

引用: 闫莉, 王林洋. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术和网络药理学探讨阿尔泰金莲花提取物抗炎药效物质及作用机制[J]. 中医导报, 2025, 31(7): 57-62.

# 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术和网络药理学探讨阿尔泰金莲花提取物抗炎药效物质及作用机制\*

闫莉<sup>1</sup>, 王林洋<sup>2</sup>

(1. 新疆医科大学中心实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830017)

[摘要] 目的: 分析阿尔泰金莲花提取物中的化学组分并挖掘其发挥抗炎作用的活性成分、作用靶点及通路。方法: 采用超高效液相色谱-四级杆串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术对阿尔泰金莲花提取物中的化学组分进行分析, 结合网络药理学和分子对接的方法预测和初步验证其发挥抗炎作用的活性成分、作用靶点及通路。结果: 阿尔泰金莲花提取物中共检测到 51 个化合物; 发挥抗炎作用的关键活性成分有荜苳苔、金丝桃苷、秦皮苷, 关键核心靶点有表皮生长因子受体(EGFR), 非受体酪氨酸激酶(SRC)、雌激素受体 1(ESR1)、丝裂原活化蛋白激酶 14(MAPK14)、热休克蛋白家族 A 成员 8(HSPA8); 富集分析得到信号通路 128 条; 分子对接验证表明, 关键活性成分与核心靶点有较强的结合力。结论: 阿尔泰金莲花中多含有黄酮、生物碱、酚酸类等成分, 其发挥抗炎作用是通过多成分、多靶点、多途径协同达成。

[关键词] 阿尔泰金莲花; 抗炎; 活性成分; 超高效液相色谱-四级杆串联飞行时间质谱; 网络药理学; 分子对接

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)07-0057-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.07.009

## Exploring the Anti-Inflammatory Substances and Mechanism of Action of *Trollius Altaicus* C. A. Mey Extract Based on UPLC-Q-TOF-MS and Network Pharmacology

YAN Li<sup>1</sup>, WANG Linyang<sup>2</sup>

(1. Central Laboratory, Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang 830011, China;

2. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang 830017, China)

[Abstract] Objective: To analyze the chemical components of *Trollius altaicus* C.A. Mey extract and identify its anti-inflammatory active ingredients, targets, and pathways. Methods: Chemical profiling was performed using ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). Network pharmacology and molecular docking were combined to predict and validate the active ingredients, targets, and pathways of anti-inflammatory effects. Results: A total of 51 compounds were detected in the extract. The key active ingredients that exert anti-inflammatory effects include orientin, hyperoside and fraxin. The key core targets include epidermal growth factor receptor(EGFR), sarcoma receptor coactivator (SRC), estrogen receptor 1 (ESR1), mitogen activated protein kinase 14 (MAPK14) and heat shock protein family A member 8 (HSPA8). Enrichment analysis revealed 128 signaling pathways. Molecular docking verification showed that the key active ingredients had strong binding affinity with the core target. Conclusion: *Trollius altaicus* C.A. Mey contains flavonoids, alkaloids, phenolic acids, and other components, and their anti-inflammatory effects are achieved through the synergistic action of multiple components, targets, and pathways.

[Keywords] *Trollius altaicus* C.A. Mey; anti-inflammatory; active substances; ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry; network pharmacology; molecular docking

\*基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2024D01C145)

通信作者: 闫莉, 女, 助理研究员, 研究方向为中药化学成分分析与活性筛选

炎症是机体对抗各种损伤因素的刺激所产生的防御反应。炎症参与多种疾病的发生和发展,如感染、肿瘤、神经系统疾病、心血管疾病、代谢综合征和变态反应等<sup>[1]</sup>。中药的抗炎活性已经被大量报道,临床上也广泛使用中药对抗炎症和免疫性疾病<sup>[2]</sup>,如麻杏石甘汤、小青龙汤、黄连温胆汤等中药复方<sup>[3-4]</sup>,以及单味药物黄芪、金银花、连翘、半夏等在临床上治疗炎症性疾病都取得了很好疗效<sup>[5]</sup>。清热解毒类中药性质寒凉,有良好的抗炎作用。阿尔泰金莲花(*Trollius altaicus* C. A. Mey.)为毛茛科金莲花属多年生草本植物的干燥花,是中国新疆地区常见的民间药材,多生长在准噶尔和阿爾泰山脉。它收载于《新疆药用植物志》中,阿尔泰金莲花药性苦,寒,具有清热解毒之功效<sup>[6]</sup>。研究表明,黄酮类、生物碱类、酚酸类为金莲花属植物含有较多的化学成分,且具有良好的抑菌、抗炎或者抗病毒等药理作用<sup>[7-8]</sup>。作为新疆资源药材,有关阿尔泰金莲花抗炎的物质基础和作用机制方面尚未有系统性的研究和报道。因此,本研究采用超高效液相色谱-四级杆串联飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术对阿尔泰金莲花提取物中的化学组分进行分析,并结合网络药理学的方法对其发挥抗炎作用的活性成分,作用靶点及通路进行预测,再通过分子对接的方法进行验证,为探索阿尔泰金莲花抗炎的作用机制及药效物质发现提供科学依据。

