机制。本实验运用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对排毒清脂片进行定性鉴定,为排毒清脂片的质量控制及药理学研究奠定了物质基础;在定性研究的基础上对其进行网络药理学研究,可为阐明药物作用机制、提高药物疗效等提供参考。

1 材料

X500R 型 QTOF 高分辨质谱仪(美国 AB SCIEX 公司),TG328A 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),LR20-A 型高速冷冻离心机(北京雷博尔离心机有限公司)。排毒清脂片(通化万通药业股份有限公司,批号 02180403),芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚对照品(成都普瑞发科技有限公司,批号分别为 110795-201609,110757-201607,110756-201512,110796-201319,纯度依次为 98.1%,99.3%,98.7%,99.6%),人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Re 对照品(实验室自制,经¹H-NMR 和¹³C-NMR 等鉴

定,HPLC 测得纯度均 >98%),水为超纯水,乙腈、甲醇、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液制备 取本品适量,粉碎,过四号筛,精密称定约 0.3 g,置具塞锥形瓶中,加甲醇 20 mL 使溶解,密塞,称定质量,超声提取 20 min,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,取 1 mL 离心(1 万 r·min⁻¹,10 min),取上清液 10 μL,加甲醇稀释 10 倍,得供试品溶液。分别取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Re 对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成 20 mg·L⁻¹ 的对照品储备液。取以上储备液 50 μL,分别加甲醇稀释 5 倍,得各对照品溶液。

2.2 UPLC-Q-TOF-MS 数据采集与分析 色谱条件为 Waters 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(0~17 min,95%~5%A;17~17.01 min,5%~95%A;17.01~20 min,95%A),流速 0.3 mL·min⁻¹,柱温 40℃,进样量 10 μL。质谱条件为电喷雾离子源(ESI),负离子模式采集,雾化气压力和干燥气压力均为 379.2 kPa,气帘气压力 241.3 kPa,离子源温度 500℃,碰撞气压力 48.3 kPa;一级质谱扫描范围 *m/z* 50~1 200,离子源电压 4.5 kV,去簇电压 80 V,碰撞能量 10 V;二级质谱扫描范围 *m/z* 50~1 200,去簇电压 80 V,碰撞能量(50±15) V,扫描时间 20 min,数据处理采用 SCIEX OS v1.2 进行处理。

通过保留时间、质荷比、特征性碎片离子以及文献信息鉴定排毒清脂片的化学成分,其中芦荟大黄

素、大黄酸、大黄素、大黄酚、人参皂苷 Rb₁ 和人参皂苷 Re 经对照品对比保留时间、一级质谱碎片、二级质谱碎片等信息确认,其余化合物依据精确相对分子质量、碎片离子信息结合参考文献进行确认。

2.3 “药材-成分-靶点-通路-疾病”网络构建 将排毒清脂片提取物鉴定得到的 33 个成分按照其药材来源整理成药材-成分数据库;在 ChemSpider 和 PubChem 等数据库检索、下载各个化合物的结构,并在 ChemDraw V14.0.0.117 软件中将其转化为 SMILES 结构;输入 SMILES 结构至 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 获得化合物的预测作用靶点;打开治疗靶点数据库 (therapeutic target database, TTD),根据排毒清脂片降血脂、减肥、祛痤疮适应症,搜索疾病治疗靶点;取预测靶点与治疗靶点交集,构建排毒清脂片成分-直接作用靶点数据库以及靶点-疾病数据库;将上述直接作用靶点单个输入到 STRING 11.0 数据库 (<https://string-db.org/>),在物种 (organisms) 选择人类 (homo sapien) 查询结果下载,筛选最后一列综合得分 (combined score) > 0.95 的靶蛋白为间接作用靶点,构建蛋白相互作用

