

基于UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS技术和网络药理学探讨蒲公英改善高脂血症的活性成分及其作用机制

刘兆薇¹,任一冉^{1#},刘亦菲¹,刘颖^{2,3,4*}

1. 北京中医药大学 中药学院,北京 102488

2. 北京中医药大学 北京中医药研究院,北京 102488

3. 北京市科委中药生产过程控制与质量评价北京市重点实验室,北京 102488

4. 中药制药与新药开发教育部工程研究中心,北京 100029

摘要: 目的 基于超高效液相色谱-线性离子阱串联静电场轨道高分辨质谱(UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS)技术、网络药理学和分子对接探究蒲公英改善高脂血症的有效成分及其作用机制。方法 根据质谱信息结合对照品裂解规律并参考文献指认蒲公英中化学成分;利用STITCH、SwissTargetPrediction、TCMSP数据库构建蒲公英的潜在药效成分靶点数据库,通过GeneCards、DrugBank、OMIM、TherapeuticTargetDatabase、PharmGKB获取血脂异常潜在靶点;使用STRING数据库构建关键靶点蛋白相互作用(PPI)网络;通过Metascape数据库对关键靶点进行基因本体论(GO)功能与京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析;借助Cytoscape软件构建“活性成分-靶点-通路”网络;采用分子对接技术进行虚拟验证。结果 从蒲公英中共鉴别出126个化合物,包括黄酮类58个,有机酸类29个,萜类23个,苯丙素8个,核苷类3个和其他类5个。网络药理学研究表明,蒲公英可能通过槲皮素、异鼠李素、香叶木素、白杨素、芹菜素等成分作用于碳酸酐酶2(CA2)、碳酸酐酶7(CA7)、醛糖还原酶(AKR1B1)、基质金属蛋白酶2(MMP-2)、蛋白激酶1(Akt1)等核心靶点,来调节脂质和动脉粥样硬化、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/Akt、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、流体剪切应力和动脉粥样硬化和晚期糖基化终末产物(AGE)/AGEs受体(RAGE)等信号通路,从而发挥调血脂作用;分子对接验证结果表明,蒲公英改善高脂血症有效成分与疾病靶点蛋白具有较强的结合活性。**结论** 蒲公英可能通过调控脂质代谢、炎症反应、内质网应激、氧化应激和免疫调节等多方面发挥改善高脂血症的作用。

关键词: 蒲公英; 高脂血症; 液质联用; 网络药理学; 分子对接; 槲皮素; 异鼠李素; 香叶木素

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)09-2133-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.09.004

Exploring the active components and action mechanism of *Taraxacum mongolicum* in improving hyperlipidemia using UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS and network pharmacology

LIU Zhao-wei¹, REN Yi-ran¹, LIU Yi-fei¹, LIU Ying^{2,3,4}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2. Beijing Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

3. Beijing Key Laboratory of Process Control and Quality Evaluation in Traditional Chinese Medicine Production, Beijing Municipal Science and Technology Commission, Beijing 102488, China

4. Engineering Research Center for Pharmaceutics of Chinese Materia Medica and New Drug Development, Ministry of Education, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To investigate the active components and its mechanism for improving hyperlipidemia of *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz. using UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS, network pharmacology and molecular docking. **Methods** Chemical

收稿日期: 2023-06-15

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(81503244);北京中医药大学纵向发展基金项目(2019-ZXFZJJ-052)

作者简介: 刘兆薇,女,硕士研究生,主要从事中药质量控制与中药代谢研究。E-mail: liuzhaowei722x@163.com

*通信作者: 刘颖,博士,副研究员,主要从事中药质量控制与中药代谢研究。E-mail: liuyingmeta@163.com

#共同第一作者: 任一冉,女,硕士研究生,主要从事中药质量控制与中药代谢研究。Email: renyiran2020@163.com

composition of *Taraxacum mongolicum* was identified by mass spectrometry information combined with the fragmentation patterns of reference compounds and references. Potential pharmacological targets of *Taraxacum mongolicum* were screened using STITCH, SwissTargetPrediction, and TCMSP databases, while potential targets for dyslipidemia were obtained from GeneCards, DrugBank, OMIM, TherapeuticTarget, and PharmGKB Database. PPI network of key targets was constructed using STRING database. Key targets were subjected to GO and KEGG pathway enrichment analysis using Metascape database. The active ingredient – target - pathway network was built using Cytoscape software. Finally, molecular docking verification was performed between the active ingredients and the key targets. **Results** A total of 126 compounds were identified from *Taraxacum mongolicum*, including 58 flavonoids, 29 organic acids, 23 terpenes, 8 coumarins, 3 nucleosides, and 5 other compounds. Network pharmacology studies showed that *Taraxacum mongolicum* may act on CA2, CA7, AKR1B1, MMP-2, AKT1, and other core targets through quercetin, isorhamnetin, diosmetin, chrysanthemum, apigenin, and other components. It regulates lipid and atherosclerosis, PI3K/Akt, MAPK, fluid shear stress and atherosclerosis, and AGE/RAGE signaling pathways to play a role in regulating blood lipids. Molecular docking validation results demonstrate that the active components exhibit strong binding activity with disease target proteins. **Conclusion** *Taraxacum mongolicum* may play a role in improving hyperlipidemia by regulating lipid metabolism, inflammatory response, endoplasmic reticulum stress, oxidative stress and immunomodulation.

Key words: *Taraxacum mongolicum*; hyperlipidemia; LC/MS; network pharmacology; molecular docking; quercetin; isorhamnetin; diosmetin

高脂血症是由血脂代谢异常引起的代谢性疾病^[1]。近年来，随着人们生活方式的巨大变化，高脂血症在全球范围内发病率不断增加，已成为重要的公共卫生问题^[2]。当身体长期处于血脂异常状态可显著增加动脉粥样硬化、卒中、心肌梗死和其他心脑血管疾病的风险；此外，高脂血症还与肥胖及心血管疾病、2型糖尿病、代谢相关脂肪性肝病等慢性代谢性疾病的发生发展密切相关^[3]。近年来，中药被广泛用于高脂血症的改善和治疗^[4-5]，可通过缓解脂质代谢紊乱、抗氧化以及抑制炎症反应等达到调节血脂的疗效，且具有药效确切，不良反应小等优势^[6-7]。

蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz., 系菊科多年生草本植物，具有清热解毒、消肿散结、利尿通淋的功效^[8]，蒲公英的化学成分繁多，包括黄酮类、萜类、有机酸类、甾醇类、多糖类、苯丙素类和挥发油类等化学成分^[9]。现代药理表明，蒲公英可显著降低高脂血症模型小鼠的总胆固醇水平，同时升高高密度脂蛋白胆固醇水平^[10]，减小高脂血症大鼠肝脏的代谢负担，减轻肝脏脂肪变性并保护肝脏，降低总胆固醇水平^[11]。但是，目前对该药物发挥改善高脂血症作用的活性成分及其作用机制的认识尚不清晰。因此，本研究采用 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 技术对蒲公英化学成分进行表征，结合数据网络的维度分析基因、蛋白、疾病以及药物之间的关联性，并通过分子对接进行虚拟验证，系统阐释蒲公英发挥改善高脂血症的潜在药效物质及可能参与调控的分子机制，为蒲公英改善

高脂血症的药理机制研究及蒲公英资源的开发利用提供数据支持。

1 材料

1.1 仪器

Ultimate 3000 超高效液相色谱仪、LTQ-Orbitrap XL 质谱仪（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；R200D 型分析天平（德国 Satorius 公司）；KQ-250DE 型数控超声清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；YR-150 型多功能粉碎机（永康市五瑞工贸有限公司）；Heraeus Fresco 21 冷冻型微量台式离心机（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）。

1.2 药材与试剂

蒲公英药材购买自同仁堂（四川）健康药业有限公司，经北京中医药大学北京中医药研究院刘颖副研究员鉴定为菊科蒲公英属植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz. 干燥全草。鸟苷（批号 18031603）、3-咖啡酰奎宁酸（批号 18030620）、4-咖啡酰奎宁酸（批号 18031001）、5-咖啡酰奎宁酸（批号 18032403）、3,4-二咖啡酰奎宁酸（批号 18031602）、3,5-二咖啡酰奎宁酸（批号 18031610）、4,5-二咖啡酰奎宁酸（批号 18031604）、咖啡酸（批号 18032003）、芹菜素（批号 18032605）、木犀草素（批号 18012605）、芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷（批号 18041101）对照品均购于成都曼斯特生物科技有限公司；尿苷（批号 RFS-N02511804026）、腺苷（批号 RFS-X0221803002）、菊苣酸（批号 RFS-J00502107008）、芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷（批号 RFS-Q07211806001）、原儿茶醛（批号 RFS-

Y03211804028)、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷(批号RFS-Y09902012001)对照品购于成都瑞芬思生物科技有限公司;单咖啡酰酒石酸(批号B20271)、木犀草-7-O-β-D-葡萄糖苷(批号B20877)购于上海源叶生物技术有限公司;异鼠李素(批号110860200608)对照品购于中国食品药品检定研究院,以上对照品质量分数均≥98%。纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司),质谱级甲醇、甲酸、乙腈(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