## 1 材 料

1.1 药材与试剂 阿尔泰金莲花采自新疆阿勒泰地区,经新疆医科大学中医学院中药资源教研室徐海燕教授鉴定为毛茛科金莲花属多年生草本植物阿尔泰金莲花(*Trollius altaicus* C. A. Mey.)的花。色谱级甲醇(批号:20210105)和乙腈(批号:20210104)均购自美国默克公司;质谱级甲酸铵(批号:20210106)购自美国默克公司;荳蔻苷(批号:BP1042)、牡荆素(批号:BP1447)、芹菜素(批号:BP0177)、槲皮素(批号:BP1187)、木犀草素(批号:BP0896)、山柰酚(批号:BP0820)、荳蔻素-2"-O-β-L-半乳糖苷(批号:BP0035)、合欢素(批号:BP0114)、金丝桃苷(批号:BP0202)对照品均购自成都普瑞法科技有限公司,纯度均≥98%。

1.2 主要仪器 SCIEX TripleTOF 5600型高分辨质谱仪(美国Applied Biosystems公司);NEXERA X2超高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司)

## 2 方 法

2.1 色谱条件 色谱柱为Waters HSS T3色谱柱(100.0 mm×2.1 mm,1.8 μm);流动相为乙腈:甲醇(1:1)(B)和含2 mmol/L甲酸铵的0.05%甲酸水(A),梯度洗脱(0.0~2.0 min,98%A;2.0~20.0 min,98%~2%A;20.0~25.0 min,2%A;25.0~25.1 min,2%~98%A;25.1~30.0 min,98%A);柱温为40℃,流速为0.3 mL/min,进样量为5 μL。

2.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正/负离子模式,采用IDA模式扫描,离子喷雾电压:(ESI+)5 500 V、(ESI-)4 500 V;碰撞电压(CE):35 eV;去簇电压(DP):85 V/-85 V;气帘气(CUR):35 psi;雾化气(gas1):60 psi;辅助加热气(gas2):60 psi;去溶剂温度(TEM):600℃;扫描范围(TOF MASSES):100~1 500;碰撞活化扫描(CES):15 eV。

2.3 供试品溶液的制备 阿尔泰金莲花药材粉碎,称取500 g,

加入10倍量乙醇浸泡30 min,回流提取1 h,滤过,冷冻干燥制备成冻干粉;精密称取提取物粉末100 mg,加入50%的甲醇水溶液1 mL,超声30 min。于4℃,13 000×g离心10 min后取上清,用于UPLC-Q-TOF-MS分析。

2.4 对照品溶液的制备 用甲醇将荳蔻苷、牡荆素、芹菜素、槲皮素、木犀草素、山柰酚、荳蔻素-2"-O-β-L-半乳糖苷、合欢素、金丝桃苷对照品溶解并配制成1 mg/mL的单一对照品储备液,-20℃贮存。取各100 μL的单一对照品储备液于10 mL量瓶中,用50%甲醇水溶液定容,制成各成分浓度均为10 μg/mL的混合对照品溶液。

2.5 阿尔泰金莲花活性成分筛选 将UPLC-Q-TOF-MS解析得到的阿尔泰金莲花成分上传至FAFDrug4(<https://fafdrugs4.rpbs.univ-paris-diderot.fr/>)数据库进行活性成分的筛选。

2.6 炎症靶点预测与筛选 将筛选出的阿尔泰金莲花活性成分结构导入PharmMapper(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmMapper/>)平台预测潜在的作用靶点,汇集靶点信息,使用UniProt(<http://www.uniprot.org/>)数据库进行校正。以炎症(inflammation)为关键词在GeneCards(<http://www.genecards.org/>)数据库中搜索,获得疾病靶点,取前10%作为候选靶点,利用Venny平台获得活性成分和炎症的交集靶点。

2.7 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction,PPI)网络构建 将得到的交集靶点借助String(<https://string-db.org/>)数据库,预测靶点间的蛋白质相互作用,构建PPI网络。使用Cytoscape 3.9.1软件进行分析,以大于度值、介数中心性值(betweenness centrality,BC)、接近中心性值(closeness centrality,CC)3项的平均值作为筛选条件,得到抗炎的核心靶点。