数据库;进入 DAVID 6.7 (<https://david-d.nciferf.gov/>),上传整理好的直接与间接作用靶点,格式选择 Official_Gene_Symbol,种属设置为 Homo sapiens,进行功能注释分析,保存 KEGG_PATHWAY 通路分析结果至 Microsoft Office 2016,在京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库进行通路分析筛选与排毒清脂片所治疾病有关的通路,构建靶点-通路数据库。

新建 Excel 文件,将药材、成分、直接作用靶点、间接作用靶点、通路、疾病依次去重后分别赋予 1, 2, 3, 4, 5, 6 的属性,为药材-成分-靶点-通路-疾病属性文件。将药材-成分数据库、成分-直接作用靶点数据库、蛋白相互作用数据库、靶点-通路数据库、靶点-疾病数据库以及属性文件导入 Cytoscape 3.7.1 分析软件,构建相互作用关系图。

2.4 化学成分鉴定 从排毒清脂片甲醇提取物中共鉴定出 33 个化合物,包括 27 种来自大黄,4 种源自西洋参,2 种来源于麦冬;其中鞣质类 6 种,蒽类 16 种,二苯乙烯类 1 种,苯丁酮苷类 2 种,人参皂苷类 4 种,黄酮类 4 种。以上成分归属及鉴定信息见表 1,负离子模式下的总离子流色谱图及部分化合物选择离子流图见图 1。

表 1 排毒清脂片中化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定

Table 1 Analysis of chemical constituents in Paidu Qingzhi tablets by UPLC-Q-TOF-MS

| 化合物 | 名称 | 分子式 | 相对分子质量 | <i>t_R</i> /min | [M - H] ⁻ | | 归属 | 参考文献 |
|-----|---------------------------------|---|-----------|---------------------------|----------------------|--|----|------|
| | | | | | MS | MS/MS | | |
| 1 | 没食子酸 | C ₇ H ₆ O ₅ | 170.021 5 | 1.59 | 169.009 3 | 125.021 5, 124.014 1, 124.002 8, 123.005 5, 79.016 5 | 大黄 | [4] |
| 2 | 没食子酰基二葡萄糖苷 | C ₁₉ H ₂₆ O ₁₅ | 494.127 1 | 2.03 | 493.107 2 | 331.059 0, 313.049 3, 283.040 4, 271.039 0, 169.010 3, 125.021 8 | 大黄 | [4] |
| 3 | 儿茶素 | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ | 290.079 0 | 3.80 | 289.065 1 | 227.063 8, 221.076 6, 203.066 0, 125.021 6, 123.043 2, 109.021 7 | 大黄 | [4] |
| 4 | 葡萄糖没食子鞣苷 | C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀ | 332.074 3 | 0.93 | 331.059 8 | 169.010 4, 168.003 0, 125.021 7 | 大黄 | [4] |
| 5 | 1,6-二-O-没食子酰基-2-O-肉桂酰基-β-D-葡萄糖苷 | C ₂₉ H ₂₆ O ₁₅ | 614.127 1 | 7.11 | 613.102 6 | 465.056 7, 461.097 0, 313.049 3, 271.040 4, 169.010 1 | 大黄 | [4] |
| 6 | 表儿茶素-3-O-没食子酸酯 | C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀ | 442.089 9 | 5.39 | 441.071 9 | 289.065 6, 261.007 6, 245.077 4, 169.010 9, 125.021 2 | 大黄 | [4] |
| 7 | 芦荟大黄素 | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ | 270.052 8 | 9.86 | 269.037 7 | 269.039 8, 268.031 8, 240.037 1, 239.029 3, 211.035 1, 183.040 8 | 大黄 | [4] |
| 8 | 大黄素 | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ | 270.052 8 | 12.01 | 269.037 7 | 269.036 7, 241.048 3, 225.048 2, 197.055 4 | 大黄 | [4] |
| 9 | 芦荟大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 432.105 6 | 5.26 | 431.086 2 | 293.039 6, 269.038 9, 240.038 2 | 大黄 | [4] |
| 10 | 芦荟大黄素-O-葡萄糖苷 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 432.105 6 | 6.37 | 431.086 2 | 269.037 9, 240.037 0 | 大黄 | [4] |
| 11 | 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 432.105 6 | 7.45 | 431.086 2 | 269.036 2 | 大黄 | [4] |
| 12 | 大黄酚 | C ₁₅ H ₁₀ O ₄ | 254.057 9 | 13.88 | 253.043 6 | 225.050 2, 224.041 7 | 大黄 | [4] |

