

三黄汤降糖降脂活性成分的多靶标亲和超滤质谱研究

徐勇兵^{1,2,3}, 郭明全^{1,2,3}

(1. 中国科学院宁波材料技术与工程研究所, 先进诊疗材料与技术实验室, 浙江 宁波 315201; 2. 宁波慈溪生物医学工程研究所, 浙江 宁波 315300; 3. 中国科学院武汉植物园, 植物种质创新与特色农业重点实验室, 湖北 武汉 430074)

摘要: 三黄汤是传统的中药复方, 临床上被用于治疗糖尿病和肥胖已有上千年的历史, 但三黄汤中具有显著降血糖和降血脂作用的活性成分及其作用机制仍不清楚。为此, 本研究首先测试三黄汤对 α -葡萄糖苷酶(α -Glu)和脂肪酶(LP)的抑制活性, 然后分别以 α -Glu、 α -淀粉酶(α -Amy)和 LP 这 3 个靶酶为靶标, 采用多靶标亲和超滤质谱技术从三黄汤中筛选出 24、17 和 25 种分别能够与 α -Glu、 α -Amy 和 LP 结合的潜在活性配体, 其中, 表儿茶素-3-O-没食子酸酯等多个成分具有显著的降糖和降脂活性。随后, 对筛选出的部分代表性活性成分进行分子对接验证。本研究结合 3 种糖脂代谢相关药物靶标, 采用多靶标亲和超滤质谱技术探究三黄汤复方中潜在的降糖降脂活性成分, 并据此构建多成分多靶标作用网络图, 可为阐明降糖降脂活性物质基础和防治肥胖和糖尿病的临床应用提供理论依据。

关键词: 亲和超滤质谱; 三黄汤; 降糖; 降脂; 分子对接

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2024)06-0810-13

DOI: 10.7538/zpxb.2024.0099

CSTR: 32365.14.zpxb.2024.0099

Study on Hypoglycemic and Hypolipidemic Compounds in Sanhuang Decoction by Multi-target Affinity Ultrafiltration LC-MS

XU Yong-bing^{1,2,3}, GUO Ming-quan^{1,2,3}

(1. Laboratory of Advanced Theranostic Materials and Technology, Ningbo Institute of Materials Technology and Engineering, Chinese Academy of Sciences, Ningbo 315201, China; 2. Ningbo Cixi Institute of Biomedical Engineering, Ningbo 315300, China; 3. Key Laboratory of Plant Germplasm Enhancement and Specialty Agriculture, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

Abstract: Sanhuang decoction, a traditional Chinese medicine prescription, was firstly described in Golden Chamber by Zhang Zhongjing in the Han Dynasty, and has been used clinically for thousands of years to treat diabetes and obesity. However, the specific bioactive compounds being responsible for the hypoglycemic and hypolipidemic effects of Sanhuang decoction and the underlying therapeutic mechanism remain elusive, and further research efforts are in great need. Hence, the aim of this study was to discover the potential hypoglycemic and hypolipidemic phytochemicals in Sanhuang decoction and to explore their potential mechanisms of action. Here, the *in vitro* α -glucosidase (α -Glu) and lipase (LP) inhibitory activities of Sanshuang decoction were determined,

and the results showed that Sanhuang decoction possesses significant α -Glu and LP inhibitory activities *in vitro*. Then, 24, 17 and 25 potential bioactive ligands in Sanhuang decoction are successfully captured by combining affinity ultrafiltration liquid chromatography-mass spectrometry with three drug targets, namely α -Glu, α -amylase (α -Amy) and LP, respectively. These potential bioactive ingredients fished out from Sanhuang decoction exhibit various binding capacities to α -Glu, α -Amy and LP, respectively. Thereof, epicatechin-3-*O*-gallate possesses significant hypoglycemic and hypolipidemic effects. Finally, some representative active ligands were further verified with molecular docking assay, and the molecular docking results are consistent with those of affinity ultrafiltration. Furthermore, in addition to hydrogen bond (H-bond), there are various other interaction forces between these potential bioactive ingredients and their corresponding target enzymes, such as Pi-Sigma, Pi-Pi T-shaped and Pi-Alkyl interactions. In this study, the potential hypoglycemic and hypolipidemic constituents in Sanshuang decoction were explored and identified by using affinity ultrafiltration liquid chromatography-mass spectrometry with three drug targets tightly correlating to the metabolisms of blood sugar and lipids in the human body, and the effective material basis of Sanshuang decoction can thus be preliminarily clarified. In this way, the interaction network among these bioactive compounds and three drug targets were constructed, thus providing theoretical support for the clinical applications of Sanhuang decoction for the treatments of obesity and diabetes.

Key words: affinity ultrafiltration mass spectrometry; Sanhuang decoction; hypoglycemic activity; hypolipidemic activity; molecular docking

糖尿病和肥胖症均为慢性代谢性疾病,通常表现为血糖持续升高或高脂血症,进而引发各种并发症。糖尿病和肥胖症不仅危害人体健康,而且严重影响患者的生活质量^[1]。大量研究表明,多种酶在上述疾病的发生和发展中起着重要作用,如 α -葡萄糖苷酶(α -Glu)和 α -淀粉酶(α -Amy)是稳定血糖水平的2种关键酶^[2],也是防治糖尿病药物研发的2种关键靶酶。而脂肪酶(LP)在脂质代谢相关疾病,特别是在肥胖症中起着重要作用,因此,被认为是肥胖症药物研发的重要靶点^[3]。另一方面,已发现一些治疗糖尿病和肥胖症的临床药物(如阿卡波糖和奥利司他等)存在多种毒副作用,例如腹泻、胀气、腹痛、皮疹、油便和肝毒性等^[4-6]。因此,从天然产物中筛选和研发具有很小甚至无毒副作用的防治药物不仅至关重要,而且非常迫切。基于糖脂代谢相关药物靶标,如 α -Glu、 α -Amy和LP,从中药中筛选和挖掘相关酶抑制剂类活性成分,不仅有助于揭示中药的作用机制,而且有助于研发防治高血糖和高脂血症的创新天然药物。

中医药是中华民族的瑰宝,有着悠久的历史,广泛应用于慢性代谢性疾病的治疗。三黄汤,又名三黄泻心汤,是传统的中药复方,由大黄、黄连和黄芩以2:1:1比例组成,最早记载于

汉代张仲景的《金匱要略》,用于治疗糖尿病及其相关的代谢紊乱综合征^[7-8]。现代药理学研究表明,三黄汤具有显著的降糖降脂功效^[9-10],但其发挥降糖降脂的具体功效成分及相关作用机制仍然未知。因此,探究三黄汤中潜在的降糖降脂活性成分,明晰其潜在的降糖降脂化学物质基础,可为三黄汤在临床上的应用及创新中药研发提供科学依据。

近几十年来,亲和超滤质谱技术越来越多地被用于单味中药降糖降脂有效成分的筛选^[11],但对复方药效物质的筛选研究则较少。这主要是由于一方面复方组方多、化学物质高度复杂;另一方面,肥胖和高脂血症的发病机制复杂,药物靶标众多,靶标选择难度较大。当前,对于肥胖和高脂血症及其并发症的防治,联合用药和多靶点化合物的开发受到日益关注^[12]。三黄汤含有多种化学成分,可以通过多种靶点、多条途径调节机体内糖脂代谢过程,实现对糖尿病和肥胖症的防治,其作用与 α -Glu、 α -Amy和LP密切相关。

本研究拟首先对三黄汤进行体外 α -Glu和LP抑制试验,基于测试结果,以 α -Glu、 α -Amy和LP为多靶点,采用多靶标亲和超滤质谱技术从三黄汤复方中筛选出潜在的活性成分。随后,通过分子对接模拟进一步验证筛选出的潜在活性

化合物, 希望为阐明三黄汤中潜在的降糖降脂物质基础, 为三黄汤治疗肥胖症和糖尿病的临床应用及其后续创新中药研发提供理论支持。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