2 方法

2.1 蒲公英化学成分分析

2.1.1 混合对照品溶液的制备 取各对照品适量,精密称定,加60%甲醇溶液溶解并定容于10mL量瓶中,得对照品母液。分别吸取各对照品母液适量于10mL量瓶中,加60%甲醇溶液定容,得各成分质量浓度为30μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 蒲公英干燥药材,粉碎,过40目筛,精密称取1g粉末置50mL具塞锥形瓶中,精密加入60%甲醇30mL,称定质量,超声处理(功率250W、频率40kHz,)45min,放冷,称定质量,用60%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 色谱条件 Waters Acquity UHPLC BEH C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相:0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B);柱温:35℃,体积流量:0.3 mL/min;进样量:2 μL。梯度洗脱:0~1 min, 2% B; 1~19 min, 2%~30% B; 19~29 min, 30%~70% B; 29~32 min, 70%~90% B; 32~34 min, 90% B; 34~35 min, 90%~2% B; 35~37 min, 2% B。

2.1.4 质谱条件 ESI离子源,离子源温度:350℃;正离子模式下:电离源电压4.0 kV,毛细管电压35 V,管透镜电压110 V;负离子模式下:电离源电压-3.0 kV,毛细管电压-35 V,管透镜电压-110 V;碰撞电压:6~10 V;鞘气(N₂)体积流量40 arb,辅助气(N₂)体积流量20 arb;干燥气流速15 L/min;样品一级质谱图谱采用全扫描(质量扫描范围m/z 100~1 200;检测分辨率:30 000);二级质谱数据采用数据依赖性扫描,选取一级丰度最高的3个离子进行碰撞诱导解离碎裂方式,CID激活能量单位为0.25 q,归一化能量为35%。对于未采集到二级碎片的离子采用母离子列表和选择性离子检测策略进行数据采集。

2.2 网络药理学分析

2.2.1 蒲公英活性成分的筛选及作用靶点预测 根据UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS分析结果,借助SwissADME数据库(<https://www.swissadme.ch/>),以胃肠吸收得分为“high”、类药性至少通过2个“Yes”来筛选蒲公英潜在活性成分;结合相关文献报道^[12-16],将吸收入血、药理活性较确切的化学成分纳入到蒲公英潜在活性成分中。将筛选的化合物通过STITCH、Swiss Target Prediction、TCMSP数据库预测各潜在活性成分的作用靶点,去除重复靶点后,即得蒲公英改善高脂血症的活性成分靶点。

2.2.2 高脂血症有关靶点的收集 以“hyperlipidemia”“acute hyperlipidemia”“hypercholesterolemia”“hypertriglyceridemia”为关键词,通过GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)、DrugBank数据库(<https://go.drugbank.com/>)、OMIM数据库(<https://omim.org/>)、Therapeutic Target Database数据库(<https://db.idrblab.net/ttd/>)和PharmGKB数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)检索并筛选获取疾病靶点基因信息,将结果合并去重后即得到高脂血症的相关靶点。

2.2.3 蛋白质相互作用(PPI)网络的构建及关键基因筛选 将蒲公英潜在药效成分靶点与高脂血症相关靶点利用微生信在线平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制韦恩图得到交集靶点,并将交集靶点导入STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)中绘制构建PPI网络。使用Cytoscape 3.7.2软件进行可视化分析,删除独立靶点,同时依据degree值调整,构建靶标之间的相互作用即PPI网络,得到蒲公英作用于高脂血症的核心靶点。

2.2.4 基因本体(GO)功能京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将交集靶点导入Metascape数据库(<https://metascape.org/>)进行GO功能及KEGG通路富集分析,并运用Cytoscape 3.7.2软件,构建活性成分-炎症靶点-通路网络图,通过degree值、中心度和紧密度指标筛选核心靶点。

2.3 分子对接

采用AutoDock Tools 1.5.6软件对degree值前10位的核心靶点和核心成分进行分子对接验证。通过Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)获取核心靶点的Uniprot ID,通过PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载核心靶点相关蛋白的晶

体结构。利用 PyMOL 软件进行去水、加氢、去除蛋白自身携带小分子的操作，导出用于分子对接的核心靶点蛋白。通过 Pubchem 数据库获得核心成分的 2D 结构文件，通过 Chem3D 20.0 软件，将获得的核心成分的 2D 结构文件转换为 3D 结构；将核心靶点相关的晶体结构及核心成分的 3D 结构导入 AutoDock Tools 1.5.6 软件，采用 AutoDock vina 进行分子对接，获得对接结合能 (binding energy)、氢键 (hydrogen bond) 信息，在微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 网站进行核心成分与核心靶点间结合能的热图绘制，使用 PyMOL 软件对分子对接结果可视化处理。

3 结果

3.1 蒲公英成分分析

采用 UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 技术，分别在正离子和负离子模式下对蒲公英化学成分进行表征，其总离子流图 (TIC) 见图 1。质谱信息结合

对照品裂解规律，并参考相关文献共鉴定和推断化合物 126 个，包括黄酮类 58 个，有机酸类 29 个，萜类 23 个，苯丙素类 8 个，核苷类 3 个和其他类 5 个，见表 1。

3.2 蒲公英网络药理学分析

3.2.1 蒲公英活性成分筛选及作用靶点预测 根据 SwissADME 平台设定的药动学筛选方法结合相关文献报道^[12-16]，将不符合筛选标准但入血成分、药效作用确切的成分进行补充，共获得 54 个蒲公英潜在药效成分，见表 1。通过 SwissTarget Prediction、STITCH、TCMSP 数据库预测其作用靶点，经去重汇总后共得到 464 个潜在的活性成分作用靶点。

3.2.2 蒲公英改善高脂血症潜在靶点分析 根据 2.2.2 项下筛选高脂血症相关靶点 2 664 个。将蒲公英活性成分靶点与高脂血症的相关靶点取交集并绘制韦恩图，得到共有潜在靶点 252 个，见图 2。

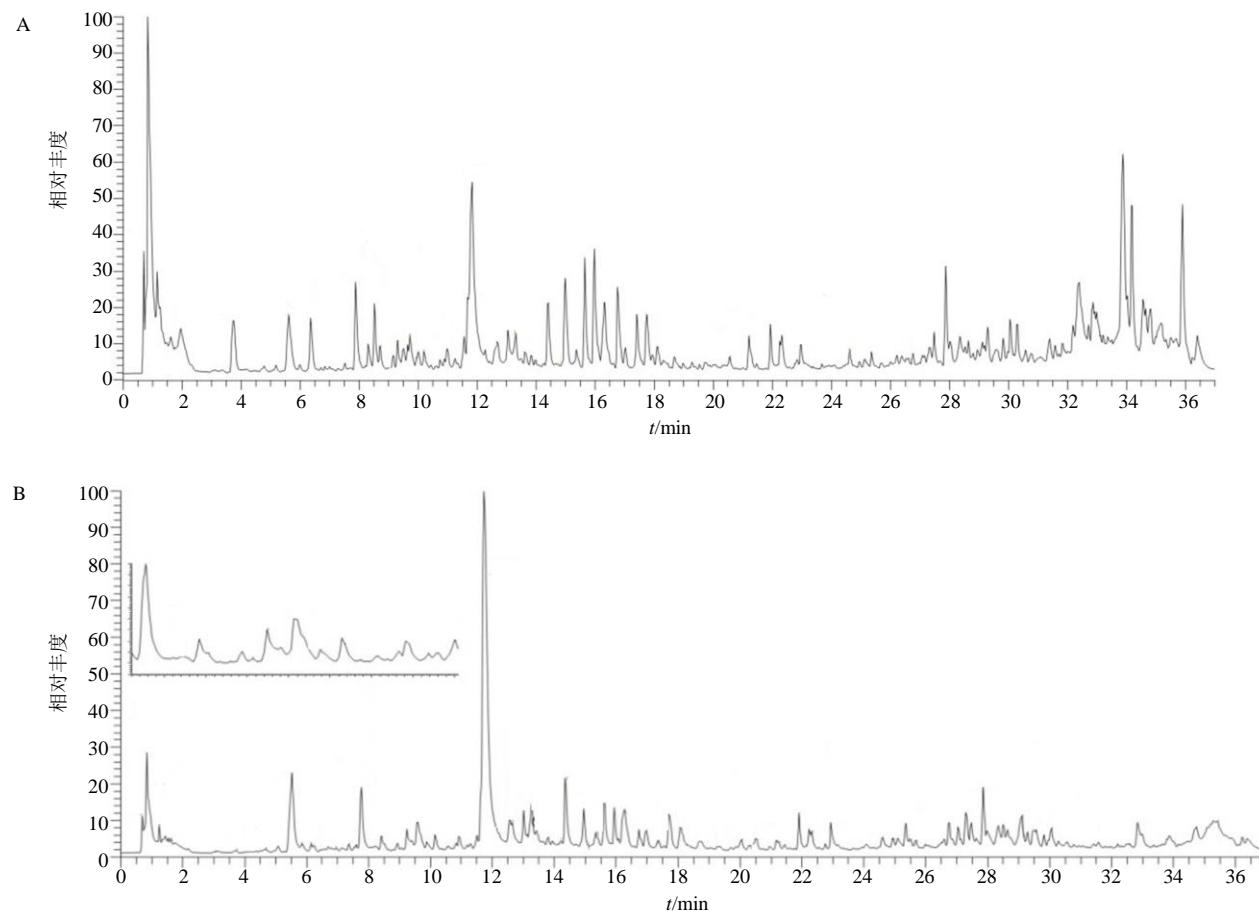


图 1 正离子 (A) 和负离子 (B) 模式下蒲公英的 TIC 图

Fig. 1 Total ion chromatography of *Taraxacum mongolicum* in positive ion (A) and negative ion (B) mode