续表 1

| 化合物 | 名称 | 分子式 | 相对分子质量 | t_R /min | [M - H] ⁻ | | 归属 | 参考文献 |
|-----|---|---|------------|---------------|----------------------|--|-----|------|
| | | | | | MS | MS/MS | | |
| 13 | 大黄酸-8- <i>O</i> -葡萄糖苷 | C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁ | 446.084 8 | 5.37 | 445.065 6 | 307.017 4, 283.017 5, 239.028 3 | 大黄 | [4] |
| 14 | 大黄素-1- <i>O</i> -β(6'- <i>O</i> -乙酰基)葡萄糖苷 | C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁ | 474.116 1 | 6.29 | 473.095 6 | 311.049 8, 269.040 3, 268.031 6 | 大黄 | [4] |
| 15 | 决明子-8- <i>O</i> -葡萄糖苷 | C ₂₀ H ₂₄ O ₉ | 408.142 0 | 7.38 | 407.123 2 | 245.074 4, 230.052 0 | 大黄 | [4] |
| 16 | 大黄素-8- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -丙二酰基)葡萄糖苷 | C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃ | 518.106 0 | 7.78 | 517.085 6 | 473.097 8, 269.039 1 | 大黄 | [4] |
| 17 | 大黄酸甲酯 | C ₁₆ H ₁₀ O ₆ | 298.047 7 | 9.13 | 297.031 9 | 253.042 2, 225.049 1 | 大黄 | [4] |
| 18 | 大黄酸 | C ₁₅ H ₈ O ₆ | 284.032 1 | 10.1 | 283.016 7 | 239.028 5, 211.034 1, 183.039 4 | 大黄 | [4] |
| 19 | 白藜芦醇-4'- <i>O</i> -(6"- <i>O</i> -没食子酰基)-葡萄糖苷 | C ₂₇ H ₂₆ O ₁₂ | 542.142 4 | 5.61 | 541.122 9 | 541.122 2, 541.079 9, 313.049 8, 227.063 7, 169.018 4, 169.009 4 | 大黄 | [4] |
| 20 | 莲花掌苷 | C ₂₃ H ₂₆ O ₁₁ | 478.147 5 | 5.35 | 477.128 3 | 313.049 6, 169.010 6, 163.072 5, 125.022 0 | 大黄 | [4] |
| 21 | 4-(4'-羟苯基)-2-丁酮-4'- <i>O</i> -(2"- <i>O</i> -肉桂酰基-6"- <i>O</i> -没食子酰基)-葡萄糖苷 | C ₃₂ H ₃₂ O ₁₂ | 608.189 3 | 9.60 | 607.164 5 | 443.087 9, 295.039 6, 169.010 2, 151.000 3 | 大黄 | [4] |
| 22 | 芦荟素 | C ₂₁ H ₂₂ O ₉ | 418.126 3 | 5.59 | 417.108 5 | 255.060 1, 255.090 3, 213.049 2, 197.804 4 | 大黄 | [4] |
| 23 | 大黄酸- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷 | C ₂₃ H ₂₀ O ₁₂ | 488.095 4 | 6.11 | 487.076 5 | 307.020 6, 283.019 2, 239.029 1, 146.962 5 | 大黄 | [4] |
| 24 | 羧基大黄酚- <i>O</i> -葡萄糖苷 | C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁ | 460.100 5 | 6.60 | 459.081 1 | 266.052 2, 253.044 5, 253.062 6 | 大黄 | [4] |
| 25 | 大黄酚-1- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷 | C ₂₁ H ₂₀ O ₉ | 416.110 7 | 7.43 | 415.092 5 | 277.045 2, 253.044 2 | 大黄 | [4] |
| 26 | 决明子- <i>O</i> -乙酰基-葡萄糖苷 | C ₂₂ H ₂₆ O ₁₀ | 450.152 6 | 8.96 | 449.134 0 | 245.076 1, 230.053 2, 215.028 9 | 大黄 | [4] |
| 27 | 1-甲基-8-羟基-9, 10-蒽醌-3- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -肉桂酰基)葡萄糖苷 | C ₃₁ H ₂₆ O ₁₂ | 590.142 4 | 10.21 | 589.119 5 | 266.051 6, 253.043 5 | 大黄 | [4] |
| 28 | 拟人参皂苷 F ₁₁ | C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄ | 800.492 2 | 8.07 | 799.463 7 | 653.411 2, 161.041 6 | 西洋参 | [5] |
| 29 | 人参皂苷 Rb ₁ | C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃ | 1108.602 9 | 8.11 | 1107.555 5 | 945.524 1, 783.493 7, 621.438 2, 459.371 1 | 西洋参 | [5] |
| 30 | 人参皂苷 Re | C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈ | 946.550 0 | 6.42 | 945.516 0 | 799.464 9, 637.417 6 | 西洋参 | [5] |
| 31 | 人参皂苷 Rd | C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈ | 946.550 0 | 9.03 | 945.516 0 | 783.473 8, 621.418 7 | 西洋参 | [5] |
| 32 | 甲基麦冬二氢高异黄酮 B | C ₁₉ H ₂₀ O ₅ | 328.131 0 | 13.16 | 327.115 8 | 205.046 6, 178.023 1, 150.028 4 | 麦冬 | [6] |
| 33 | 甲基麦冬高异黄酮 B | C ₁₉ H ₁₈ O ₅ | 326.115 4 | 11.53 | 325.099 2 | 256.235 5, 195.134 5, 179.103 0 | 麦冬 | [7] |