1290 Infinity II 型超高效液相色谱-6530 型四极杆飞行时间质谱仪: 美国安捷伦公司产品, 配有电喷雾离子源和 MassHunter 数据处理系统; 5810R 型冷冻离心机: 德国艾本德股份公司产品; 富兴电子万用炉: 江苏兴化沪兴电热器厂产品; HZQ-X100 型恒温振荡培养箱: 江苏太仓市豪诚实验仪器制造有限公司产品; FA1104 万分之一电子天平: 上海越平科学仪器有限公司产品; EPED-E2-10TS 实验室级超纯水器: 南京易普易达科技发展有限公司产品; M200 PRO 多功能全波长酶标仪: 瑞士帝肯公司产品; HH-2 数显电子恒温水浴锅: 常州国华电器有限公司产品。

1.2 材料与试剂

大黄、黄连和黄芩药材: 购自武汉神草中药饮片有限公司, 经中国科学院武汉植物园植物学家胡光万研究员鉴定, 分别为蓼科大黄属植物唐古特大黄 (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.) 的干燥根茎、毛茛科黄连属植物黄连 (*Coptis chinensis* Franch.) 的干燥根茎、唇形科黄芩属植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥根; 汉黄芩苷 ($\geq 95\%$) 和千层纸素 A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷 ($\geq 98\%$): 成都普思生物科技股份有限公司产品; 黄芩苷 ($\geq 98\%$): 北京迈瑞达科技有限公司产品; α -淀粉酶 (50 U/mg protein): 上海麦克林生化科技股份有限公司产品; 乙腈和甲酸 (色谱级)、4-硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (*p*-NPG, $\geq 99\%$)、4-硝基苯丁酸酯 (*p*-NPB, $\geq 98\%$) 和 α -葡萄糖苷酶 (10 U/mg protein): 上海西格玛奥德里奇贸易有限公司产品; 胰脂肪酶 (30 U/mg protein) 和阿卡波糖 ($\geq 95\%$): 上海源叶生物科技有限公司产品。

1.3 三黄汤复方的提取

分别取 20、10、10 g 大黄、黄连和黄芩, 加入 10 倍量的超纯水, 浸泡 30 min 后煮沸, 并保持微沸状态 1 h, 高速离心, 取上清液; 再加入 8 倍量的水煮沸, 并保持微沸状态 1 h, 离心后合并 2 次上清液, 经旋转蒸发器浓缩后再冷冻干燥, 得三黄汤提取物。

1.4 α -葡萄糖苷酶体外酶活抑制试验

首先, 将 20 μ L 稀释后的不同浓度的三黄汤样品 (PBS 缓冲液, pH 6.8) 和 10 μ L 1 U/mL α -Glu 溶液 (PBS 缓冲液, pH 6.8) 以及 150 μ L 缓冲液混合, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min; 随后, 加入 20 μ L 0.5 mmol/L *p*-NPG 底物溶液进行反应, 37 $^{\circ}$ C 继续孵育 10 min; 再加入 20 μ L 0.2 mol/L 碳酸钠溶液终止反应; 最后, 在 405 nm 处读取吸光度。其中, 阿卡波糖作为阳性药。样品对 α -Glu 抑制率 (%) 的计算如下:

$$\text{抑制率}(\%) = [1 - (OD_s - OD_{sb}) / (OD_c - OD_{cb})] \times 100 \quad (1)$$

式中, OD_s 为有 α -Glu 样品组的吸光度, OD_{sb} 为没有 α -Glu 样品组的吸光度, OD_c 为 α -Glu 活性 100% 的吸光度, OD_{cb} 为没有 α -Glu 空白对照组的吸光度。

1.5 脂肪酶体外酶活抑制试验

首先, 分别将 50 μ L 缓冲液、50 μ L LP 溶液 (0.5 g/L) 和 50 μ L 不同浓度的三黄汤样品溶液 (PBS 缓冲液, pH 7.4) 依次加入到 96 孔板中, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min, 然后加入 50 μ L 底物 (*p*-NPB, 20 mmol/L) 进行反应, 再在 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min 后, 于 405 nm 处测定吸光度。其中, 脂脉康作为阳性药。样品对 LP 抑制率的计算同式(1)。

1.6 亲和超滤筛选

1.6.1 α -葡萄糖苷酶超滤步骤 首先, 用 pH 6.8 PBS 缓冲液配制 4 g/L 三黄汤提取物母液, 然后将 20 μ L α -Glu 溶液 (4 U, pH 6.8) 与 100 μ L 三黄汤提取物母液混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中孵育 40 min; 孵育完成后, 将反应液转移至 30 ku 超滤管中, 以 10 000 r/min 离心 10 min; 再加入 200 μ L PBS 缓冲液 (pH 6.8), 继续以 10 000 r/min 离心 10 min; 洗去未结合的化合物, 重复润洗 3 次, 弃去所有洗脱溶液; 然后再加入 200 μ L 90% 甲醇溶液, 静置 10 min 后, 以 10 000 r/min 离心 10 min; 解离与 α -Glu 特异性结合的潜在活性成分, 重复该步骤 3 次; 收集所有解离的溶液, 氮吹仪吹干后用 50 μ L 甲醇复溶, 进行 LC-MS 分析。同时, 正常酶经沸水处理 15 min 作为阴性对照, 其余操作步骤与活酶组相同。

1.6.2 α -淀粉酶超滤步骤 首先, 用 pH 7.4 PBS 缓冲液配制 4 g/L 三黄汤提取物母液, 然后将 40 μ L α -Amy 溶液 (50 U, pH 7.4) 与 100 μ L 三黄

汤提取物母液混匀后置于 37 °C 水浴中孵育 40 min; 孵育完成后, 将反应液转移至 10 ku 超滤管中, 并以 10 000 r/min 离心 10 min; 之后的洗脱和解离步骤同 1.6.1 节, 最后收集解离液, 氮吹仪吹干后用 50 μ L 甲醇复溶, 然后进行 LC-MS 分析。同时, 正常酶经沸水处理 15 min 作为阴性对照, 其余操作步骤与活酶组相同。

1.6.3 脂肪酶超滤步骤 首先, 用 pH 7.4 PBS 缓冲液配制 4 g/L 三黄汤提取物母液, 然后将 100 μ L LP 溶液(2 g/L, pH 7.4)与 100 μ L 三黄汤提取物母液混匀后置于 37 °C 水浴中孵育 40 min; 孵育完成后, 将反应液转移至 10 ku 超滤管中, 并以 10 000 r/min 离心 10 min; 之后的洗脱和解离步骤同 1.6.1 节, 最后收集解离液, 氮吹仪吹干后用 50 μ L 甲醇复溶, 然后进行 LC-MS 分析。同时, 正常酶经沸水处理 15 min 作为阴性对照, 其余操作步骤与活酶组相同。

1.7 实验条件

1.7.1 色谱条件 Waters ACQUITY Sunniest C18 HT 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm \times 1.7 μ m); 柱温 30 °C; 进样体积 10 μ L; 进样流速 200 μ L/min; 流动相: A 为含 0.1%甲酸的水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱程序: 0~35 min(5%~55%B)。

1.7.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), 采用正、负离子模式采集质谱信息; 质量扫描范围 m/z 100~1 000; 喷雾电压 3 kV; 毛细管温度 350 °C; 气化温度 300 °C; 质谱数据采用自动二级 MS/MS 扫描模式获取, 安捷伦 MassHunter 工作站分析。

1.8 分子对接

使用 AutoDockVina1.5.6 和 DiscoveryStudio4.5 软件对三黄汤提取物中的潜在活性配体与 α -Glu、 α -Amy 和 LP 进行分子对接模拟。首先, 从 RCSB 蛋白数据库(www.rcsb.org)下载 α -Glu(PDB 编号: 3A4A)、 α -Amy(PDB 编号: 1OSE)和 LP(PDB 编号: 1LPB)的 3D 晶体结构。然后, 使用 ChemBio3DUltra14.0 软件对从三黄汤复方中筛选出的潜在活性配体进行处理, 建立具有最低能量的 3D 结构。随后, 通过 AutoDockTools 去除水分子、加入氢原子、计算电荷等步骤, 对配体和受体的 3D 结构进行处理。利用 Discovery Studio4.5 软件获取 α -Glu、 α -Amy 和 LP 的活性对接位点。其中, α -Glu 活性位点的坐标为 $X=21.519$ 、 $Y=-7.702$ 、 $Z=23.554$; α -Amy 活性位点的坐标为