2.8 富集分析 利用David数据库(<https://david.ncicrf.gov/>)对潜在的核心靶点进行基因本体(gene ontology,GO)功能及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)通路富集分析。利用微生信(<http://www.Bioinformatics.com.cn/>)对得到的结果进行可视化分析。

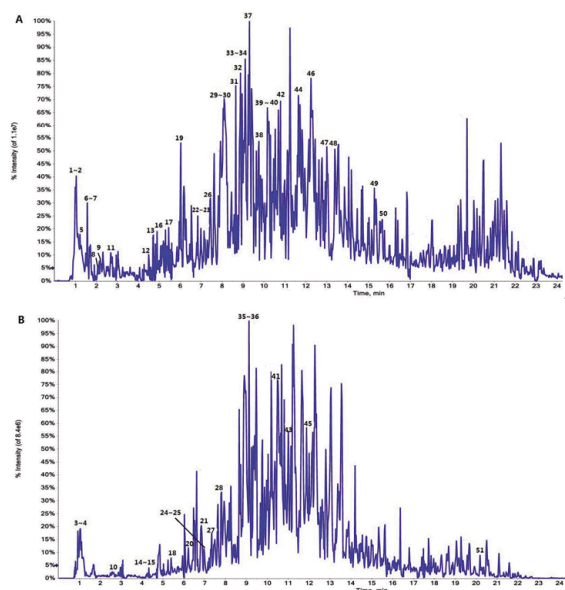
2.9 “活性成分-靶点-通路”网络构建 运用Cytoscape 3.9.1软件,构建“活性成分-靶点-通路”网络,根据网络拓扑参数degree值筛选出核心活性成分。

2.10 分子对接验证 将筛选出的核心活性成分与核心靶点依次通过分子对接的方式进行验证。在PDB网站下载蛋白靶点文件,PYMOl软件去掉水分子和配体获得单独蛋白结构,Autodock软件加氢、计算电荷,保存为PDBQT格式的文件。ZINC网站中下载活性成分文件,经由Autodock软件准备为PDBQT格式文件。最后通过Autodock软件进行对接,对接结果经由PYMOl软件进行可视化分析。

## 3 结 果

3.1 成分分析 实验采用UPLC-Q-TOF-MS技术对阿尔泰金莲花提取物进行定性分析,实验通过与对照品比对确定的化合物9个,通过文献和质谱信息推断的化合物42个。正/负离子下的总离子流图(TIC)见图1。通过UPLC-Q-TOF-MS检测得到提取物中化学成分的质谱相关信息,结合对照品及相关文献数据对比确认各化学成分,所检测到的51个化合物中,黄酮类成分15个、生物碱类成分5个、酚酸类成分8个、氨基酸类成分4个、有机酸类成分2个、萜类成分2个、维生素类成分3

个、核苷类成分6个、苯乙醇类成分1个、香豆素类成分4个、脂  
肪酸类成分1个。(见表1)



注:A.正离子模式下TIC图;B.负离子模式下TIC图。

图1 阿尔泰金莲花提取物正、负离子模式下TIC图

### 3.2 网络药理学预测分析

3.2.1 活性成分的筛选及抗炎靶点的预测 根据FAFDrugs4数据库筛选,筛选得到21种主要活性成分(见表1),结合相关文献报道将不符合筛选标准但药效作用确切的荜茇草、荜茇素-2"-O-β-L-半乳糖苷、金丝桃苷、秦皮苷4个阿尔泰金莲花成分进行补充,共得到25种潜在活性成分。将上述25种活性成分导入到PharmMapper平台,并通过UniProt数据库进行查询,去重后共收集到192个靶点。

3.2.2 炎症相关靶点筛选 通过GeneCards数据库中检索获得炎症相关的靶点1935个,与活性成分预测的192个靶点匹配后,得到39个交集的抗炎潜在作用靶点。(见图2)

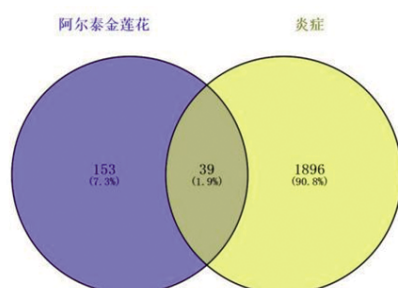


图2 药物与炎症靶点 Venn(韦恩)图

3.2.3 PPI网络构建 将上述Venn分析获得的39个靶点上传STRING平台,构建PPI网络,该网络有37个节点及133条边,进一步应用Cytoscape 3.9.1软件可视化分析,计算网络节点的拓扑参数,度值、BC、CC值。(见图3)圆形节点代表作用靶点,节点越大表示度值越大。筛选出大于3个参数中位数的数值,最终得到14个核心靶点。(见表2)