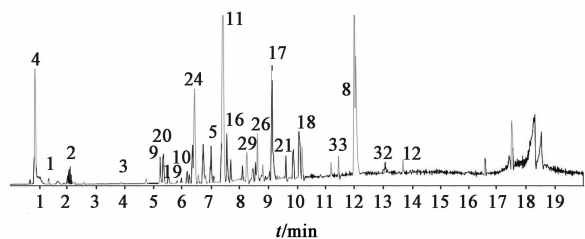


图 1 排毒清脂片在负离子模式下的基峰离子流
Fig.1 Base peak ion flow chromatogram of Paidu Qingzhi tablets under negative ion mode

2.5 “药材-成分-靶点-通路-疾病”网络分析 排毒清脂片甲醇提取物中 33 个化合物通过

SwissTargetPrediction 数据库得到预测靶点 150 个, TTD 检索得到排毒清脂片疾病靶点 175 个, 二者交集得到直接作用靶点 18 个, STRING 11.0 数据库获得间接作用靶基因 58 个, 共映射出信号通路 29 条, 构建“药材-成分-靶点-通路-疾病”网络图, 见图 2。

其中 7 条信号通路为重要的通路枢纽, 包括类固醇激素生物合成(steroid hormone biosynthesis), 花生四烯酸代谢(arachidonic acid metabolism), 脂肪细胞因子信号通路(adipocytokine signaling pathway), 神经营养因子信号通路(neurotrophin signaling

pathway), 内吞作用 (endocytosis), 过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路 (PPAR signaling pathway) 以及胰岛素信号通路 (insulin signaling pathway), 与高