$X=35.662$ 、 $Y=37.374$ 、 $Z=-1.203$; LP 活性位点的坐标为 $X=2.736$ 、 $Y=24.583$ 、 $Z=31.185$ 。对接框以受体活性位点为中心, 尺寸为 60 $\text{Å}\times$ 60 $\text{Å}\times$ 60 Å 。最后, 使用 AutoDock Tools 其他默认参数和 Genetic Algorithm 遗传算法, 对配体和受体进行 50 次独立运算。另外, 在分子对接模拟中, 将阿卡波糖作为 α -Glu 和 α -Amy 的阳性药物, 奥利司他作为 LP 的阳性药物。

2 结果与讨论

2.1 三黄汤降糖降脂活性分析

α -Glu、 α -Amy 和 LP 是人体碳水化合物和脂肪水解的重要靶酶, 在治疗糖尿病和肥胖症中具有重要意义^[13-14]。因此, 近几十年来, 具有 α -Glu、 α -Amy 和 LP 抑制活性的药用植物受到关注。然而, 关于三黄汤对 α -Glu 和 LP 体外抑制活性的研究未见报道。

为评估三黄汤的降糖和降脂能力, 本研究对其进行了 α -Glu 和 LP 的体外活性抑制试验。结果表明, 三黄汤对 α -Glu 具有较好的抑制活性, 其 IC_{50} 值为(1 405.68 \pm 89.34) mg/L, 示于图 1a; 而阳性对照阿卡波糖的 IC_{50} 值为(127.69 \pm 10.17) mg/L, 示于图 1b。对于中药复方的 α -Glu 抑制活性的研究报道较少, 研究人员比较了不同浓度的自拟芪麦汤对 α -Glu 的抑制活性, 结果表明, 自拟芪麦汤对 α -Glu 具有较好的抑制作用, 且呈浓度依赖性, 其水煎醇提液在 10 g/L 时对 α -Glu 的抑制率为 48.2%^[15]。另外, 本研究发现, 三黄汤具有较好的 LP 抑制活性, 其 IC_{50} 值为(4.30 \pm 0.31) g/L, 示于图 2a; 而阳性对照脂脉康的 IC_{50} 值为(4.19 \pm 0.16) g/L, 示于图 2b, 表明三黄汤对 LP 的抑制效果与阳性药脂脉康相当。

2.2 亲和超滤筛选

近年来, 亲和超滤筛选技术越来越多地被用于单味中药生物活性成分的筛选^[16]。大量研究表明^[9,17], 三黄汤具有防治糖尿病和肥胖的潜力。因此, 本研究采用多靶标亲和超滤质谱技术在正、负离子模式下筛选三黄汤复方中潜在的降糖降脂活性成分。结果表明, 从三黄汤复方中分别筛选出 24、17、25 个与 α -Glu、 α -Amy 和 LP 具有不同亲和力的潜在活性配体, 示于图 3、4。

在负离子模式下, 三黄汤复方中分别有 20、12、20 个能够与 α -Glu、 α -Amy 和 LP 具有不同亲

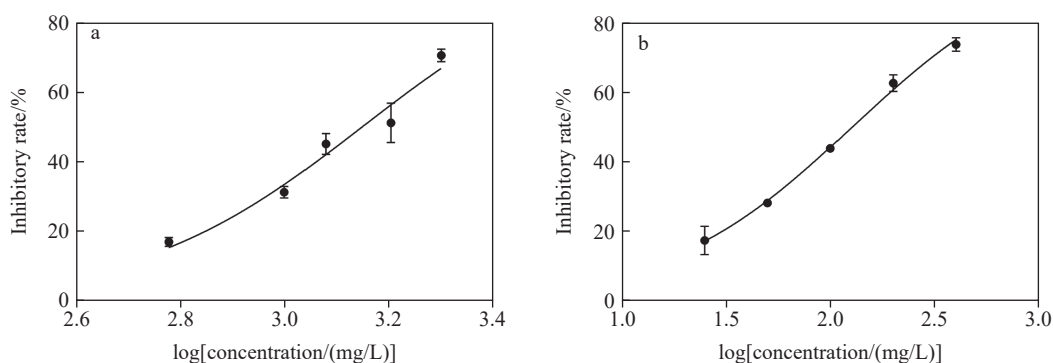
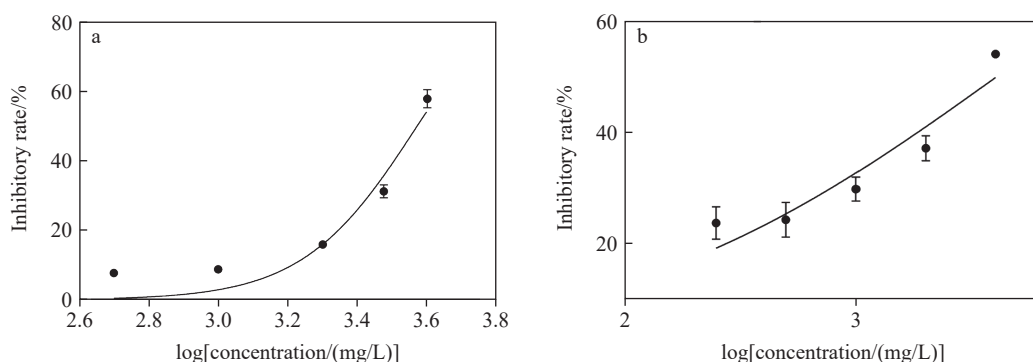
图1 三黄汤(a)和阿卡波糖(b)的 α -葡萄糖苷酶抑制活性Fig. 1 α -Glu inhibitory activities of Sanhuang decoction (a) and acarbose (b)

图2 三黄汤(a)和脂脉康(b)的脂肪酶抑制活性

Fig. 2 LP inhibitory activities of Sanhuang decoction (a) and Zhimaikang capsule (b)

和力的潜在活性配体;在正离子模式下,三黄汤复方中分别有4、5、5个能够与 α -Glu、 α -Amy和LP具有不同亲和力的潜在活性配体。可知,三黄汤中多数潜在的降糖降脂活性成分是在负离子模式检测到的。

结合度(binding degree, BD)值用于评价靶酶与潜在活性配体的结合能力^[18],其计算公式如下:

$$\text{结合度}(\%) = [(S_1 - S_2) / S_1] \times 100 \quad (2)$$

式中, S_1 和 S_2 分别为图3、4中活酶和失酶中泻心汤与 α -Glu、 α -Amy和LP的测试样品中各化合物的峰面积。

三黄汤中潜在活性配体的BD值列于表1、2。其中,对于 α -Glu,表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯的BD值最高,为44.04%;大黄素-8-*O*-葡萄糖苷的BD值最低,为8.23%。对于 α -Amy,表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯的BD值最高,为69.63%;大黄素的BD值最低,为4.63%。对于LP,表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯的BD值最高,为73.57%;汉黄芩苷的BD值最低,为13.21%。上述结果表明,表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯与 α -Glu、 α -Amy

和LP这3个靶酶的结合强度均为最高,这与本课题组前期单味药的研究结果一致^[19]。本课题组对单味药大黄的多靶标亲和超滤筛选中成功筛选出表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯,且体外酶活验证结果表明,表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯对 α -Glu和LP具有明显的抑制作用,其 IC_{50} 值分别为 (8.63 ± 0.21) mg/L和 (294.24 ± 27.67) mg/L^[19]。