3.2.4 GO功能富集分析 利用David平台对14个核心靶点进行GO功能分析。以 $P < 0.01$ 为筛选条件,结果得到GO功能条目151个。其中生物过程相关119条,阿尔泰金莲花活性成分主要参与炎症反应的调节、蛋白激酶活性调控、血管内皮生长

因子受体信号通路等;细胞组成方面18条,主要参与囊泡腔,溶酶体、纤维蛋白等;分子功能14条,主要涉及丝氨酸型内肽酶活性、ATP酶结合、钙粘蛋白结合等。取生物过程、分子功能和细胞组成中排名前10的条目绘制成图(见图4)。这表明,阿尔泰金莲花提取物的抗炎作用是通过调控多种生物学途径发挥作用。

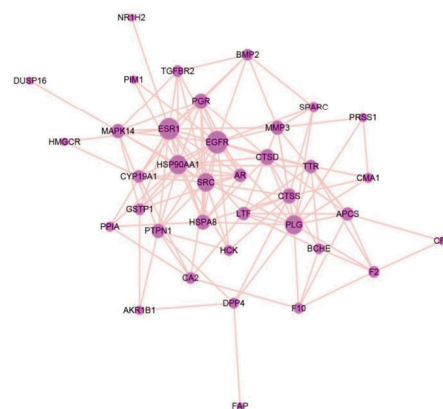


图3 PPI网络图

表2 核心靶点

靶点	度值	BC	CC
EGFR	19	0.154	0.655
ESR1	18	0.176	0.621
PLG	15	0.159	0.600
HSP90AA1	15	0.071	0.590
SRC	14	0.062	0.590
CTSD	11	0.072	0.554
CTSS	10	0.041	0.529
HSPA8	10	0.022	0.545
PTPN1	9	0.067	0.514
MAPK14	9	0.059	0.500
MMP3	9	0.046	0.545
TTR	8	0.034	0.522
LTF	8	0.034	0.529
CYP19A1	7	0.014	0.468

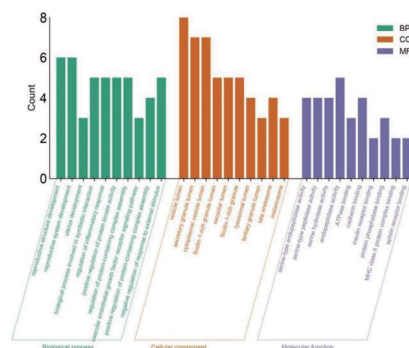


图4 GO功能富集分析图

3.2.5 KEGG通路富集分析 通过KEGG信号通路富集分析,共得到内分泌抵抗信号通路、脂质与动脉粥样硬化通路、抗原处理和呈递信号通路等128条。选取P值最小的前20条信号通路并绘制气泡图(见图5)。图中节点的大小,表示该通路上富集到靶点数量的多少。