血脂、脂代谢紊乱、肥胖、痤疮等疾病密切相关, 见图 3。以上 7 条信号通路中排毒清脂片成分对应靶点基因见表 2。

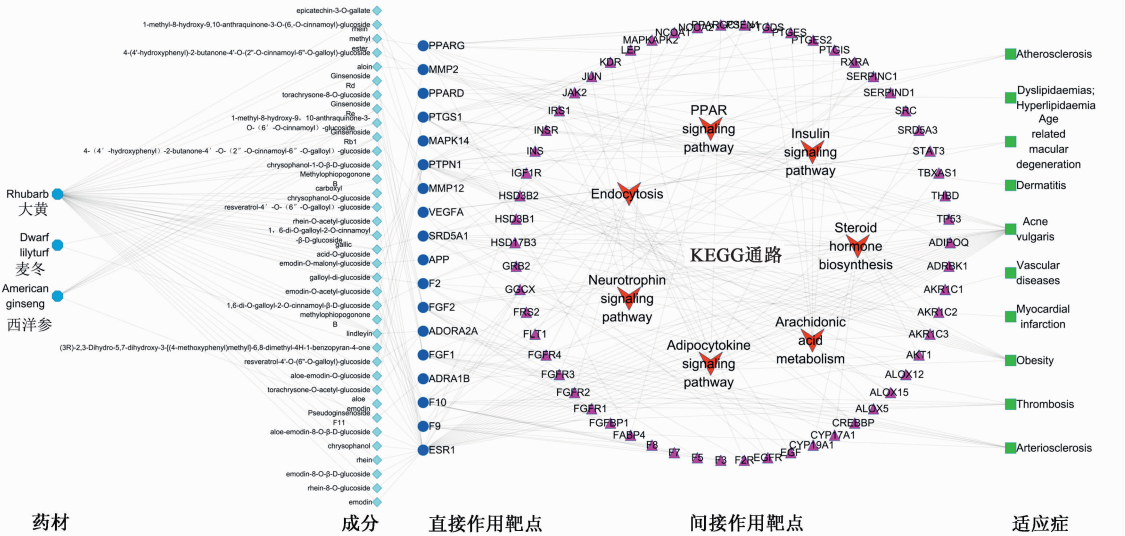
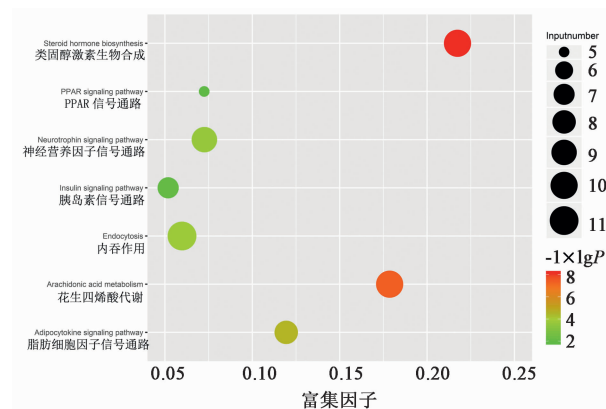


图 2 排毒清脂片的“药材-成分-靶点-通路-疾病”网络药理学分析

Fig. 2 Network pharmacology analysis of “herbs-compounds-targets-pathways-diseases” in Paidu Qingzhi tablets



Inputnumber 表示涉及基因数目, 越大涉及数目越多; 颜色表示显著性差异负对数值, 趋向红表示差异愈显著

图 3 排毒清脂片涉及主要代谢通路的气泡分析

Fig. 3 Bubble diagram of main metabolic pathways associated with Paidu Qingzhi tablets

3 讨论

排毒清脂片过往研究多关注若干成分含量测定^[2]或某一临床疗效^[1,8-9], 缺少物质基础及临床疗效的系统探讨。本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术从排毒清脂片甲醇提取物中鉴别出了 33 个化合物, 涉及鞣质类、萜类、二苯乙烯类、苯丁酮苷类、人参皂苷类、黄酮类等; 并通过网络药理学研究方法对其降血脂、治疗单纯性肥胖和痤疮的分子机制进行了初步探讨。