表1 蒲公英活性成分信息

Table 1 Active components of *Taraxacum mongolicum*

编号	<i>t_R/min</i>	离子类型	<i>m/z</i>		误差	分子式	质谱碎片 MS/MS(<i>m/z</i>)	化合物
			理论值	实测值				
P1 [#]	0.77	[M-H] ⁻	173.103 3	173.103 7	0.438	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	156.053 7, 130.890 5	精氨酸
P2	0.84	[M-H] ⁻	146.044 7	146.045 1	0.396	C ₅ H ₉ NO ₄	127.843 5	谷氨酸
P3 [*]	1.61	[M+H] ⁺	123.044 0	123.044 1	-0.474	C ₇ H ₆ O ₂	94.813 9	苯甲酸
P4 ^{#&}	1.62	[M-H] ⁻	243.061 1	243.061 0	-0.113	C ₉ H ₁₂ O ₆ N ₂	199.897 6, 109.980 0	尿苷
P5 [*]	1.74	[M-H] ⁻	180.065 5	180.065 9	-0.108	C ₉ H ₁₁ NO ₃	162.963 1	酪氨酸
P6 ^{#&}	1.95	[M+H] ⁺	268.104 0	268.103 9	-0.120	C ₁₀ H ₁₃ O ₄ N ₅	135.839 7	腺苷
P7 ^{#&}	2.20	[M-H] ⁻	282.083 2	282.083 4	0.145	C ₁₀ H ₁₃ O ₅ N ₅	149.857 7	鸟苷
P8 [*]	3.28	[M-H] ⁻	137.023 3	137.024 2	0.939	C ₇ H ₆ O ₃	92.877 3, 108.804 9	对羟基苯甲酸异构体 1
P9 [*]	4.42	[M-H] ⁻	169.013 1	169.013 5	0.400	C ₇ H ₆ O ₅	150.778 0, 124.875 5	没食子酸
P10 [*]	4.94	[M-H] ⁻	167.033 8	167.034 3	0.465	C ₈ H ₈ O ₄	151.932 8, 122.938 3, 107.883 9	香草酸
P11 ^{#&}	5.53	[M-H] ⁻	311.039 7	311.039 3	-0.388	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	148.899 0, 178.879 0, 134.980 7	单咖啡酰酒石酸
P12 [*]	5.60	[M-H] ⁻	153.018 2	153.018 7	0.545	C ₇ H ₆ O ₄	108.823 0, 122.920 8	原儿茶酸
P13 [*]	5.75	[M+H] ⁺	179.070 2	179.070 4	-0.349	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	160.866 1, 150.808 8, 132.984 5	松柏醛异构体 1
P14 ^{#&}	5.85	[M-H] ⁻	353.086 7	353.086 1	-0.589	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	190.889 8, 178.964 7, 134.992 83	-咖啡酰奎宁酸
P15 [*]	5.88	[M-H] ⁻	197.044 4	197.044 7	0.320	C ₉ H ₁₀ O ₅	181.977 2, 152.960 4, 137.930 9	丁香酸
P16	5.91	[M-H] ⁻	137.023 3	137.024 2	0.929	C ₇ H ₆ O ₃	92.713 6, 108.971 5	对羟基苯甲酸异构体 2
P17 ^{&}	6.11	[M-H] ⁻	137.023 3	137.024 0	0.709	C ₇ H ₆ O ₃	119.024 4	原儿茶醛
P18 [*]	6.26	[M-H] ⁻	203.081 5	203.081 8	0.316	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	186.061 1	色氨酸
P19	6.35	[M+H] ⁺	147.065 1	147.063 5	-2.184	C ₆ H ₁₀ O ₄	118.984 6	丁二酸单乙酯
P20	6.57	[M-H] ⁻	161.023 3	161.023 8	0.539	C ₉ H ₆ O ₃	132.858 5, 104.960 1	伞形花内酯
P21 [*]	6.69	[M-H] ⁻	177.018 2	177.018 8	0.655	C ₉ H ₆ O ₄	132.957 7, 148.952 0	秦皮乙素
P22	7.06	[M+H] ⁺	179.070 2	179.070 3	0.029	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	150.827 2, 132.895 6, 160.959 6	松柏醛异构体 2
P23	7.41	[M-H] ⁻	165.054 6	165.055 1	0.569	C ₉ H ₁₀ O ₃	150.859 7, 134.865 5	对甲氧基苯乙酸
P24 ^{#&}	7.77	[M-H] ⁻	353.086 7	353.086 3	-0.789	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.092 8, 179.054 5, 134.889 7, 173.009 5	-咖啡酰奎宁酸
P25 [*]	8.16	[M-H] ⁻	191.033 8	191.034 3	0.495	C ₁₀ H ₈ O ₄	159.023 2, 176.020 3, 148.068 7, 120.026 5	东莨菪内酯
P26 ^{#&}	8.19	[M-H] ⁻	179.033 8	179.034 3	0.475	C ₉ H ₈ O ₄	134.948 1	咖啡酸
P27 [*]	8.40	[M-H] ⁻	193.049 5	193.049 9	0.405	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	164.905 4, 132.929 4	咖啡酸甲酯
P28 ^{#&}	8.42	[M-H] ⁻	353.086 7	353.086 1	-0.529	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	172.939 1, 178.896 5, 191.012 4, 134.945 5	-咖啡酰奎宁酸
P29	8.50	[M-H] ⁻	151.038 9	151.039 6	0.719	C ₈ H ₈ O ₃	106.891 4, 135.965 1, 122.894 9	香草醛
P30	8.69	[M-H] ⁻	625.139 9	625.138 4	-1.436	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	463.195 9, 301.136 7	槲皮素-3,7-O-β-D-二吡喃葡萄糖昔异构体 1
P31	8.79	[M-H] ⁻	771.197 8	771.195 8	-1.974	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	609.280 3, 301.125 4, 269.085 7	3,5,7,3',4'-pentahydroxy-8-methyl-flavone-7-O-β-D-xylopyranosyl(1→4)O-β-D-glucopyranosyl-3'-O-α-L-rhamnopyranoside 异构体 1
P32 [*]	8.96	[M-H] ⁻	339.070 8	339.070 0	-0.528	C ₁₅ H ₁₆ O ₉	176.917 9	秦皮甲素
P33	9.09	[M-H] ⁻	151.038 9	151.039 6	0.689	C ₈ H ₈ O ₃	106.787 0	对羟基苯乙酸
P34	9.24	[M-H] ⁻	595.129 3	595.128 0	-1.311	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	463.226 8, 433.185 4, 301.087 8	槲皮素-3-O-桑布双糖昔
P35	9.34	[M-H] ⁻	625.139 9	625.138 3	-1.616	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	463.102 4, 301.098 7	槲皮素-3,7-O-β-D-二吡喃葡萄糖昔异构体 2
P36	9.41	[M-H] ⁻	771.197 8	771.196 6	-1.723	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	609.335 2, 463.153 0, 301.093 23, 3,5,7,3',4'-pentahydroxy-8-methyl-flavone-7-O-β-D-xylopyranosyl(1→4)O-β-D-glucopyranosyl-3'-O-α-L-rhamnopyranoside 异构体 2	
P37	9.53	[M-H] ⁻	337.091 7	337.091 3	-0.972	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	191.011 3, 162.968 5, 172.840 0	对羟基肉桂酰奎宁酸
P38 [*]	9.79	[M-H] ⁻	373.149 3	373.148 7	-0.569	C ₁₇ H ₂₆ O ₉	210.919 7, 358.269 1, 304.968 6	二氢丁香昔
P39	9.88	[M-H] ⁻	771.197 8	771.197 3	-0.993	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	609.238 5, 285.131 9	3,5,7,3',4'-pentahydroxy-8-methyl-flavone-7-O-β-D-xylopyranosyl(1→4)O-β-D-glucopyranosyl-3'-O-α-L-rhamnopyranoside 异构体 3