表 1 阿尔泰金莲花提取物中化学成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 结果

序号	化合物	$t_R$ /min	化学式	理论值( $m/z$ )		实测值( $m/z$ )	误差/(mg/kg)	二级碎片离子( $m/z$ )
				[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>			
1	精氨酸 <sup>a</sup>	0.92	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	175.119 0		175.118 7	-1.6	70,60
2	葫芦巴碱	0.99	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	138.055 0		138.055 2	1.6	94,92
3	L-苹果酸 <sup>a</sup>	1.01	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>		133.014 2	133.014 8	4.3	115,72,71
4	柠檬酸 <sup>a</sup>	1.06	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>		191.019 7	191.019 9	0.7	111,87,85
5	缬氨酸	1.07	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	118.086 3		118.086 6	2.8	72,57,55
6	腺嘌呤	1.62	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub>	136.061 8		136.061 9	1.2	119,109
7	烟酸	1.65	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	124.039 3		124.039 4	0.9	80,78,53
8	次黄嘌呤	2.04	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O	137.045 8		137.046 2	3.1	110
9	维生素B6 <sup>a</sup>	2.18	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	170.081 2		170.081 0	-0.8	152,134
10	尿苷 <sup>a</sup>	2.53	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>		243.062 3	243.062 3	0.3	152,110
11	烟酰胺	2.61	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	123.055 3		123.055 4	0.6	80,53
12	鸟苷	4.34	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub>	284.098 9		284.099 2	1.0	152,135
13	肉桂酸	4.73	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	149.059 7		149.059 8	0.5	103,77
14	苯丙氨酸 <sup>a</sup>	4.75	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>		164.071 7	164.071 9	1.0	147,103
15	腺苷 <sup>a</sup>	4.79	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>		266.089 5	266.089 4	-0.2	150,134
16	虫草 <sup>a</sup>	4.97	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	252.109 1		252.109 3	0.7	136,119
17	胸腺嘧啶	5.40	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	127.050 2		127.050 2	-0.3	110,56,54
18	丹参素 <sup>a</sup>	5.42	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>		197.045 5	197.045 3	-1.0	197,179,135,123
19	藜本内酯 <sup>a</sup>	5.97	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	191.106 7		191.106 4	-1.2	191,173,149
20	色氨酸	6.21	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		203.082 6	203.082 8	1.2	142,116
21	红景天苷 <sup>a</sup>	6.82	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>		299.113 6	299.114 0	1.3	119,71,59
22	秦皮乙素	6.83	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	179.033 9		179.033 7	-0.8	151,133,123
23	秦皮甲素	6.85	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>9</sub>	341.086 7		341.088 3	4.6	177,133
24	去甲乌药碱 <sup>a</sup>	6.86	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub>		270.113 6	270.113 9	1.1	162,147
25	原儿茶醛	6.90	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>		137.024 4	137.024 6	1.4	136,108
26	6-甲基香豆素	7.46	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	161.059 7		161.059 0	-4.1	161,105
27	2-甲氧基肉桂酸	7.49	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>		177.055 7	177.055 8	0.7	177,131,107
28	香草酸	7.88	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>		167.035 0	167.035 2	1.4	152,108
29	木兰花碱	8.11	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	342.170 0		342.170 8	2.3	342,297,282,265,237
30	秦皮苷 <sup>a</sup>	8.12	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	371.097 3		371.097 5	0.6	209,194,149
31	荭草素-2"-O-β-L-半乳糖苷 <sup>a</sup>	8.67	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	611.160 0		611.160 7	2.3	449,431,413
32	荭草苷 <sup>a</sup>	8.90	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	449.107 8		449.109 2	3.0	431,413
33	金丝桃苷 <sup>a</sup>	8.97	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	465.102 8		465.103 6	1.9	465,303
34	槲皮素 <sup>a</sup>	8.99	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	303.013 5		303.012 5	-3.5	303,285
35	对香豆酸	9.09	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>		163.040 1	163.040 3	1.1	119
36	藜芦酸	9.11	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>		181.050 6	181.050 8	1.1	137,122,107
37	牡荆苷 <sup>a</sup>	9.46	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	433.112 9		433.113 6	1.5	433,415,397
38	山柰酚 <sup>a</sup>	9.63	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.055 0		287.054 9	-0.2	287,153,121
39	贝母素乙	10.03	C <sub>27</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>3</sub>	430.331 6		430.333 0	3.4	412
40	柚皮素 <sup>a</sup>	10.22	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	273.075 7		273.076 3	2.0	153,147
41	柚皮苷	10.24	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>		579.171 9	579.172 8	1.5	579,271,151
42	木犀草素 <sup>a</sup>	10.50	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	287.055 0		287.055 3	1.2	287,213,153
43	阿魏酸 <sup>a</sup>	11.02	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>		193.050 6	193.050 5	-0.8	178,134
44	牡荆素鼠李糖苷	11.72	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	579.149 7		579.150 8	2.0	415,313,147
45	蒙花苷	12.16	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>		591.171 9	591.174 1	3.7	283,268
46	柳穿鱼叶苷	12.19	C <sub>29</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	623.197 0		623.198 7	2.7	477,315
47	土木香内酯	13.09	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	233.153 6		233.153 2	-1.5	173,145,133
48	芹菜素 <sup>a</sup>	13.13	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	271.060 1		271.060 0	-0.3	271,153,119
49	金合欢素 <sup>a</sup>	15.35	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	285.075 7		285.075 3	-1.5	285,270,242
50	柳穿鱼黄素 <sup>a</sup>	15.63	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	315.086 3		315.086 3	-0.1	315,300,257
51	亚油酸	21.10	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>		279.233 0	279.232 8	-0.4	280,261