大黄中鞣质类、萜类、二苯乙烯类、苯丁酮苷类

成分具有广泛的生物活性, 例如清除自由基、抗肿瘤、抗衰老、降血脂、抗动脉硬化等作用^[10-11]; 西洋参中人参皂苷类成分在调节免疫功能、心血管系统、中枢神经系统, 以及抗肿瘤等方面均有显著功效^[12]; 麦冬中高异黄酮类成分具有心肌保护、抗血栓、抗炎、抗氧化、抗衰老等作用^[13]; 以上各类成分相辅相成, 是其发挥降血脂、治疗单纯性肥胖和痤疮疗效的物质基础。网络药理学研究具有整体性和系统性的特点, 与中医药整体观不谋而合, 可用于发现先导化合物、识别靶标、机制探讨和预测适应症。本研究采用网络药理学方法构建“药材-成分-靶点-通路-疾病”交互网络图, 筛选出 18 个直接作用靶点, 58 个间接作用靶点, 7 条通路以及 10 种潜在适应症。其中类固醇激素生物合成通路与脂类代谢、肥胖性疾病有关。糖皮质激素、雌激素和雄激素等类固醇激素可通过调节不同部位脂肪细胞受体分布以及调控脂肪细胞增殖、分化和脂解等, 影响脂肪的积聚和体脂的分布, 参与代谢综合征产生^[14]; 花生四烯酸代谢通路与脂类代谢关联。文献报道金芪降糖片调节花生四烯酸代谢通路进而改善 2 型糖尿病脂代谢紊乱^[15]; 脂肪细胞因子信号通路异常可导致胰岛素抵抗、炎症、动脉粥样硬化等, 在肥胖等疾病中起关键作用^[16]; 神经营养因子信号通路与糖尿病、痤疮有关; 内吞作用与高脂血症有关, 动物细胞通过细胞表面的低密度脂蛋白受体介导的内吞作用清除

表 2 排毒清脂片降脂-抗炎-治疗痤疮基因对应生物学通路

Table 2 Corresponding biological pathways of gene in treatment of Paidu Qingzhi tablets

| 通路 | P | 基因 |
|------------|----------------------|---|
| 类固醇激素生物合成 | 6.8×10^{-9} | AKR1C1, AKR1C2, AKR1C3, CYP17A1, CYP19A1, HSD3B1, HSD3B2, HSD17B3, SRD5A3, SRD5A1 |
| 花生四烯酸代谢 | 4.2×10^{-8} | AKR1C3, ALOX12, ALOX15, ALOX5, PTGDS, PTGES, PTGES2, PTGIS, PTGS1, TBXAS1 |
| 脂肪细胞因子信号通路 | 2.8×10^{-5} | JAK2, ADIPOQ, IRS1, LEP, PPARGC1A, RXRA, STAT3, AKT1 |
| 神经营养因子信号通路 | 2.4×10^{-4} | FRS2, GRB2, IRS1, JUN, MAPK14, MAPKAPK2, PSEN1, TP53, AKT1 |
| 内吞作用 | 1.6×10^{-4} | ADRBK1, F2R, EGF, EGFR, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT1, IGF1R, KDR, SRC |
| PPAR 信号通路 | 1.4×10^{-2} | ADIPOQ, FABP4, PPARD, PPARG, RXRA |
| 胰岛素信号通路 | 9.5×10^{-3} | GRB2, INSR, IRS1, INS, PPARGC1A, PTPN1, AKT1 |

血液中低密度脂蛋白,进而避免引起动脉粥样硬化、冠心病和中风等严重疾病^[17-18];PPAR 信号通路与高脂血症、糖尿病、肥胖有关,该信号通路激活可以抵抗高血脂以及减少瘦素缺失引起的肥胖^[19];胰岛素信号通路与糖尿病有关,修复并促进胰岛素信号转导通路的正常运行可以有效减轻胰岛素抵抗^[18];以上结果能在一定程度上反映排毒清脂片治疗高脂血症、痤疮、单纯性肥胖方面的作用机制。