续表1

编号	<i>t</i> _R /min	离子类型	<i>m/z</i>		误差	分子式	质谱碎片 MS/MS(<i>m/z</i>)	化合物
			理论值	实测值				
P40	9.91	[M-H] ⁻	207.065 1	207.065 4	0.225	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	191.959 2, 162.907 3	咖啡酸乙酯
P41	9.93	[M+H] ⁺	279.122 7	279.120 6	-2.060	C ₁₅ H ₁₈ O ₅	261.169 2, 251.124 6	11β,13-二氢山莴苣素
P42	9.99	[M-H] ⁻	625.139 9	625.138 9	-1.006	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	493.177 1, 331.150 3, 463.131 4isoetin-7-O-β-D-glucopyranosyl-2'-O-α-L-glucopyranoside	
P43*	10.11	[M-H] ⁻	335.076 1	335.075 7	-0.404	C ₁₆ H ₁₆ O ₈	178.918 1, 134.838 0, 263.025 13-O-咖啡酰莽草酸	
P44	10.14	[M-H] ⁻	595.129 3	595.128 1	-1.191	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	463.175 0, 301.093 0, 433.214 0isoetin-7-O-β-D-glucopyranosyl-2'-O-α-L-arabinopyranoside	
P45	10.55	[M-H] ⁻	595.129 3	595.128 3	-1.061	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	433.176 0, 463.236 5, 301.174 3isoetin-7-O-β-D-glucopyranosyl-2'-O-α-L-xylopyranoside	
P46*	10.58	[M-H] ⁻	367.102 3	367.101 9	-1.007	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	191.051 6, 172.862 4	阿魏酰奎宁酸
P47	10.81	[M-H] ⁻	343.081 2	343.084 1	2.911	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	301.167 1	槲皮素-3',4',7-三甲醚
P48*	10.84	[M-H] ⁻	609.145 0	609.143 6	-1.391	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	447.175 6, 285.079 1	木犀草素-7-O-β-D-龙胆二糖苷异构体 1
P49	10.87	[M-H] ⁻	771.197 8	771.197 5	-0.873	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	609.287 3, 447.394 1, 285.072 63,5,7,3',4'-pentahydroxy-8-methyl-flavone-7-O-β-D-xylopyranosyl(1→4)O-β-D-glucopyranosyl-3'-O-α-L-rhamnopyranoside 异构体 4	
P50	11.21	[M-H] ⁻	261.112 1	261.112 7	0.594	C ₁₅ H ₁₈ O ₄	217.027 2, 243.223 5	11-epi-8-desoxyartelin 异构体 1
P51*	11.26	[M-H] ⁻	447.092 1	447.091 6	-0.578	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	284.972 8	异荭草素
P52	11.32	[M-H] ⁻	425.180 6	425.179 9	-0.619	C ₂₁ H ₃₀ O ₉	263.135 9, 289.057 1	11β,13-二氢蒲公英酸-β-D-吡喃葡萄糖苷异构体 1
P53*	11.60	[M-H] ⁻	463.087 1	463.173 6	-1.480	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	301.124 2, 300.131 3	槲皮素-3-O-半乳糖苷
P54	11.63	[M-H] ⁻	265.143 4	265.143 1	-0.276	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	221.128 5, 247.027 6	arsanin
P55	11.65	[M-H] ⁻	427.196 2	427.195 8	-0.459	C ₂₁ H ₃₂ O ₉	265.147 3	蒲公英内酯-β-D-吡喃葡萄糖苷
P56**&	11.73	[M-H] ⁻	473.071 4	473.071 1	-0.342	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂	311.105 9, 293.021 6, 148.839 9菊苣酸	
P57	11.82	[M-H] ⁻	609.145 0	609.143 5	-1.461	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	285.089 7, 447.074 5	木犀草素-7-O-β-D-龙胆二糖苷异构体 2
P58#	11.84	[M-H] ⁻	193.049 5	193.049 9	0.365	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	133.898 3, 148.890 3, 177.887 4阿魏酸	
P59	12.15	[M-H] ⁻	609.145 0	609.143 4	-1.581	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	447.199 4, 285.116 9	木犀草素-7-O-β-D-龙胆二糖苷异构体 3
P60	12.51	[M+H] ⁺	289.143 4	289.141 3	-2.624	C ₁₇ H ₂₀ O ₄	220.867 4, 271.152 8	plebeiafuran 异构体 1
P61	12.65	[M-H] ⁻	433.076 5	433.076 1	-0.398	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	300.089 1, 300.996 0	槲皮素-3-O-α-D-阿拉伯糖苷异构体 1
P62	12.69	[M-H] ⁻	431.097 2	431.097 8	0.567	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	269.177 5	芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖苷异构体 1
P63	12.80	[M-H] ⁻	463.087 1	463.086 8	-0.252	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	301.061 9, 299.992 4	异槲皮苷
P64	12.87	[M+H] ⁺	289.143 4	289.141 3	-2.654	C ₁₇ H ₂₀ O ₄	220.746 4, 271.052 6	plebeiafuran 异构体 2
P65**#	12.97	[M-H] ⁻	463.087 1	463.086 7	-0.372	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	301.037 4, 299.973 5	槲皮素-7-O-β-D-葡萄糖苷
P66**#	13.01	[M-H] ⁻	593.150 0	593.148 2	-1.846	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	285.058 9	木犀草素-7-O-β-D-芸香糖苷
P67**#	13.20	[M-H] ⁻	461.071 4	461.071 2	-0.741	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	285.052 6, 357.217 4	木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷
P68**&	13.28	[M-H] ⁻	447.092 1	447.091 6	-0.578	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	285.090 0	木犀草苷
P69	13.75	[M-H] ⁻	433.076 5	433.076 1	-0.428	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	301.044 5, 299.991 7	槲皮素-3-O-α-D-阿拉伯糖苷异构体 2
P70	13.80	[M-H] ⁻	301.034 2	301.033 4	-0.859	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	150.873 8, 273.120 3, 256.982 2,isoetin 255.128 8	
P71	13.98	[M-H] ⁻	425.180 6	425.179 9	-1.167	C ₂₁ H ₃₀ O ₉	263.229 3	11β,13-二氢蒲公英酸-β-D-吡喃葡萄糖苷异构体 2
P72	14.01	[M-H] ⁻	477.102 7	477.102 2	-1.101	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	315.055 5, 299.998 6	异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷异构体 1
P73**#&	14.13	[M-H] ⁻	515.118 4	515.117 8	-0.602	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.096 2, 172.939 7, 335.228 6,4,5-二咖啡酰奎宁酸 191.083 3, 178.886 5	
P74**#&	14.36	[M-H] ⁻	515.118 4	515.117 6	-0.722	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.108 0, 191.066 8, 179.065 03,4-二咖啡酰奎宁酸	
P75	14.41	[M+H] ⁺	385.222 0	385.219 1	2.365	C ₂₀ H ₃₂ O ₇	367.188 1, 285.111 3	1,6-二羟基-顺-桉叶-3-烯-6-O-D-吡喃葡萄糖
P76	14.48	[M+H] ⁺	413.216 9	413.214 6	-2.913	C ₂₁ H ₃₂ O ₈	395.191 1, 301.295 1, 251.153 9sonchuside A	
P77**#&	14.72	[M-H] ⁻	477.102 7	477.102 5	-0.212	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	315.106 2, 300.022 2	异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷

续表1

编号	t_R/min	离子类型	m/z	理论值	实测值	误差	分子式	质谱碎片 MS/MS(m/z)	化合物
P78*	14.77	[M+H] ⁺	641.171 2	641.171 3	-0.384	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₇	317.128 1, 479.123 4		异鼠李素-3,7-O- β -D-双葡萄糖苷
P79*	14.81	[M-H] ⁻	417.154 3	417.153 8	-0.524	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	181.064 0, 402.266 2, 165.926 4, 150.957 5		丁香脂素异构体 1
P80*&	14.87	[M-H] ⁻	431.097 2	431.096 8	-0.431	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	269.003 2		芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷
P81	14.89	[M-H] ⁻	447.092 1	447.091 8	-0.358	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	285.046 3		木犀草苷异构体 1
P82*&	14.95	[M-H] ⁻	445.076 5	445.076 0	-1.066	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	269.139 7		芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷
P83	15.01	[M-H] ⁻	371.133 6	371.130 8	-2.829	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	209.165 4, 309.176 7, 126.975 8		丁香苷
P84	15.30	[M-H] ⁻	261.112 1	261.112 2	0.134	C ₁₅ H ₁₈ O ₄	217.105 0, 243.157 1		11-epi-8-desoxyartelin 异构体 2
P85	15.34	[M-H] ⁻	489.102 7	489.102 2	-1.011	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₂	285.075 6, 327.079 6		木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖酸苷乙酯
P86	15.37	[M-H] ⁻	461.107 8	461.107 3	-0.478	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	285.165 4, 446.155 3, 299.179 7		木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷异构体 1
P87*&	15.42	[M-H] ⁻	515.118 4	515.117 3	-1.032	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.066 1, 172.992 9		3,5-二咖啡酰奎宁酸
P88	15.53	[M-H] ⁻	461.107 8	461.108 3	-0.046	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	285.087 6, 299.159 4, 446.218 7		木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷异构体 2
P89	15.60	[M-H] ⁻	423.164 9	423.164 2	-0.679	C ₂₁ H ₂₈ O ₉	260.998 9, 217.082 2		蒲公英酸- β -D-吡喃葡萄糖苷异构体 1
P90	15.66	[M-H] ⁻	261.112 1	261.112 2	0.074	C ₁₅ H ₁₈ O ₄	216.979 2, 243.074 3		11-epi-8-desoxyartelin 异构体 3
P91	15.74	[M-H] ⁻	447.092 1	447.092 0	-0.148	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	284.976 9		木犀草苷异构体 2
P92	15.99	[M-H] ⁻	425.180 6	425.180 0	-0.529	C ₂₁ H ₃₀ O ₉	263.137 1, 288.885 5		11 β ,13-二氢蒲公英酸- β -D-吡喃葡萄糖苷异构体 3
P93	16.01	[M-H] ⁻	417.154 3	417.153 9	-0.494	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	180.940 1, 402.207 7, 165.868 6, 150.958 0		丁香脂素异构体 2
P94	16.16	[M-H] ⁻	423.164 9	423.165 4	-0.067	C ₂₁ H ₂₈ O ₉	261.119 5, 379.344 0		蒲公英酸- β -D-吡喃葡萄糖苷异构体 2
P95	16.26	[M-H] ⁻	387.107 4	387.107 6	-0.352	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	369.140 0, 329.158 3, 343.221 9		青蒿亭
P96	16.99	[M-H] ⁻	431.097 2	431.096 6	-0.653	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	269.064 4		芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷异构体 2
P97*	17.51	[M-H] ⁻	267.159 0	267.159 0	-0.056	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	249.123 6, 205.225 3, 185.084 7		四氢日登内脂 B
P98	17.73	[M-H] ⁻	577.155 1	577.153 4	-1.742	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	445.196 7, 285.067 2		木犀草素-3'- β -D-龙胆二糖苷
P99	18.04	[M-H] ⁻	263.127 7	263.128 4	0.694	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	219.052 5, 245.242 6		11 β ,13-二氢蒲公英酸异构体 1
P100*&	18.07	[M-H] ⁻	285.039 3	285.039 3	0.006	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	241.005 8, 199.096 6, 217.078 8, 174.971 3		木犀草素
P101*	18.10	[M-H] ⁻	301.034 2	301.033 5	-0.709	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	150.982 5, 178.965 5, 257.027 2, 273.002 2		槲皮素
P102	18.73	[M-H] ⁻	241.085 9	241.085 4	-1.039	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	212.938 9, 197.043 7, 226.042 6		taraxacin
P103	19.02	[M-H] ⁻	417.118 0	417.117 5	-0.489	C ₂₁ H ₂₁ O ₉	255.024 7, 375.318 3, 357.368 8		甘草苷
P104*	19.29	[M-H] ⁻	315.049 9	315.049 7	-0.189	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	300.052 6, 257.063 4		3-O-甲基槲皮素
P105	20.06	[M-H] ⁻	261.112 1	261.112 9	0.784	C ₁₅ H ₁₈ O ₄	217.178 6, 243.056 8		11-epi-8-desoxyartelin 异构体 4
P106*&	20.36	[M-H] ⁻	269.044 4	269.044 5	0.110	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	225.023 1, 200.949 9, 149.002 1, 150.833 9		芹菜素
P107	20.50	[M-H] ⁻	263.127 7	263.128 5	0.754	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	219.026 6, 245.148 5		11 β ,13-二氢蒲公英酸异构体 2
P108*	21.01	[M-H] ⁻	299.055 0	299.054 9	-0.115	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	283.956 1		山柰酚
P109*&	21.41	[M-H] ⁻	315.049 9	315.049 6	-0.279	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	300.033 3, 295.114 3, 246.852 2		异鼠李素
P110	21.91	[M-H] ⁻	299.055 0	299.054 9	-0.055	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	284.131 9		木犀草素-3'-甲醚
P111*	23.15	[M-H] ⁻	283.060 0	283.060 1	0.080	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	267.956 9		芫花素异构体 1
P112*	23.44	[M-H] ⁻	299.055 0	299.054 8	-0.145	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	284.014 0, 151.002 1, 256.142 2		香叶木素
P113	23.46	[M-H] ⁻	315.049 9	315.050 3	-0.098	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	300.062 7, 295.055 0, 246.957 0, 164.935 4		异鼠李素异构体
P114*	24.59	[M-H] ⁻	253.049 5	253.049 5	0.045	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	208.982 4, 150.933 3		白杨素异构体 1
P115	24.75	[M-H] ⁻	239.070 2	239.070 4	-0.389	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	224.077 3, 196.025 0		sesquiterpene ketolactone
P116*	24.93	[M-H] ⁻	255.065 1	255.065 2	0.035	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	212.966 7, 150.956 3, 210.966 2		甘草素
P117	24.97	[M-H] ⁻	283.060 0	283.060 0	-0.010	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	268.018 4		芫花素异构体 2
P118	25.35	[M-H] ⁻	253.049 5	253.049 6	0.085	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	208.981 9, 150.848 7		白杨素异构体 2
P119	25.68	[M-H] ⁻	283.060 0	283.060 1	-0.050	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	268.074 4		芫花素异构体 3
P120	26.77	[M-H] ⁻	253.049 5	253.049 7	0.205	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	208.936 4, 150.893 1		白杨素异构体 3

续表 1

编号	t_{R}/min	离子类型	m/z	误差	分子式	质谱碎片 MS/MS(m/z)	化合物
			理论值				
P121	28.00	$[\text{M}-\text{H}]^-$	253.049 5	253.049 7	0.175	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	209.008 6, 150.793 1 白杨素异构体 4
P122	29.10	$[\text{M}-\text{H}]^-$	253.049 5	253.049 6	0.145	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	208.977 0, 150.926 8 白杨素异构体 5
P123	29.63	$[\text{M}-\text{H}]^-$	291.231 8	291.231 9	0.073	$\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$	273.224 9, 263.199 1 亚麻酸甲酯
P124	30.11	$[\text{M}-\text{H}]^-$	253.049 5	253.049 6	0.145	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	208.984 1, 150.942 0 白杨素异构体 6
P125*	32.48	$[\text{M}-\text{H}]^-$	455.351 9	455.351 2	-1.260	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	409.006 5, 407.069 9, 391.006 5, 齐墩果酸异构体 1 375.086 6
P126	32.87	$[\text{M}-\text{H}]^-$	455.351 9	455.351 5	-1.020	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$	407.372 4, 409.077 6 齐墩果酸异构体 2

*: 蒲公英潜在药效成分; #: 文献筛选的蒲公英潜在药效成分; &: 经过对照品比对的化学成分

*: potential medicinal ingredients of *Taraxacum mongolicum* #: literature screening of potential medicinal components of *Taraxacum mongolicum* &: component safter comparison of reference materials

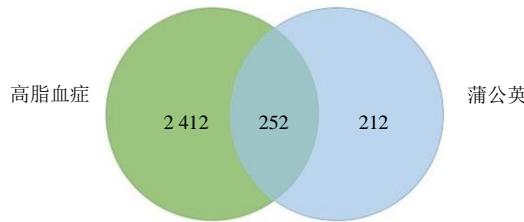


图 2 蒲公英活性成分靶点和高血脂症靶点的韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of active components of *Taraxacum mongolicum* targets and hyperlipidemia targets

3.2.3 PPI 网络及核心靶点 获取的交集靶点采用 Cytoscape 3.7.2 软件绘制 PPI 网络, 见图 3, 包括节点 150 个, 节点边 379 个。按 degree 值从大到小排序, 排在前 5 位的核心靶点分别为蛋白激酶 B (Akt1)、肿瘤蛋白 (TP53)、酪氨酸蛋白激酶 (SRC)、表皮生长因子受体 (EGFR) 和促分裂原活化蛋白激酶 3 (MAPK3), 表明这些靶点对蒲公英改善高脂血症有着重要意义。

3.2.4 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 利用 Metascape 数据库对蒲公英改善高脂血症作用靶点进行 GO 功能及 KEGG 分析。GO 功能富集分析了 2436 个 GO 生物功能条目, 包括 2036 个生物学过程 (BP), 119 个细胞组分 (CC) 和 281 个分子功能 (MF)。根据 P 值进行排序, 分别取 BP、CC、MF 富集基因前 10 位进行可视化分析, 见图 4。蒲公英改善高脂血症的靶点在 BP 上与激素水平的调节、对外来生物刺激的反应、细胞对氮化合物的反应、细胞对有机氮化合物的反应和炎症反应的调节等相关; 在 CC 上与细胞膜膜筏、膜微区、细胞质核周围区域、细胞囊腔和神经元胞体等相关; 在 MF 上与氧化还原酶活性、单氧酶活性、类固醇结合活性、单羧酸结合活性和核受体活性等相关。KEGG 通路富集分析结果显示, 共获得 208 条蒲公英改善

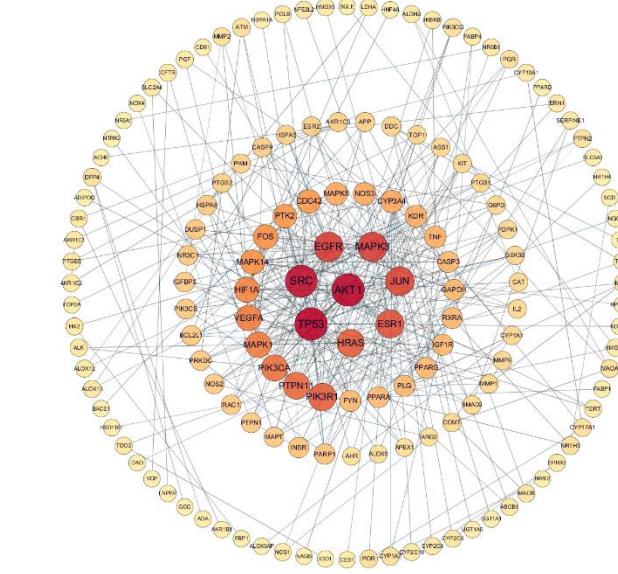


图 3 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network diagram

高脂血症信号通路, 按 P 值排序取前 20 位进行可视化分析, 见图 5。蒲公英改善高脂血症可能与脂质和动脉粥样硬化、含血清素的神经突触、流体剪切应力和动脉粥样硬化、胰岛素抵抗、晚期糖基化终末化产物 (AGE) - 晚期糖基化终末产物受体 (RAGE) 和类固醇激素生物合成等信号通路相关。