注: $t_R$ 为保留时间(retention times);a为筛选出做网络药理学的成分。

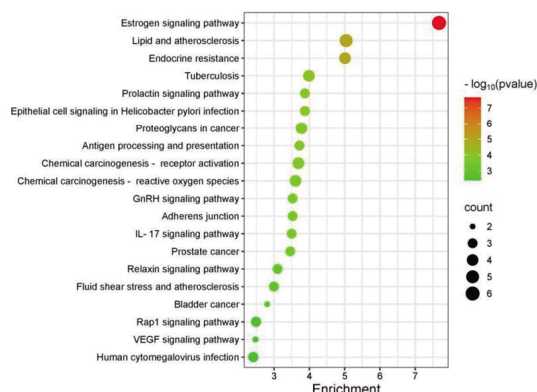


图5 KEGG通路富集分析图

3.2.6 “活性成分-靶点-通路”网络 将阿尔泰金莲花活性成分、基因靶点、前20条KEGG通路导入到Cytoscape软件,构建“活性成分-靶点-通路”网络。(见图6)该网络共有60个节点,148条边,图中正中心节点TA表示阿尔泰金莲花,紧接着的黄色节点代表活性成分,共25个;紫色节点代表核心潜在作用靶点,14个;红色节点代表通路,共20条。节点的大小与度值正相关。根据网络拓扑参数degree值进行排序,筛选出排名靠前的活性成分分别是荭草苷(orientin)、金丝桃苷(hypericin)秦皮苷(fraxin)。排名前5的核心靶点为表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、非受体酪氨酸激酶(sarcoma receptor coactivator, SRC)、雌激素受体1(estrogen receptor 1, ESR1)、丝裂原活化蛋白激酶14(mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14)及热休克蛋白家族A成员8(heat shock protein family A member 8, HSPA8)。

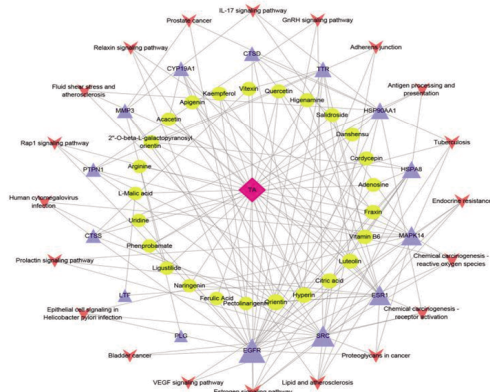


图6 “活性成分-靶点-通路”网络图

3.2.7 分子对接验证 将关键活性成分荭草苷(orientin)、金丝桃苷(hypericin)、秦皮苷(fraxin)及关键靶点(EGFR、SRC、ESR1、MAPK14、HSPA8)进行分子对接。(见图7)当对接结果中的结合能越低,表明结合力越强,一般认为结合能 $\leq -5.0$  kcal/mol,表明成分与靶点间有较好的结合活性。图中红色颜色越深则表明结合力越强,选取结合力 $< -6.0$  kcal/mol对接结果用PYMOL可视化分析。(见图8)

#### 4 讨论与结论

4.1 阿尔泰金莲花的化学成分 阿尔泰金莲花(*Trollius altaicus* C. A. Mey.)在民间被广泛用作茶来清除去热毒。其药味苦、性寒,具有清热解毒,止血止咳等功效<sup>[9]</sup>,可用于治疗上呼吸道感染、急慢性咽炎、扁桃体炎、疮疡多脓、脉伤出血、淋巴结

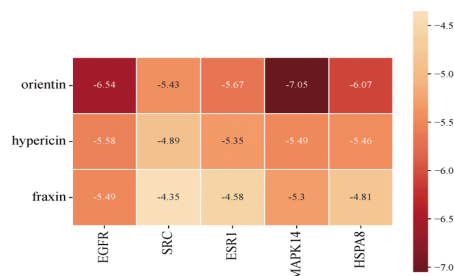


图7 分子对接结果热图

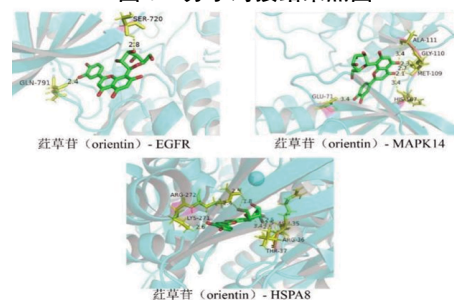


图8 分子对接示意图

肿、喉咙肿痛等疾病。研究表明,阿尔泰金莲花中含有黄酮、香豆素、生物碱、糖类、有机酸及甾体类化合物等成分<sup>[10]</sup>。其中黄酮类化合物是其含有的最为主要的化学成分,少数黄酮类成分以游离形式存在,多数以黄酮苷形式存在。现代研究中对黄酮类物质关注度较大,其含有的总黄酮对肺纤维化、慢性阻塞性肺病以及急性肺损伤均有保护作用<sup>[11-13]</sup>。本研究通过UPLC-Q-TOF-MS技术从阿尔泰金莲花提取物中检测到51个化合物,其中黄酮类成分15个、生物碱类成分5个、酚酸类成分8个、氨基酸类成分4个、有机酸类成分2个、脂肪酸类成分1个、萜类成分2个、维生素类成分3个、核苷类成分6个、苯乙醇类成分1个及香豆素类成分4个。黄酮类成分和酚酸类成分是其含有最多的化学成分。