本研究初步扩展了排毒清脂片所含具体化学成分信息、揭示了排毒清脂片潜在活性成分群,初步探讨了排毒清脂片治疗高脂血症、痤疮、单纯性肥胖等疾病方面的多成分、多靶点、多通路协同作用机制,为后续该制剂的分子生物学验证及质量标准提高提供了参考,并为其质量控制、药物疗效解读、临床应用提供了理论依据。

[参考文献]

[1] 王太发. 排毒清脂片治疗痤疮 62 例[J]. 中国中医急症, 2010, 19(5): 806.

[2] 何杨虎, 谢彦兵, 李海兵, 等. HPLC 法测定排毒清脂片中蒽醌类成分的含量[J]. 解放军药学报, 2013, 29(2): 138-140.

[3] 张祥俊, 刘振华, 张永敬. 高效液相色谱法测定排毒清脂片中大黄素、大黄酚的含量[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2009, 11(4): 574-577.

[4] 赵倩, 陈育鹏, 崔旭盛, 等. 掌叶大黄 UPLC 多指标成分测定及指纹图谱研究[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(10): 1697-1710.

[5] 赵静, 秦振娟, 彭冰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 技术的三七中皂苷类成分质谱裂解规律研究[J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 97-108.

[6] 褚衍涛, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芩苈清肺浓缩丸中的化学成分[J]. 中成药, 2016, 38(6): 1303-1310.

[7] 王子健, 刘颖, 刘思焱, 等. UPLC-HRMSⁿ 结合高能诱导裂解快速鉴定麦冬中高异黄酮类成分[J]. 质谱学报, 2016, 37(6): 481-491.

[8] 黄志美, 姚文丽, 陶贵菊. 排毒清脂片治疗高脂血症的研究[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(21): 95-96.

[9] 吴志华. 排毒清脂片治疗黄褐斑 40 例疗效观察[J]. 中国皮肤性病学期刊, 2009, 23(5): 320-321.

[10] 胡念芳, 熊丽丹, 李利. 大黄鞣质类及蒽醌类化合物的三项生物活性比较研究[J]. 广州化工, 2017, 45(19): 54-56.

[11] 王亦君, 冯舒涵, 程锦堂, 等. 大黄蒽醌类化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 227-234.

[12] 冬颖, 孙建军. 人参皂苷对心血管疾病的药理作用分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(103): 201.

[13] 白晶. 麦冬甙体皂苷和高异黄酮类成分的研究进展[J]. 北京联合大学学报, 2014, 28(2): 9-12.

[14] 张丽, 李晓南. 类固醇激素与中心性肥胖[J]. 医学综述, 2010, 16(7): 961-964.

[15] 陈瑞, 马宁宁, 范姗姗, 等. 基于代谢组学分析金芪降糖片改善 2 型糖尿病大鼠脂代谢紊乱的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(20): 102-107.

[16] STAIGER H, HÄRING H U. Adipocytokines: fat-derived humoral mediators of metabolic homeostasis [J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2005, 113(2): 67-79.

[17] 范丽娟, 李仲. LDL 受体介导的血浆低密度脂蛋白胆固醇的内吞[J]. 生命的化学, 2014, 34(3): 329-336.

[18] 孙丰卉, 王秋虹, 邱宗林, 等. 中医药治疗 2 型糖尿病胰岛素抵抗的机制研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(20): 4068-4072.

[19] 高倩, 贾玉枝, 付涛, 等. PPAR α 信号通路激活抵抗高脂和 Leptin 缺失诱导的肥胖和脂肪肝[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2015, 31(8): 815-826.

[责任编辑 刘德文]