3.2.5 活性成分 - 靶点 - 通路网络 利用 Cytoscape 3.7.2 软件构建“活性成分 - 靶点 - 通路”网络, 共包括 618 个节点和 2 518 条边。根据网络拓扑参数 degree 值进行排名, 榆皮素、异鼠李素、香叶木素、白杨素、芹菜素作为关键活性成分, 他们分别连接 106、105、104、102、101 个靶点。将碳酸酐酶 2 (CA2)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)、肿瘤坏死因子 (TNF)、SRC、EGFR 和 Akt1 等靶点作为蒲公英发挥降脂活性作用的重要靶点。按 degree 值排序脂质与动脉粥样硬化、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K)/Akt 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)

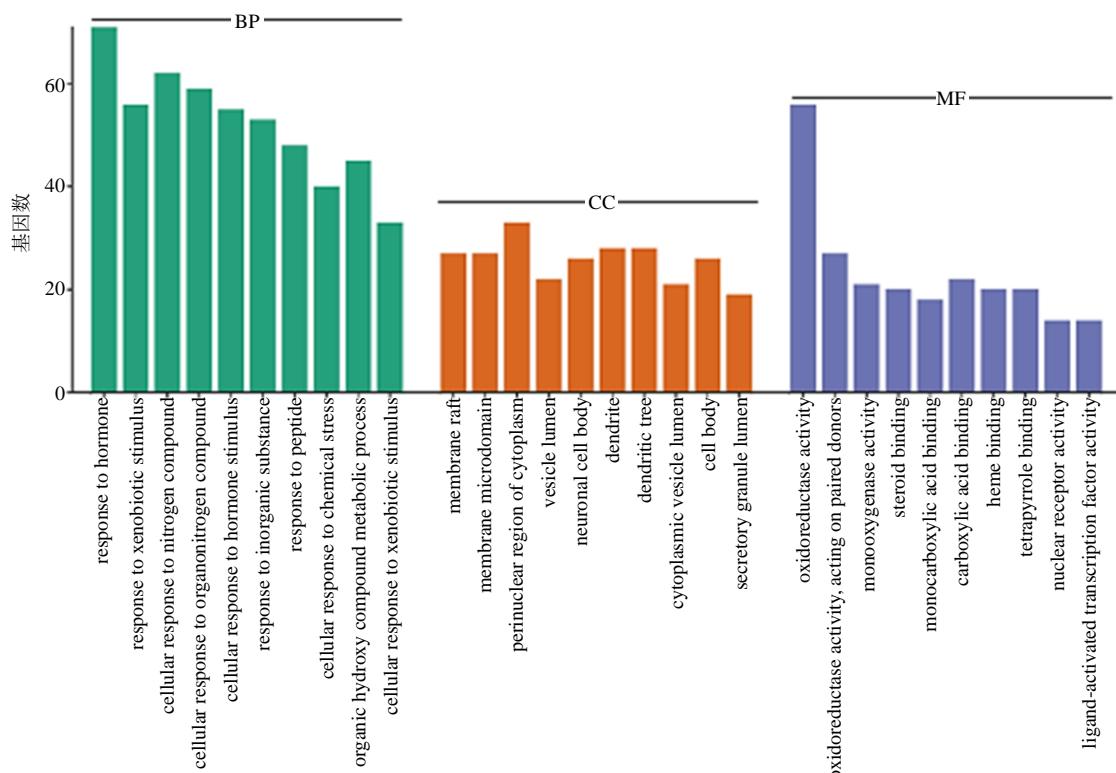


图4 GO功能分析
Fig. 4 Diagrams of GO function

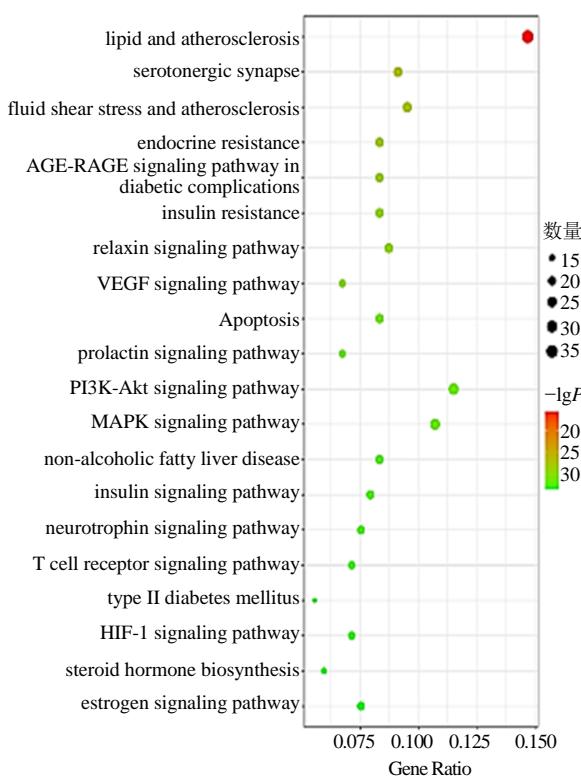


图5 KEGG富集分析
Fig. 5 Diagrams of KEGG pathway enrichment

信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化及 AGE-RAGE 信号通路为蒲公英改善高脂血症的重要通路，见图 6。

3.2.6 分子对接验证 选择“活性成分 - 靶点 - 通路”网络中 degree 值前 10 位的核心成分与核心靶点采用 AutoDock Tools 1.5.7 软件依次进行分子对接验证。蒲公英的核心成分与高脂血症的核心靶点的结合能热图，见图 7。槲皮素、异鼠李素、四氢日登内酯 B 与靶点 Akt1 结合较好，槲皮素、异鼠李素、木犀草素与靶点 TNF 结合能力较好，四氢日登内酯 B、白杨素与靶点 EGFR 结合较好，山柰酚、芹菜素、木犀草素与靶点 SRC 结合能力较好。使用 PyMOL 软件对核心成分与核心靶点进行可视化处理，见图 8。槲皮素与 TNF 在 TRP-28、GLN-47、ASN-46、LYS-90、GLU-50 位形成氢键，与 Akt1 在 ARG-67、THR-87、ARG-86 位形成氢键。四氢日登内酯 B 与 EGFR 在 CYS-797、SER-720、LYS-745 位形成氢键，与 Akt1 在 GLN-47、ALA-50、GLU-40、LYS-39 位形成氢键，与 TNF 在 GLN-47、LYS-90、GLU-50 位形成氢键。