此外,还有多个色谱峰与这3个靶酶有着不同程度的结合能力,表明它们可能是三黄汤降血糖和降血脂活性的重要贡献成分。如,峰N16(汉黄芩苷)(N表示负离子模式,以下同)、峰N21(大黄酸)、峰N23(大黄素)、峰P2(表小檗碱)(P表示正离子模式,以下同)和峰P5(小檗碱)等,这些成分均表现出良好的降糖降脂活性^[25-29]。研究发现^[25],汉黄芩苷可通过促进HepG2细胞葡萄糖摄取和增加糖原合成来改善肝细胞的胰岛素抵抗(IR),其降糖机制可能是通过调控NLRP3/SOCS3-TLR4-NF- κ B炎症通路来降低肝IR细胞炎症因子的表达,从而激活胰岛素降糖通路,以此加强葡萄糖的摄取和利用。另外,大

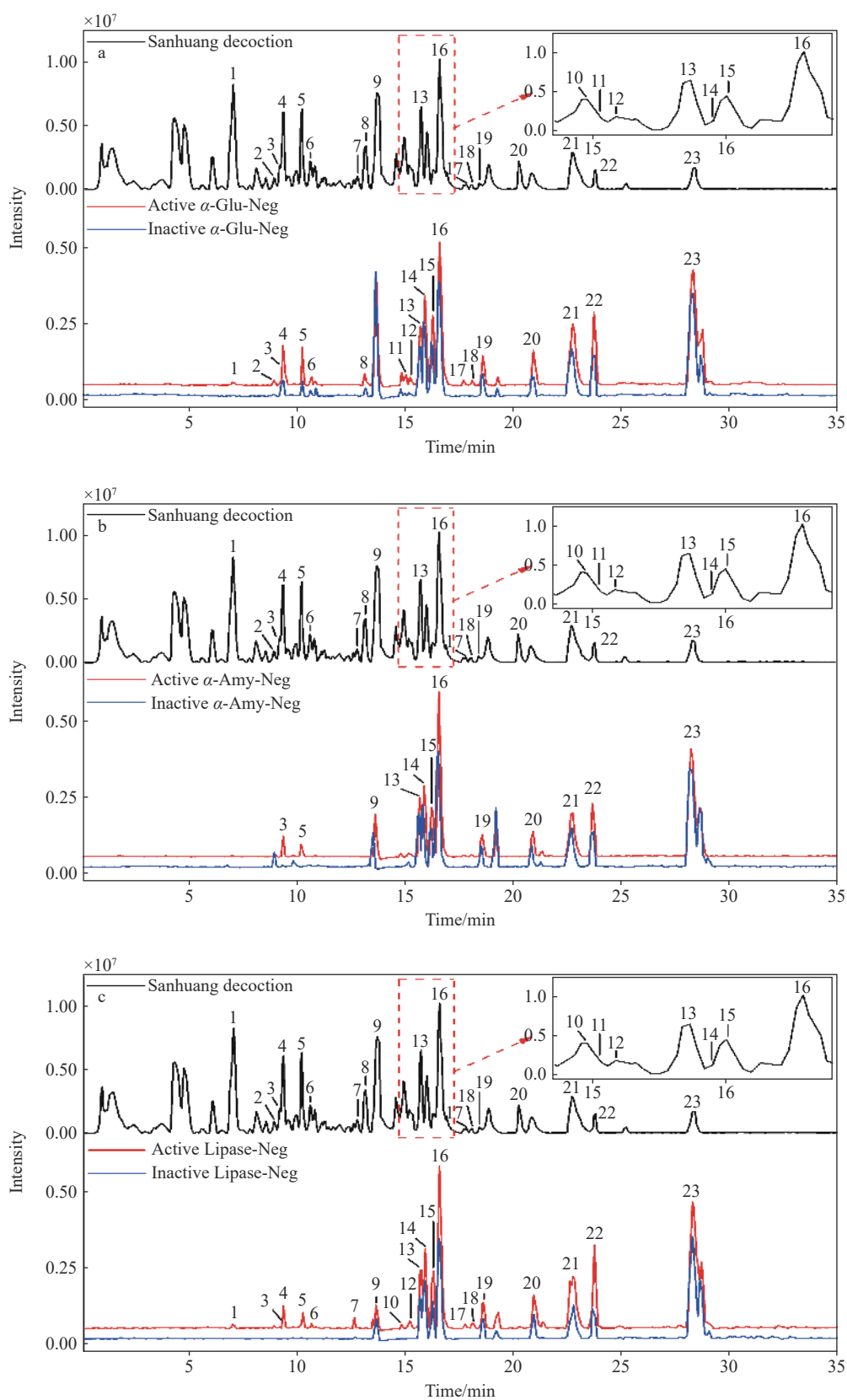


图 3 负离子模式下,三黄汤与 α -葡萄糖苷酶(a)、 α -淀粉酶(b)和脂肪酶(c)的亲亲和超滤筛选结果

Fig. 3 Affinity ultrafiltration results of Sanhuang decoction with α -Glu (a), α -Amy (b) and LP (c) under negative ion mode

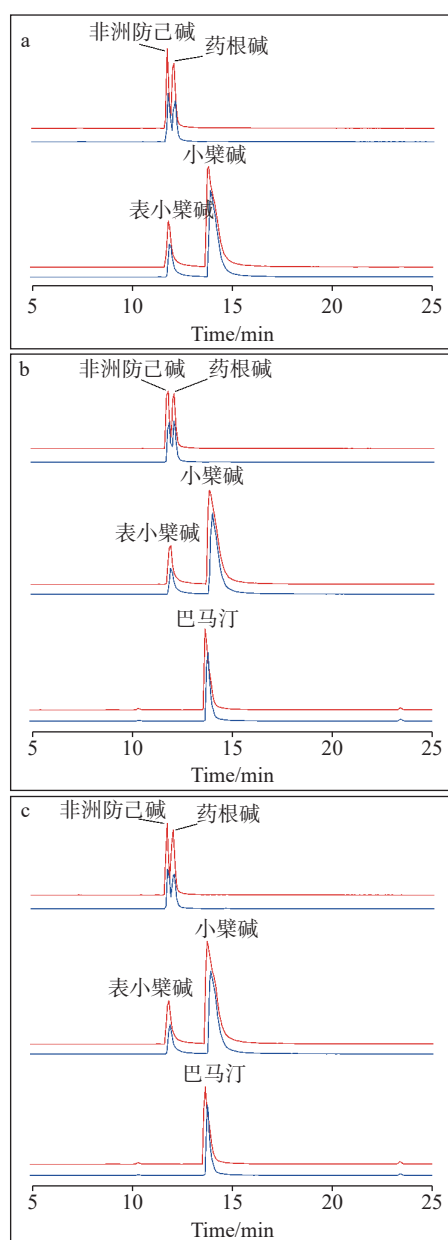


图4 正离子模式下,三黄汤与 α -葡萄糖苷酶(a)、 α -淀粉酶(b)和脂肪酶(c)的亲亲和超滤筛选结果
Fig. 4 Affinity ultrafiltration results of Sanhuang decoction with α -Glu (a), α -Amy (b) and LP (c) under positive ion mode

黄酸还可以通过改善胰岛素抵抗来预防和治疗糖尿病^[26]。口服葡萄糖耐量试验发现^[27],大黄素和大黄酸均具有显著的降糖活性,其中,大黄素表现出较强的肠道 α -Glu抑制活性,对肠道 α -Glu的 IC_{50} 值为30 mg/L,而阳性药阿卡波糖的 IC_{50} 值为60 mg/L,表明大黄素在较低浓度下对肠道 α -Glu具有显著的抑制作用。表小檗碱是一种低毒性的多靶点小分子,具有治疗多种慢性疾病的

潜力,如通过Akt和ERK途径抑制脂肪生成,通过抑制胆固醇合成抑制血脂异常,以及改善糖尿病和阿尔茨海默病等^[28]。研究表明^[29],表小檗碱具有良好的降糖降脂活性,可通过调节胰岛素分泌、改善胰岛素抵抗、保护胰岛 β 细胞、调节肠道菌群、促进胰高血糖素样肽1分泌来调节糖代谢,通过促进脂质清除、减少脂质沉积等来调节脂代谢,还可以通过AMPK信号通路、肠道菌群等共同调节糖脂代谢。另外,从表1、2和图3可以发现,有多个色谱峰与这3个靶酶没有显示出结合能力,表明这些成分可能是三黄汤中非潜在的针对这3个靶酶的活性作用成分。