4.2 阿尔泰金莲花抗炎的核心靶点 结合网络药理学筛选,得到抗炎相关靶点192个。与疾病数据库靶点交集后得到39个阿尔泰金莲花抗炎潜在靶点。通过构建PPI网络,得到14个核心靶点,包括EGFR、ESR1、PLG、HSP90AA1、SRC、CTSD、CTSS、HSPA8、PTPN1、MAPK14、MMP3、TTR、LTF以及CYP19A1。EGFR属于酪氨酸激酶受体,自磷酸化可以引导下游的磷酸化,包括MAPK、蛋白激酶B(Akt)和c-Jun氨基末端激酶(JNK)通路,这些通路都与炎症息息相关<sup>[14]</sup>。HSP90AA1被认为是炎症相关肿瘤与炎症性疾病潜在的治疗靶点,在诊断和预测预后中具有重要的价值<sup>[15]</sup>。PLG是一种血纤维蛋白溶酶原,在人体中,PLG缺乏会导致严重的黏膜炎症相关疾病。纤维蛋白溶酶原可以促进纤维蛋白溶解并增强炎症反应,而抑制纤溶酶原激活物因子表达可减轻炎症反应<sup>[16]</sup>。SRC是一种非受体蛋白酪氨酸激酶,主要在中性粒细胞中表达。在炎症过程中,黏附和迁移都是中性粒细胞募集的关键步骤, SRC可以调节中性粒细胞的多种功能,如活性氧(ROS)的产生、网络形成、整合素的激活及向炎症部位的迁移<sup>[17]</sup>。推测以上靶点为阿尔泰金莲花发挥抗炎作用的核心靶点。

4.3 阿尔泰金莲花抗炎的通路分析 为进一步研究阿尔泰金莲花抗炎的潜在机制,对14个核心靶点进行通路富集分



析, Estrogen signaling pathway(雌激素信号通路)、lipid and atherosclerosis(脂质与动脉粥样硬化)、白介素-17(IL-17)、血管内皮生长因子(VEGF)信号通路等P值的显著性较高( $P < 0.01$ ), 可能是其发挥抗炎作用的途径。IL-17信号转导通路是一个重要的药物作用靶点。IL-17是一种前炎症细胞因子, 由T辅助17细胞(Th17)产生, IL-17下游介导MAPK/p38、核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)及肿瘤坏死因子(TNF)等炎症相关通路, 在抗感染和炎症反应中起着关键作用<sup>[18]</sup>。VEGF又称血管通透因子(VPF), 是一种二聚体糖蛋白, 与细胞表面的VEGF受体结合, 从而激活细胞内酪氨酸激酶。VEGF可通过增强血管内皮细胞的通透性和黏附分子表达, 参与炎症反应<sup>[19]</sup>。此外, VEGF还能刺激细胞分泌其他炎症因子, 如IL-6、IL-8等, 进一步加剧炎症反应<sup>[20]</sup>。推测阿尔泰金莲可能通过以上通路发挥抗炎效应。

4.4 阿尔泰金莲花抗炎的关键核心成分 通过“活性成分-靶点-通路”网络分析, 荳蔻苷、金丝桃苷、秦皮苷是阿尔泰金莲花抗炎的关键活性成分。有研究表明, 荳蔻苷可以显著降低细胞的炎症因子水平, 升高细胞抗氧化因子水平及抗氧化蛋白的表达, 有效降低细胞内的ROS水平改善细胞的炎症水平<sup>[21]</sup>。金丝桃苷可以降低p44/p42 MAPK、JNK分子的表达而下调诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达, 减少NO产生来发挥抗炎作用<sup>[22]</sup>。秦皮苷可减轻脂多糖(LPS)诱导的肺炎小鼠肺组织炎症和氧化损伤, 下调NF- $\kappa$ Bp65、Toll样受体4(TLR4)、iNOS蛋白水平, 其机制可能与TLR4/NF- $\kappa$ B有关<sup>[23]</sup>。基于此, 将3种活性成分与靶点通过分子对接方式进行进一步验证, 结果表明均具有较好的结合活性, 特别是荳蔻苷, 与5个靶点的部分结合力 $< -6.0$  kcal/mol。