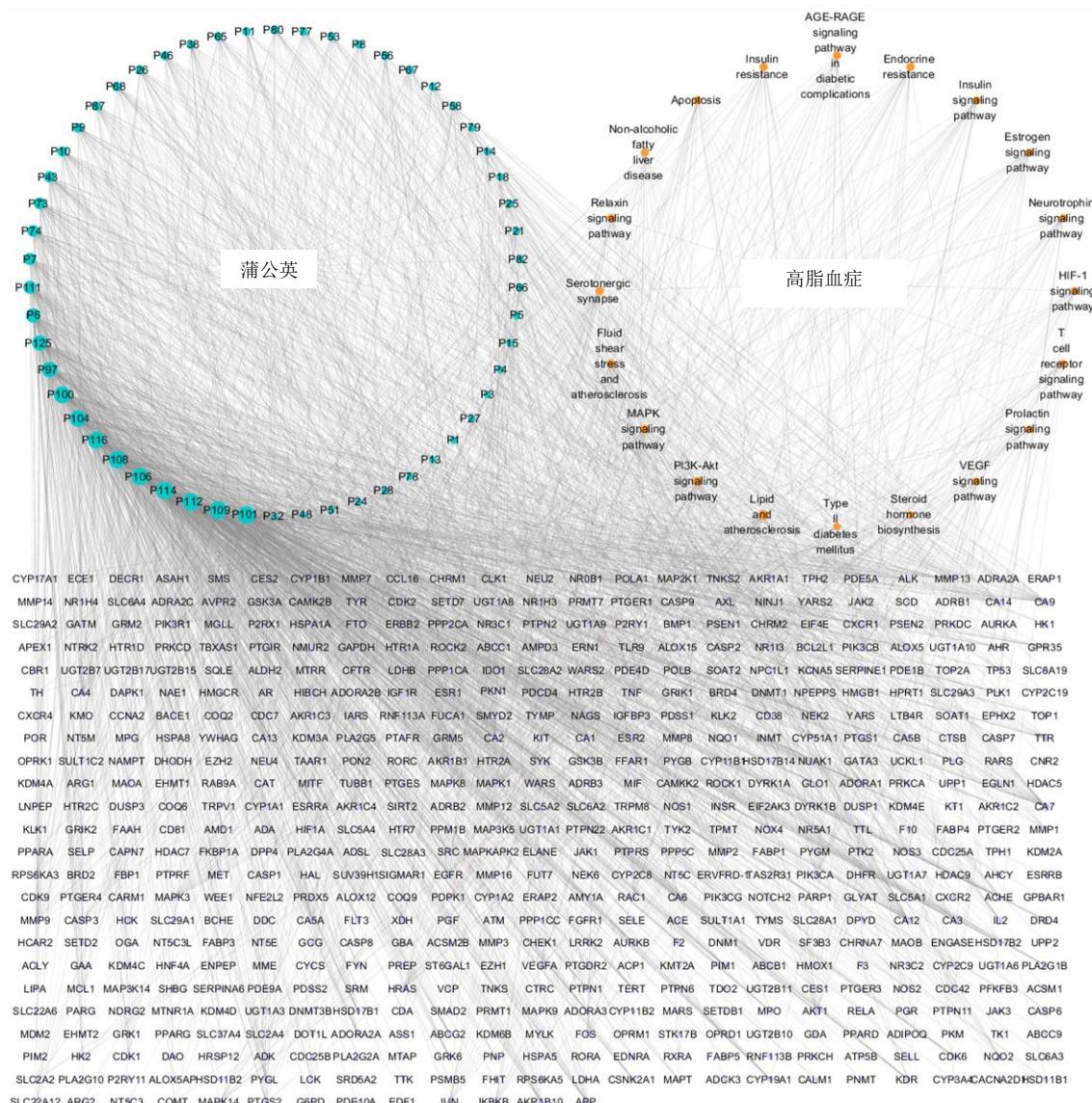


图6 活性成分-靶点-通路网络图

Fig. 6 Component-target-pathway network diagram

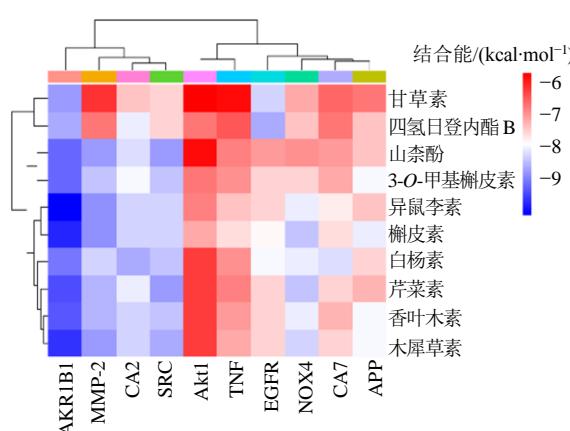


图7 分子对接数据热图分析

Fig. 7 Heat map analysis of molecular docking data

4 讨论

本研究采用UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS技术鉴定出蒲公英的主要化学成分黄酮类 58 个, 有机酸类 29 个, 蒽类 23 个。其中黄酮类化合物槲皮素可通过调节脂质代谢和肠道菌群而降低总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平, 调节血脂异常^[17]; 芹菜素可通过抑制低密度脂蛋白受体-1(LOX-1)基因表达, 提高淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)蛋白/Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2/Bax)比值从而降低高脂血症大鼠的血脂水平并发挥预防动脉粥样硬化的作用^[18]; 白杨素可能通过抗氧化而降低 TG 水平、血脂浓度, 且抗高胆固醇血症活性明显^[19-20]; 木犀草素、木犀草昔通过影响脂

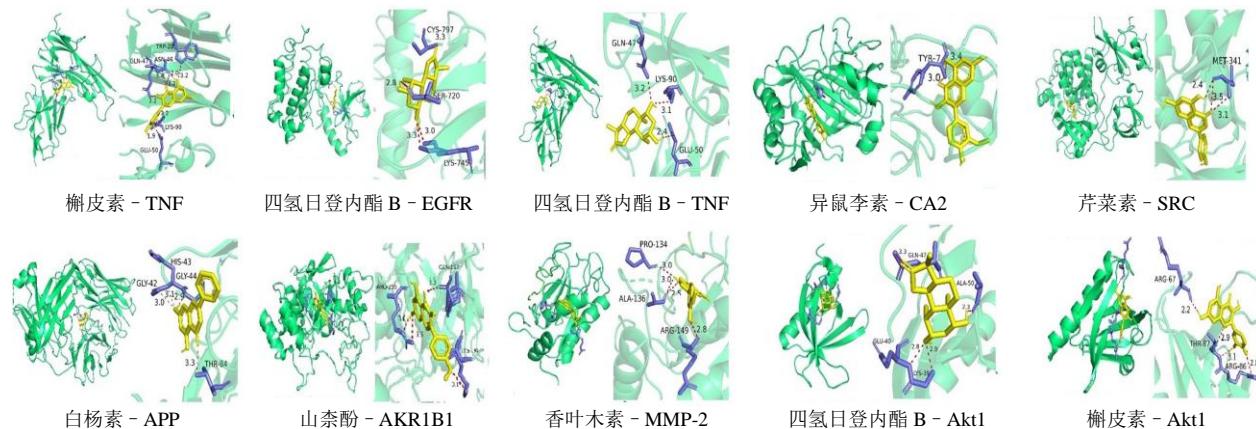


图8 分子对接可视化图

Fig. 8 Visualization of molecular docking

肪酸代谢、胆固醇的合成与转运等生物学过程发挥降脂作用，可作为调脂的潜在食源性物质^[21-23]。有机酸类成分咖啡酰奎宁酸可显著抑制脂质合成相关基因的表达，降低 HepG2 肝细胞内脂质积聚和细胞内 TC 和 TG 水平^[23-24]。萜类成分可能通过调节过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 通路治疗高脂血症^[25]。网络药理学研究结果显示，degree 值前 10 位的活性成分多数为黄酮类化学成分（榆皮素、异鼠李素、香叶木素、白杨素、山柰酚、木犀草素、芹菜素、甘草素）和一个萜类成分（四氢日登内酯 B）。由此推断，黄酮类成分可能是蒲公英发挥调脂活性的重要组成成分。

通过对蒲公英“活性成分 - 靶点 - 通路”网络分析，本研究发现蒲公英的活性成分主要通过 Akt1、TNF、EGFR、淀粉样前体蛋白 (APP)、SRC、MMP2、CA2、AKR1B1、CA7、NADPH 氧化酶 4 (NOX4) 等核心靶点发挥作用。TNF 作为参与炎症的重要信号分子，和炎症的发生发展密切相关，其家族蛋白水平已成为衡量高脂血症相关疾病发展和药物治疗的重要指标^[26-27]；Akt1 是胰岛素调节途径所必须，且可控制葡萄糖和脂质的稳态，Akt1 蛋白缺乏会导致内质网应激，影响脂质代谢过程，而激活的 Akt1 蛋白可以正向调节葡萄糖和脂肪的代谢^[28-30]；EGFR 对细胞的生长、增殖和分化等生理过程发挥重要作用，已被证实参与维持代谢稳态，其抑制剂能减少炎症、氧化应激反应^[31]；MMP-2 是一种锌依赖性和含钙的分泌型内蛋白酶，可高效降解胶原，促进平滑肌细胞迁移，在血管重生、炎症反应以及动脉粥样病变形成过程中起关键作用，其表达上调与高脂血症密切相关^[32-33]；SRC 是一种非

受体酪氨酸激酶基因，可促进吞噬、产生炎症细胞因子、诱导细胞增殖、迁移、凋亡等在免疫炎症反应中发挥重要作用，并在巨噬细胞脂质代谢中发挥相关作用^[34]；AKR1B1 的表达在氧化应激状态下被上调^[35]；NOX4 的表达在高血糖和缺氧的情况下上调，与糖尿病、糖尿病肾病、糖尿病视网膜血管病变等的发展密切相关^[36-37]；APP 是广泛存在于全身组织细胞上的单次跨膜蛋白，在调节脂质稳态过程中发挥重要作用^[38]；CA2、CA7 均为含锌金属蛋白酶，可参与糖类、脂肪、尿素的合成等生理过程^[39]。由此推断，蒲公英可能通过调节脂质、糖和免疫系统代谢、抑制炎症反应、氧化应激和内质网应激等多个生物过程改善高脂血症。

本研究发现，蒲公英核心靶点富集的通路与高脂血症发病机制密切相关，富集的通路主要包括脂质和动脉粥样硬化、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化和 AGE-RAGE 信号通路等。大量研究证实脂质异常与动脉粥样硬化密切相关^[40-41]，PI3K-Akt 信号通路作用广泛，能参与糖稳态、脂质代谢、蛋白合成等生命活动；同时，Akt 是核转录因子- κ B (NF- κ B) 的上游蛋白，NF- κ B 信号通路是 PI3K-Akt 通路的下游通路，在免疫、炎症及细胞增殖分化等生命活动中扮演重要角色，更是脂质代谢异常过程中重要的炎症通路^[42]。PI3K-Akt 信号通路的抑制会导致 NF- κ B 信号降低，进而抑制炎症因子分泌达到调控脂质代谢的目的^[43]。此外，NF- κ B 信号增加与肥胖和多种代谢紊乱有关，抑制 NF- κ B 信号通路可以有效下调 TG、TC 水平以调节脂质异常^[44]。MAPK 信号通路和脂质代谢中的炎症通路相关，其表达可抑制炎症