为了进一步研究从三黄汤中筛选出的潜在活性成分与其相关靶酶之间的关系,并且基于上述亲和超滤筛选结果,构建了三黄汤复方中潜在降糖降脂的多组分、多靶点相互作用网络图,示于图5a。其中,化合物颜色的深浅表示与相应靶酶结合的化合物数量多少,线条的粗细表示与相应靶酶结合的每个组分强度。为了更直观地揭示三黄汤复方中潜在活性成分与各靶酶之间的关系,用韦恩图表示,结果示于图5b。有15个色谱峰对应的化合物均能够与这3种靶酶结合,说明这些潜在的活性成分(群)可能通过多种靶酶对三黄汤复方的降糖降脂作用发挥协同作用。例如,峰N16(汉黄芩苷)、峰N23(大黄素)、峰P2(表小檗碱)和峰P5(小檗碱)等同时具有良好的降糖降脂活性,本研究则揭示了其可能是通过 α -Glu、 α -Amy和LP等多个靶点来发挥降糖降脂功效。另外,从图5b可知,有15个色谱峰能够共同作用于 α -Glu和 α -Amy,21个色谱峰能够共同作用于 α -Glu和LP,17个色谱峰能够共同作用于 α -Amy和LP;虽然三黄汤中单独作用于 α -Glu、 α -Amy和LP靶酶的潜在活性成分分别有24、17和25个,但多数成分具有双靶标和多靶标协同作用。通过构建三黄汤中潜在降糖降脂的多成分-多靶点相互作用网络图和韦恩图,有助于揭示三黄汤中发挥降糖降脂的多成分-多靶点-多途径作用机制,为后期的作用机制研究提供借鉴。

2.3 三黄汤复方中潜在降糖降脂活性成分的表征

本研究分别采用正、负离子模式对三黄汤中潜在的降糖降脂活性成分进行筛选检测,通过

表1 负离子模式下,三黄汤中潜在的降糖降脂活性成分鉴定结果
Table 1 Identification results of potential hypoglycemic and hypolipidemic components in Sanhuang decoction under negative ion mode

序号 No.	结合度 Binding degree/%			保留时间 Retention time/min	母离子 Precursor ion [M-H] ⁻ (m/z)	碎片离子 Fragment ion MS/MS (m/z)	鉴定结果 Identification
	α -Glu	α -Amy	LP				
1	24.30	—	55.19	7.002	367.0951	191.0486, 173.0366, 134.0322	3-O-阿魏酰奎宁酸*
2	28.10	—	—	8.905	431.0980	311.0534, 283.0574, 269.0455	芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷*
3	44.04	69.63	73.57	9.241	441.0827	441.0795, 289.0714, 169.0160	表儿茶素-3-O-没食子酸酯 ^[20]
4	31.62	—	15.17	9.327	547.1483	457.1095, 367.0824, 337.0706	8-阿拉伯糖基-6-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮 ^[21]
5	30.31	15.73	54.85	10.222	547.1470	457.1141, 427.1045, 397.0956	6-阿拉伯糖基-8-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮 ^[21]
6	18.63	—	50.25	10.665	547.1449	457.1115, 367.0796, 337.0716	6-阿拉伯糖基-8-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮异构体 ^[21]
7	—	—	62.24	12.628	431.0963	269.0390, 240.0346	大黄素-3-O-葡萄糖苷 ^[22]
8	27.74	—	—	13.103	461.1087	313.0566, 169.0142	1-O-没食子酰基-2-O-肉桂酰基- β -D-葡萄糖苷 ^[19]
9	—	12.48	13.73	13.664	445.1111	269.0427	黄芩苷*
10	—	—	60.61	14.820	445.1122	445.1093, 269.0439	芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷 ^[23]
11	27.51	—	—	15.018	461.1114	461.1028, 169.0192, 125.0128	1-O-没食子酰基-6-O-肉桂酰基- β -D-葡萄糖苷 ^[19]
12	39.42	—	54.10	15.210	445.0775	269.0419	去甲汉黄芩素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷 ^[23]
13	9.03	44.09	35.19	15.691	459.0947	341.0634, 283.0582, 268.0354	千层纸素A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷*
14	10.91	10.71	16.70	15.894	431.0980	269.0375, 268.0364	芦荟大黄素-3-亚甲基-O-葡萄糖苷 ^[22]
15	8.23	11.05	33.81	16.238	431.0967	283.0541, 269.0419, 240.0393, 225.0544	大黄素-8-O-葡萄糖苷 ^[22]
16	9.52	46.80	13.21	16.579	459.0900	283.0608, 268.0369	汉黄芩苷*
17	15.26	—	58.31	17.675	517.0993	473.0951, 431.0789, 269.0320	大黄素-8-O-丙二酰基-葡萄糖苷 ^[20]
18	13.33	—	31.77	18.078	285.0384	285.0331, 268.0142, 241.0430, 211.0265	5,7,2,6-四羟基黄酮 ^[20]
19	15.38	7.64	15.66	18.558	283.0615	268.0405, 240.0413	大黄素甲醚 ^[20]
20	18.71	15.87	23.16	20.889	269.0449	241.0457, 240.0411, 211.0409	芦荟大黄素*
21	17.06	13.92	37.43	22.706	283.0288	268.0394, 239.0380, 211.0409, 183.0469	大黄酸*
22	22.73	10.42	43.88	23.687	373.0934	358.0713, 343.0464, 328.0210	黄芩新素*
23	9.14	4.63	27.76	28.278	269.0455	269.0422, 241.0475, 225.0547	大黄素*

注: *为标准品鉴定

亲和超滤筛选技术结合 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析, 筛选并鉴定出 28 种潜在的降糖降脂活性成分。其中, 13 种成分通过标准品比对鉴定, 另外 15 种成分通过对比参考文献和质谱数据库中的二级碎片及其裂解规律进行初步鉴定^[19-24]。在这 28 种成分中, 来源于大黄的 14 种, 黄连的 5 种, 黄芩的 9 种。其中, 来源于大黄和黄芩的潜在降糖降脂活性成分主要是在负离子模式下

检测到的, 来源于黄连的潜在活性成分则主要是在正离子模式下检测到的。这 28 种化学成分的标准分子离子峰([M-H]⁻/[M]⁺)、保留时间和二级碎片离子等质谱数据信息列于表 1、2。

其中, 在负离子模式下, 峰 N1、N2、N9、N13、N16、N20、N21、N22 和 N23 的母离子[M-H]⁻分别为 m/z 367.095 1、431.098 0、445.111 1、459.094 7、459.090 0、269.044 9、283.028 8、373.093 4、269.045 5、

表2 正离子模式下,三黄汤中潜在的降糖降脂活性成分鉴定结果

Table 2 Identification results of potential hypoglycemic and hypolipidemic components in Sanhuang decoction under positive ion mode

序号 No.	结合度 Binding degree/%			保留时间 Retention time/min	母离子 Precursor ion[M] ⁺ (m/z)	碎片离子 Fragment ion MS/MS (m/z)	鉴定结果 Identification
	α -Glu	α -Amy	LP				
1	25.71	6.98	38.45	11.425	338.1402	338.1071, 323.0845, 294.0848	非洲防己碱*
2	26.37	37.16	36.47	11.535	336.1250	320.0897, 307.0843, 292.0947, 280.0954	表小檗碱*
3	36.79	34.65	41.05	11.720	338.1400	338.1394, 323.1143, 294.1112	药根碱*
4	—	30.62	35.12	13.471	352.1335	352.1273, 337.1040, 308.1040	巴马汀 ^[24]
5	26.89	33.17	35.23	13.859	336.1288	336.1006, 321.0768, 292.0764	小檗碱*

注: *为标准品鉴定

通过与相应标准品比对,分别鉴定为3-*O*-阿魏酰奎宁酸、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、黄芩苷、千层纸素A-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、芦荟大黄素、大黄酸、黄芩新素和大黄素。在正离子模式下,峰P1、P2、P3和P5的母离子[M]⁺分别为 *m/z* 338.140 2、336.125 0、338.140 0、336.128 8, 通过与相应标准品比对,分别鉴定为非洲防己碱、表小檗碱、药根碱和小檗碱。