4.5 结论 由此可见, 阿尔泰金莲花可能通过荳蔻苷、金丝桃苷、秦皮苷, 作用于EGFR、SRC、ESR1、MAPK14、HSPA8等关键核心靶点, 调控Estrogen signaling pathway、lipid and atherosclerosis、IL-17、VEGF等信号通路发挥抗炎作用。该结论为进一步探索阿尔泰金莲花抗炎的作用机制及药效物质发现提供科学依据。

## 参考文献

- [1] 罗文, 阮自良, 袁长飞, 等. 基于TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路探究七龙天胶囊减少M1巨噬细胞极化抑制急性肺损伤炎症反应的机制研究[J]. 中药材, 2024, 47(9): 2345-2349.
- [2] ROLNIK A, OLAS B. The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(6): 3009.
- [3] 马媛虹, 程淼, 李长安, 等. 麻杏石甘汤辅助治疗肺系疾病的研究[J]. 世界中医药, 2023, 18(18): 2696-2700.
- [4] 杜芳, 杨阳, 于海洋, 等. 小青龙汤对哮喘小鼠肺组织炎症和TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响[J]. 中药材, 2023, 46(12): 3104-3108.
- [5] 武振帅, 纪鹏, 魏彦明, 等. 黄芩-连翘配伍对脂多糖诱导小鼠急性肺炎模型的保护作用[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 800-809.
- [6] 姜敏, 田树草, 李柯翔, 等. 阿尔泰金莲花提取物抑制变异链球菌乳酸脱氢酶活性及抗氧化活性研究[J]. 化学与生物工程, 2020, 37(9): 44-49.
- [7] 尚耀民, 邢宝春, 胡旭, 等. 阿尔泰金莲花总黄酮通过miR-23b-3p抑制RSV感染支气管上皮细胞凋亡和炎症反应的分子机制研究[J]. 中医药信息, 2022, 39(9): 33-38.
- [8] 司丽君, 王林林, 黄华, 等. 阿尔泰金莲花有效成分抗炎作用的研究[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(5): 49-54.
- [9] 希力阿扎提·阿不力米提. 阿尔泰金莲花有效成分的提取分离及其抗炎活性的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2020.
- [10] 宋冬梅. 阿尔泰金莲花的资源及质量控制研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005.
- [11] 王依婷, 彭伟文, 王珠强, 等. 黄酮类成分抗肺纤维化的作用机制研究进展[J]. 中国药房, 2023, 34(23): 2939-2944.
- [12] 李亚县. 阿尔泰金莲花总黄酮对慢性阻塞性肺疾病的干预作用及机制研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2022.
- [13] 陈文龙, 由淑萍, 赵军, 等. 阿尔泰金莲花浸膏粉对PM2.5致大鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 癌变·畸变·突变, 2019, 31(1): 22-28.
- [14] 陈小霞. 基于炎症机制探讨安肠汤对IBS-D大鼠结肠组织TLR4、p38 MAPK、IL-17的影响[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2023.
- [15] YAN X, ZENG R X, CAO Y J. Astragaloside IV confronts amyloid-beta-induced astrocyte senescence via hsp90aa1[J]. J Appl Biomed, 2024, 22(3): 129-135.
- [16] LUO W Q, LI Y Y, XIANG C Y, et al. Nanomaterials as therapeutic agents to modulate astrocyte-mediated inflammation in spinal cord injury[J]. Mater Today Bio, 2023, 23: 100888.
- [17] BRIAN B F, FREEDMAN T S. The src-family kinase lyn in immunoreceptor signaling[J]. Endocrinology, 2021, 162(10): bqab152.
- [18] 刘斌. IL-17A调控糖酵解促进肺泡巨噬细胞向M1亚型极化参与SWCNT诱导的肺部炎症和纤维化的研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2024.
- [19] 谢彤昕, 徐扬, 薛群, 等. 地塞米松对LPS诱导急性肺损伤小鼠早期肺部炎症及VEGF的影响[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(10): 1997-1998.
- [20] 朱振华, 左志城, 周聚普, 等. VEGF/Akt信号通路在骨折大鼠愈合中作用机制及对炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 的影响[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(3): 696-700.
- [21] YU Y, PEI F S, LI Z M. Orientin and vitexin attenuate lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 cells: A molecular docking study, biochemical characterization, and mechanism analysis[J]. Food Sci Hum Wellness, 2022, 11(5): 1273-1281.
- [22] 杨莺, 姚新月, 李海波. 山楂叶金丝桃苷对LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞炎症反应的抑制作用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(6): 944-949, 1040.
- [23] 徐宜全, 蔡忠贵, 潘延成. 秦皮苷减轻LPS诱导的肺炎小鼠肺组织炎症和氧化损伤[J]. 免疫学杂志, 2021, 37(9): 809-815.

(收稿日期: 2025-02-12 编辑: 刘国华)