在负离子模式下,峰N3的母离子[M-H]⁻为 *m/z* 441.082 7,其碎片离子为 *m/z* 289.071 4、169.016 0,提示其可能存在儿茶素/表儿茶素特征碎片和没食子酸碎片,经与文献[20]中的碎片离子等信息进行比较,初步鉴定其为表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯。峰N4、N5和N6的母离子[M-H]⁻分别为 *m/z* 547.148 3、547.147 0、547.147 9,且具有相似的碎片离子,如 *m/z* 457、427、367,表明它们可能是同分异构体。另外,这些碎片离子符合[M-H-90]⁻和[M-H-120]⁻的特征,可能是黄酮碳苷类成分,通过与文献[21]比对,分别被初步鉴定为8-阿拉伯糖基-6-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮、6-阿拉伯糖基-8-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮和6-阿拉伯糖基-8-葡萄糖基-5,7-二羟基黄酮异构体。峰N7、N14和N15的母离子[M-H]⁻分别为 *m/z* 431.096 3、431.098 0、431.096 7,它们具有相似的碎片离子,表明可能是同分异构体,另外,其碎片离子中均含有 *m/z* 269 特征碎片离子,表明可能含有大黄素/芦荟大黄素基团,通过与文献[22]对比,分别被初步鉴定为大黄素-3-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-3-亚甲基-*O*-葡萄糖苷和大黄素-8-*O*-葡萄糖苷。

在正离子模式下,峰P4的母离子[M]⁺为 *m/z* 352.133 5,其碎片离子为 *m/z* 337.104 0、308.104 0,

可能分别由母离子脱去1分子-CH₃和-C₂H₄O得到,经与文献[24]比对,鉴定为巴马汀。

2.4 分子对接

通过分子对接模拟进一步阐明亲和超滤筛选出的潜在活性成分与 α -Glu、 α -Amy和LP等多靶酶之间的相互作用机制。选取亲和超滤过程中BD值最高和最低的成分以及相应靶酶的阳性对照进行分子对接,结果列于表3,包括结合能(binding energy, BE)、氢键(H-bond)和理论半数抑制浓度(IC₅₀值)。例如,在亲和超滤过程中,与 α -Glu具有最大BD值的表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯,其与 α -Glu的BE值和理论IC₅₀值分别为-39.52 kJ/mol和20.02 μ mol/L,低于与 α -Glu具有最小BD值的大黄素-8-*O*-葡萄糖苷,其BE值和理论IC₅₀值分别为-27.30 kJ/mol和16.44 μ mol/L。另外,阳性对照阿卡波糖与 α -Glu的BE值为-20.60 kJ/mol,理论IC₅₀值为246.62 μ mol/L。结果表明,表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯和大黄素-8-*O*-葡萄糖苷的BE值和理论IC₅₀值均低于阳性对照阿卡波糖。

同样,对于 α -Amy,在亲和超滤过程中具有最大BD值的表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯,其与 α -Amy的BE值为-27.21 kJ/mol,理论IC₅₀值为17.34 μ mol/L,低于与 α -Amy具有最小BD值的大黄素结果(-26.08 kJ/mol和27.13 μ mol/L)。另外,阳性对照阿卡波糖与 α -Amy的BE值为-8.46 kJ/mol,理论IC₅₀值为32.83 mmol/L。结果表明,表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯和大黄素的BE值和理论IC₅₀值均低于阳性对照阿卡波糖。有趣的是,在分子对接模拟中,LP与相应化合物的对接结果具有类似现象,详细结果列于表3。

表3 三黄汤中代表性活性成分的分子对接结果

序号 No.	化合物 Compound	靶酶 Enzyme	结合能 BE/(kJ/mol)	理论 IC_{50} Theoretical value of IC_{50} /(μ mol/L)	氢键 H-bond
1	表儿茶素-3-O-没食子酸酯	α -葡萄糖苷酶	-39.52	0.12	Arg442, Glu411, Gln353, Arg315, Gln279, Gln182, Tyr158, Asp69
		α -淀粉酶	-27.21	17.34	His305, Asp300, Tyr62, Trp59
		脂肪酶	-23.40	80.02	Ser333, Asp247, Lys239, Arg38, Leu36, Asp31
2	大黄素-8-O-葡萄糖苷	α -葡萄糖苷酶	-27.30	16.64	Glu411, Arg315, Leu313
3	大黄素	α -淀粉酶	-26.08	27.13	Ile235, Glu233, Lys200
4	汉黄芩苷	脂肪酶	-21.27	189.41	Asp331, Leu41, Arg38, Gly14
5	阿卡波糖	α -葡萄糖苷酶	-20.60	246.62	Asp352, His351, Glu277, Asp242, Asp215, Gln182, Ser157, Asp69
		α -淀粉酶	-35.42	32.83 mmol/L	Gly306, Lys200, Val163, Tyr151, Gln63
6	奥利司他	脂肪酶	-8.12	38.12 mmol/L	Asn92

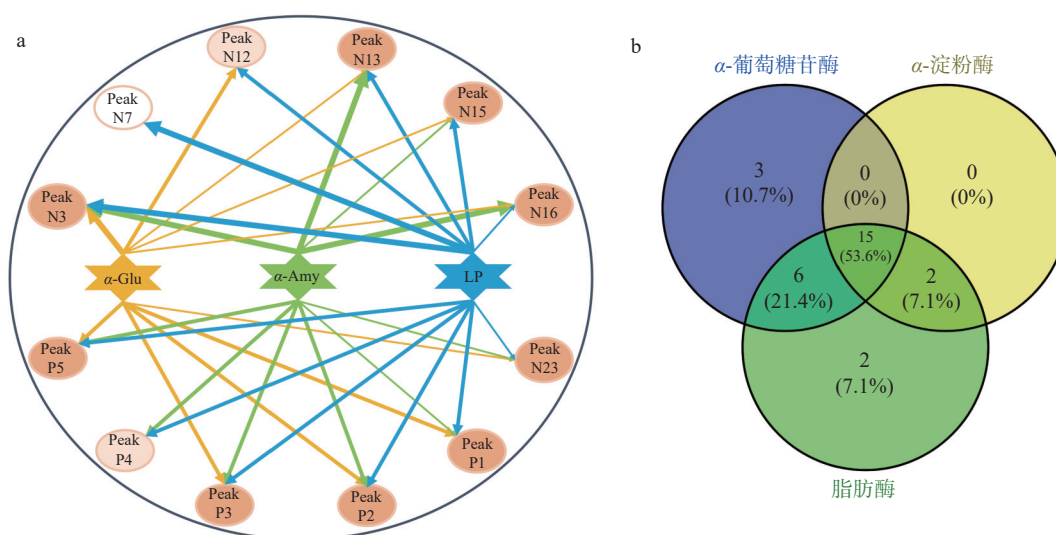


图5 三黄汤中潜在活性成分与靶点的相互作用网络图(a)与韦恩图(b)

Fig. 5 Network diagram (a) and Venn diagram (b) between the potential active components screened out from Sanhuang decoction and their corresponding enzymes

综上,在亲和超滤筛选中与相应靶酶具有较大亲和力的潜在活性成分,其与靶酶进行分子对接后的BE值和理论 IC_{50} 值较低,表明分子对接结果与亲和超滤结果一致。

另外,从三黄汤中筛选出的这些潜在活性配体与 α -Glu、 α -Amy和LP等靶酶的氨基酸残基形成了不同数量的氢键。如,BD值较高的表儿茶素-3-O-没食子酸酯与 α -Glu上的氨基酸残基Arg442、Glu411、Gln353、Arg315、Gln279、Gln182、Tyr158和Asp69形成了8个氢键,而BD值较低的大黄素-8-O-葡萄糖苷与 α -Glu上的氨基酸残

基Glu411、Arg315和Leu313只形成了3个氢键,表明氢键在化合物与靶酶形成的亲和力中具有较大贡献。此外,表儿茶素-3-O-没食子酸酯还通过范德华力与 α -Glu上的氨基酸残基Asn415、His351、Tyr316、Thr306、Glu277、Asp215、Arg213、Phe178、Phe159和His112具有相互作用,Pi-Sigma、Pi-Pi T-shaped和Pi-Alkyl等作用力对表儿茶素-3-O-没食子酸酯与 α -Glu的亲和力有促进作用。分别选取在亲和超滤筛选过程中BD值最大和最小的潜在活性成分与其相应的靶酶进行分子对接结果展示,示于图6。

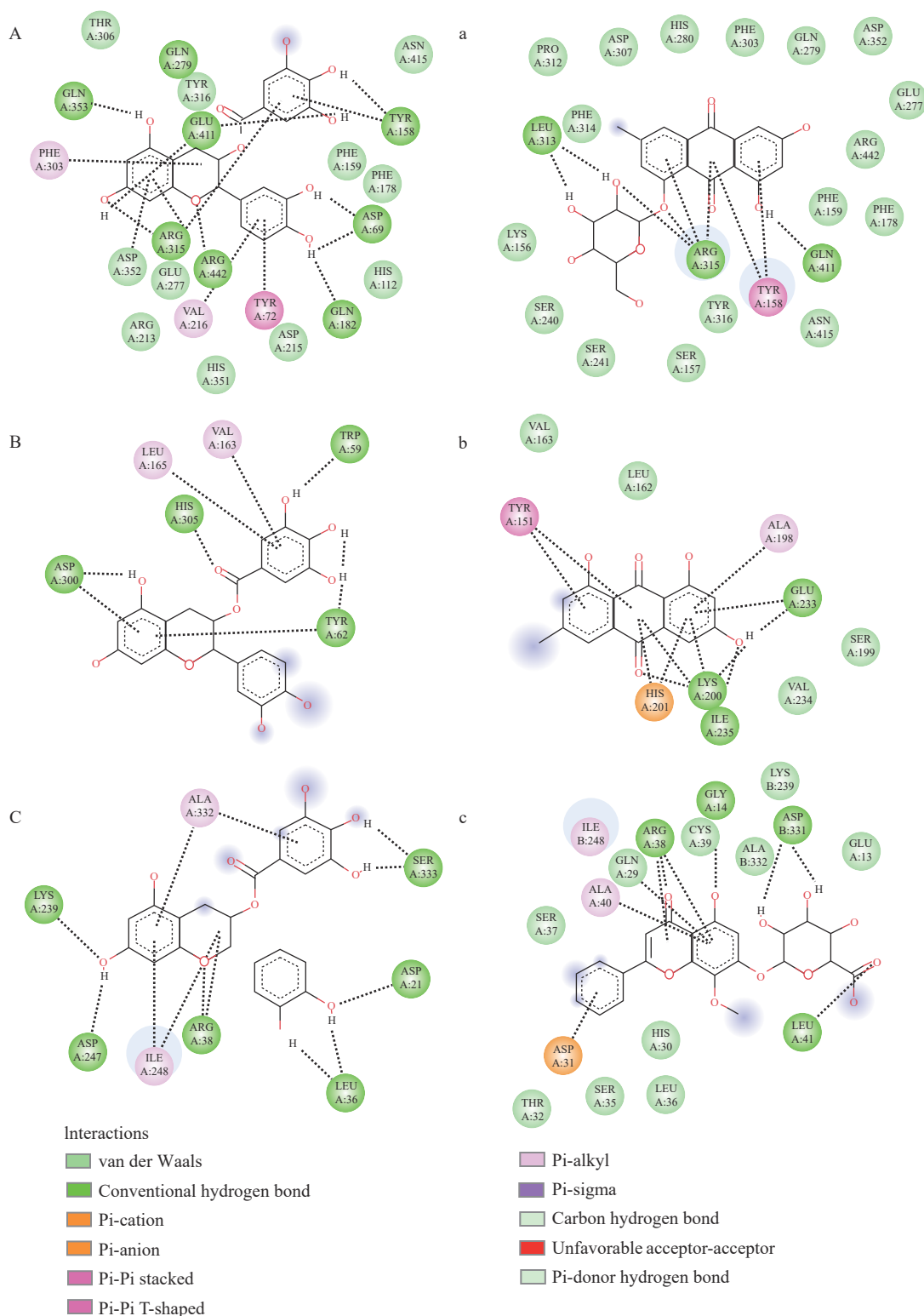


图6 表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯(A)、大黄素 8-*O*-葡萄糖苷(a)与 α -Glu 的二维相互作用, 表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯(B)、大黄素(b)与 α -Amy 的二维相互作用, 表儿茶素-3-*O*-没食子酸酯(C)、汉黄芩苷(c)与 LP 的二维相互作用

Fig. 6 Interactions between epicatechin-3-*O*-gallate (A), emodin 8-*O*-glucoside (a) with α -Glu, epicatechin-3-*O*-gallate (B), emodin (b) with α -Amy, epicatechin-3-*O*-gallate (C), wogonoside (c) with LP by molecular docking simulation

3 结论

本研究发现,三黄汤可显著抑制 α -Glu和LP的活性,具有良好的降血糖和降血脂潜力。采用基于 α -Glu、 α -Amy和LP等多靶标亲和超滤质谱技术从三黄汤复方中筛选出24、17和25种能够分别与 α -Glu、 α -Amy和LP靶酶结合的潜在活性配体,其中,表儿茶素-3-O-没食子酸酯等多个成分具有显著的降糖和降脂活性,这一结果有助于揭示三黄汤中潜在的降糖降脂活性成分和可能的作用靶标,并构建了三黄汤降糖降脂作用网络图。实验进一步通过分子对接模拟验证了部分代表性降糖降脂化合物可能的作用位点,与亲和超滤筛选结果一致,揭示了从三黄汤中筛选出的潜在活性化合物与相应靶酶之间的相互作用机制,其中氢键为靶酶与潜在活性成分之间的主要作用力。虽然本方法可以快速高效地筛选出一些潜在的活性作用成分,但也存在假阳性可能,后期需要对筛选出来的活性成分进行验证分析,例如,在细胞和动物水平等对其降糖降脂活性进行探讨研究。

参考文献:

- [1] BRADLEY C, ESCHWÈGE E, de PABLOS-VELASCO P, PARHOFER K G, SIMON D, VANDENBERGHE H, GÖNDER-FREDERICK L. Predictors of quality of life and other patient-reported outcomes in the PANORAMA multinational study of people with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2018, 41(2): 267-276.
- [2] LI S, ZHANG W, WANG R, LI C, LIN X, WANG L. Screening and identification of natural α -glucosidase and α -amylase inhibitors from partridge tea (*Mallotus furettianus* Muell-Arg) and in silico analysis[J]. *Food Chemistry*, 2022, 388: 133 004.
- [3] GAUR P, KHAN F, SHANKER K. Potential lipase inhibitor from underutilized part of *Andrographis paniculata*: targeted isolation and mechanism of inhibition[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 197: 116 623.
- [4] OBOH G, OGUNSUYI O B, OGUNBADEJO M D, ADEFEGHA S A. Influence of Gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2016, 24(3): 627-634.
- [5] XIE L, XIE J, XU Y, CHEN W. Discovery of anthocyanins from cranberry extract as pancreatic lipase inhibitors using a combined approach of ultrafiltration, molecular simulation and spectroscopy[J]. *Food & Function*, 2020, 11(10): 8 527-8 536.
- [6] SUN S, WANG W, WANG N, ZHANG Y, ZHU Z, LI X, WANG J, CHEN Q, SADIQ F, YANG H, QI Q, ZHANG G. HPP and SGQR peptides from silkworm pupae protein hydrolysates regulated biosynthesis of cholesterol in HepG2 cell line[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 77: 104 328.
- [7] 陈哲杰, 李文, 林美斯, 何瑶, 傅超美, 高飞, 章津铭. 三黄泻心汤研究现状及其关键技术与核心问题分析[J]. *中草药*, 2016, 47(22): 4 111-4 117.
CHEN Zhejie, LI Wen, LIN Meisi, HE Yao, FU Chaomei, GAO Fei, ZHANG Jinming. Research status of Sanhuang Xiexin Decoction and analyses of key technologies and core issues[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2016, 47(22): 4 111-4 117(in Chinese).
- [8] FANG P, SUN Y, GU X, HAN L, HAN S, SHANG Y, LUAN Z, LU N, GE R, SHI M, ZHANG Z, MIN W. San-Huang-Tang protects obesity/diabetes induced NAFLD by upregulating PGC-1 α /PEPCK signaling in obese and galr1 knockout mice models[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 250: 112 483.
- [9] XIAO S, ZHANG Z, CHEN M, ZOU J, JIANG S, QIAN D, DUAN J. Xiexin Tang ameliorates dyslipidemia in high-fat diet-induced obese rats via elevating gut microbiota-derived short chain fatty acids production and adjusting energy metabolism[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, 241: 112 032.
- [10] CHEN D, CHEN X, HE C, XIAO C, CHEN Z, CHEN Q, CHEN J, BO H. Sanhuang Xiexin Decoction synergizes insulin/PI3K-Akt/FoxO signaling pathway to inhibit hepatic glucose production and alleviate T2DM[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 306: 116 162.
- [11] CHEN G, HUANG B, GUO M. Current advances in screening for bioactive components from medicinal plants by affinity ultrafiltration mass spectrometry[J]. *Phytochemical Analysis*, 2018, 29(4): 375-386.
- [12] WANG Z, JIANG Z, XIAO P, JIANG Y, LIU W, LIU E. The mechanisms of baicalin ameliorate obesity and hyperlipidemia through a network pharmacology approach[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 878: 173 103.
- [13] CHEN G, XU Y, WU J, LI N, GUO M. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Moringa oleifera* leaves and their functional chemical constituents[J]. *Food Chemistry*, 2020, 333: 127 478.
- [14] XU Y, LI Y, CHEN G, FAN M, HU G, GUO M. Screening and identification of potential hypoglycemic and hypolipidemic compounds from aqueous extract of *Scutellaria baicalensis* Georgi root combining affinity ultrafiltration with multiple drug targets and in silico

- analysis[J]. *Phytochemical Analysis*, 2024, 35(2): 239-253.
- [15] 李唯佳, 戴关海, 童晔玲, 杨锋. 自拟芪麦汤对糖尿病小鼠糖耐量及 α -糖苷酶的影响[J]. *中国现代应用药学*, 2012, 29(4): 307-310.
- LI Weijia, DAI Guanghai, TONG Yeling, YANG Feng. Effects of Qimai decoction on glucose tolerance in diabetic mice and α -glucosidase[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2012, 29(4): 307-310(in Chinese).
- [16] 周慧, 王义民, 郑重, 刘舒, 刘志强. 亲和超滤质谱技术在中药活性成分筛选中的研究进展[J]. *质谱学报*, 2018, 39(6): 641-652.
- ZHOU Hui, WANG Yimin, ZHENG Zhong, LIU Shu, LIU Zhiqiang. Recent advances of affinity ultrafiltration mass spectrometry in screening active components of traditional Chinese medicine[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2018, 39(6): 641-652(in Chinese).
- [17] WEI X, TAO J, XIAO S, JIANG S, SHANG E, ZHU Z, QIAN D, DUAN J. Xiexin Tang improves the symptom of type 2 diabetic rats by modulation of the gut microbiota[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 3 685.
- [18] XU Y, CHEN G, GUO M. Potential anti-aging components from *Moringa oleifera* leaves explored by affinity ultrafiltration with multiple drug targets[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 854 882.
- [19] XU Y, CHEN G, GUO M. Explored potential hypoglycemic, hypolipidemic, and anti-hyperuricemic components from *Rheum tanguticum* combing affinity ultrafiltration with four enzyme targets[J]. *Food Frontiers*, 2023, 4: 922-932.
- [20] 刘梦娇, 王云, 李玲云, 李晓庆, 戴业佳, 张雪, 麻印莲, 张村, 李文兰. 三黄片化学成分的UPLC-Q-TOF-MS/MS快速鉴定分析[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(9): 1 685-1 692.
- LIU Mengjiao, WANG Yun, LI Lingyun, LI Xiaoqing, DAI Yejia, ZHANG Xue, MA Yinlian, ZHANG Cun, LI Wenlan. UPLC-Q-TOF/MS for rapid analysis of chemical constituents in Sanhuang tablets[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2017, 42(9): 1 685-1 692(in Chinese).
- [21] 柴冲冲, 曹妍, 毛民, 尹贻慧, 王靖越, 刘娜, 李欣欣, 张凯, 魏龙吟, 陈冬玲, 李飞. 基于HPLC特征图谱、UPLC-Q-TOF/MS定性及多成分定量的黄芩酒炙前后化学成分变化研究[J]. *中草药*, 2020, 51(9): 2 436-2 447.
- CHAI Chongchong, CAO Yan, MAO Min, YIN Yihui, WANG Jingyue, LIU Na, LI Xinxin, ZHANG Kai, WEI Longyin, CHEN Dongling, LI Fei. Comparison of chemical compositions before and after wine-frying of *Scutellaria baicalensis* based on HPLC characteristic chromatogram, UPLC-Q-TOF/MS qualitative and multi-component quantitative analysis[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51(9): 2 436-2 447(in Chinese).
- [22] LIU Y, LI L, XIAO Y, YAO J, LI P, YU D, MA Y. Global metabolite profiling and diagnostic ion filtering strategy by LC-QTOF MS for rapid identification of raw and processed pieces of *Rheum palmatum* L[J]. *Food Chemistry*, 2016, 192: 531-540.
- [23] 彭春, 唐玲, 王燕. 基于UPLC-Q-TOF/MS技术的三黄片化学成分解析[J]. *中国医院药学杂志*, 2020, 40(7): 757-764.
- PENG Chun, TANG Ling, WANG Yan. UPLC-Q-TOF/MS for rapid analysis of chemical constituents in Sanhuang tablets[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2020, 40(7): 757-764 (in Chinese).
- [24] HAO Y, HUO J, WANG T, SUN G, WANG W. Chemical profiling of Coptis rootlet and screening of its bioactive compounds in inhibiting *Staphylococcus aureus* by UPLC-Q-TOF/MS[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2020, 180: 113 089.
- [25] 朱水兰, 吴青华, 涂珺. 汉黄芩苷调控NLRP3/SOCS3-TLR4-NF-kB炎症通路改善肝细胞胰岛素抵抗的研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(20): 4 504-4 510.
- ZHU Shuilan, WU Qinghua, TU Jun. Study on regulation of NLRP3/SOCS3-TLR4-NF-kB inflammatory pathway by wogonoside to improve hepatic insulin resistance[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, 44(20): 4 504-4 510(in Chinese).
- [26] DENG T, DU J, YIN Y, CAO B, WANG Z, ZHANG Z, YANG M, HAN J. Rhein for treating diabetes mellitus: a pharmacological and mechanistic overview[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 13: 1 106 260.
- [27] ARVINDEKAR A, MORE T, PAYGHAN P V, LADDHA K, GHOSHAL N, ARVINDEKAR A. Evaluation of anti-diabetic and alpha glucosidase inhibitory action of anthraquinones from *Rheum emodi*[J]. *Food & Function*, 2015, 6(8): 2 693-2 700.
- [28] LIU L, LI J, HE Y. Multifunctional epiberberine mediates multi-therapeutic effects[J]. *Fitoterapia*, 2020, 147: 104 771.
- [29] 刘峙岐, 周鸿儒, 冯志海, 辛珂, 陈言, 刘昱君. 小檗碱调节糖脂代谢作用机制研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2024, 26(3): 99-104.
- LIU Zhiqi, ZHOU Hongru, FENG Zhihai, XIN Ke, CHEN Yan, LIU Yujun. Research progress on the mechanism of berberine regulating glycolipid metabolism[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 26(3): 99-104(in Chinese).

(收稿日期: 2024-06-20; 修回日期: 2024-07-26)