因子释放、减轻炎症反应^[45]，MAPK 信号通路可参与 NF-κB 的活化调节，NF-κB 可在炎症级联反应中发挥作用^[46]。流体剪切应力与调节内皮细胞的形态和功能密切相关，当血管中剪切应力增大时，相应位置的脂质降低^[47]。AGE-RAGE 信号通路能够激活 NF-κB 从而诱发炎症反应，促使 IL-6、IL-8、TNF-α 等炎症因子大量释放，导致组织细胞的功能障碍和结构损伤，同时激活的 NF-κB 也会反过来增强 RAGE 的表达重复该过程，其与糖尿病、动脉粥样硬化等高脂血症相关慢性疾病的发生密切相关^[48]。由此推断，蒲公英可能通过激活 NF-κB 调控上述信号通路减少脂质蓄积，改善高脂血症。

综上，本研究在对蒲公英化学成分表征的基础上，发现其改善高脂血症作用的主要活性成分可能为黄酮类成分，活性成分作用于 Akt1、TNF、EGFR 等核心靶点激活 NF-κB 而调控脂质和动脉粥样硬化、PI3K-Akt、MAPK、AGE-RAGE 等信号通路，通过调控脂质代谢、炎症反应、内质网应激、氧化应激和免疫调节等过程延缓高脂血症的发生发展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Shi L L, Wang J, Wang Y. MDG-1, an ophiopogon polysaccharide, alleviates hyperlipidemia in mice based on metabolic profile of bile acids [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 150: 74-81.
- [2] 刘迪, 刘阳, 郝珍飞, 等. 中药单体有效成分治疗高脂血症的研究进展 [J]. 中国处方药, 2023, 21(4): 177-180.
- [3] Zhang Y, Wang Z W, Jin G, et al. Regulating dyslipidemia effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on fat-emulsion-induced hyperlipidemiarats [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 101: 107-116.
- [4] 申玲玲, 朱春胜, 许石钟. 基于网络药理学的菊苣抗高脂血症作用机制研究 [J]. 现代药物与临床, 2020, 35(12): 2300-2306.
- [5] 许宏磊, 胡俊涛, 兰丙欣, 等. 蒲参胶囊联合匹伐他汀治疗高脂血症的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(10): 2926-2930.
- [6] 朱发伟, 叶合, 楼招欢, 等. 荷叶调节水通道蛋白拮抗高脂血症的作用机制研究 [J]. 上海中医药杂志, 2023, 57(2): 66-71.
- [7] 冯云霞, 张维丽, 谢沛霖, 等. 辛温通阳中药葱白提取物对高脂血症模型大鼠线粒体代谢相关限速酶表达的影响 [J]. 中医药学报, 2022, 50(7): 37-41.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 1120.
- [9] 孟然, 吴哲, 冯薇, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别及多成分定量的蒲公英质量评价研究 [J]. 中草药, 2022, 53(24): 7887-7896.
- [10] 王月娇, 沈明浩. 蒲公英对小鼠抗疲劳和降血脂及胃粘膜损伤恢复作用的试验 [J]. 毒理学杂志, 2009, 23(2): 143-145.
- [11] 葛艳艳, 张灵智, 崔萍, 等. 蒲公英酸奶的降糖降脂作用研究 [J]. 中兽医医药杂志, 2020, 39(4): 89-93.
- [12] 饶文婷, 罗尚菲, 张雅心, 等. 阿魏酸对高脂血症小鼠肝脂肪变性及肠道菌群的调节作用 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 36-42.
- [13] 王强, 陈东辉, 邓文龙. 金银花提取物对血脂与血糖的影响 [J]. 中药药理与临床, 2007(3): 40-42.
- [14] El-Tantawy W H, Temraz A, Hozaien H E, et al. Anti-hyperlipidemic activity of an extract from roots and rhizomes of *Panicum repens* L. on high cholesterol diet-induced hyperlipidemia in rats [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2015, 70(5-6): 139-144.
- [15] 刘思懿, 张秀平, 尚展鹏, 等. UHPLC-LTQ-Orbitrap 鉴定苦碟子注射液化学成分及其在大鼠血浆中的移行成分 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(12): 2235-2244.
- [16] 洪方, 闫艳, 赵雷, 等. 基于UHPLC-Q-TOF-MS 鉴定葛根汤的入血成分及其代谢产物 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(22): 5944-5952.
- [17] Wang T, Liu L, Deng J, et al. Analysis of the mechanism of action of quercetin in the treatment of hyperlipidemia based on metabolomics and intestinal flora [J]. *Food Funct*, 2023, 14(4): 2112-2127.
- [18] Xu Q, Li Y C, Du C, et al. Effects of apigenin on the expression of LOX-1, Bcl-2, and Bax in hyperlipidemia rats [J]. *Chem Biodivers*, 2021, 18(8): e2100049.
- [19] Ismail T A, Soliman M M, Nassan M A. Antihypercholesterolemic effects of mushroom, chrysanthemum, curcumin and omega-3 in experimental hypercholesterolemic rats [J]. *J Food Nutr Res*, 2015, 3: 1-11.
- [20] Zarzecki M S, Araujo S M, Bortolotto V C, et al. Hypolipidemic action of chrysanthemum on triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice [J]. *Toxicol Rep*, 2014, 1: 200-208.
- [21] Sun J, Wang Z, Lin C, et al. The hypolipidemic mechanism of chrysanthemum flavonoids and its main components, luteolin and luteoloside, based on the gene expression profile [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 952588.
- [22] Sun J, Wang Z, Chen L, et al. Hypolipidemic effects and preliminary mechanism of chrysanthemum flavonoids, its main components luteolin and luteoloside in hyperlipidemia rats [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(8): 1309.
- [23] 吴崇明, 栾红, 王帅, 等. 露兜簕来源咖啡酰奎宁酸抑制 HepG2 肝细胞脂质积聚并调节脂代谢相关基因的表达 [J]. 药学学报, 2015, 50(3): 278-283.
- [24] Pil hwang Y, Gyun Kim H, Choi J H, et al. 3-Caffeoyl, 4-dihydrocaffeoylquinic acid from *Salicornia herbacea* attenuates high glucose-induced hepatic lipogenesis in human HepG2 cells through activation of the liver kinase

- B1 and silent information regulator T1/AMPK-dependent pathway [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(3): 471-482.
- [25] 姜慧洁, 张晓静, 张慧, 等. 基于 PPARs 靶标改善胰岛素抵抗的中药活性成分研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(22): 4355-4358.
- [26] Hussey B, Steel R P, Gyimah B, et al. DNA methylation of tumour necrosis factor (TNF) alpha gene is associated with specific blood fatty acid levels in a gender-specific manner [J]. *Mol Genet Genom Med*, 2021, 9(12): e1679
- [27] Yu D, Ye X L, Wu Q, et al. Insulin sensitizes FGF21 in glucose and lipid metabolisms via activating common AKT pathway [J]. *Endocrine*, 2016, 52(3): 527-540.
- [28] Azemi A K, Siti-Sarah A R, Mokhtar S S, et al. Time-restricted feeding improved vascular endothelial function in a high-fat diet-induced obesity rat model [J]. *Vet Sci*, 9(5): 217.
- [29] Shen Y B, Yang S N, Hu X Y, et al. Natural product puerarin activates Akt and ameliorates glucose and lipid metabolism dysfunction in hepatic cells [J]. *J Funct Foods*, 2019, 55: 296-304.
- [30] Li X, Chen H, Yang H, et al. Study on the potential mechanism of tonifying kidney and removing dampness formula in the treatment of postmenopausal dyslipidemia based on network pharmacology, molecular docking and experimental evidence [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 918469.
- [31] Choung S, Kim J M, Joung K H, et al. Epidermal growth factor receptor inhibition attenuates non-alcoholic fatty liver disease in diet-induced obese mice [J]. *PLoS One*, 2019, 14(2): e0210828.
- [32] 常宁, 胡佳, 赵刘乐, 等. 老年精神分裂症合并糖尿病患者血清 HIF-1 α 、MMP2、IL-13 表达与糖脂代谢的关系 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(4): 720-723.
- [33] Qin Y H, Fan F S, Zhao Y, et al. Recombinant human CXCL8(3-72)K11R/G31P regulates smooth muscle cell proliferation and migration through blockage of interleukin-8 receptor [J]. *IUBMB Life*, 2013, 65(1): 67-75.
- [34] 朱顺星, 刘海鸥, 刘春, 等. 高脂血症大鼠心脏组织中 src 抑制的 C 激酶底物表达的变化 [J]. 苏州大学学报: 医学版, 2010, 30(6): 1176-1178.
- [35] 崔鹏飞. 肝细胞癌中 AKR1B1 表达及机制的初步研究 [D]. 南京: 东南大学, 2022.
- [36] Huang Y, Li X, Zhang X, et al. Oxymatrine ameliorates memory impairment in diabetic rats by regulating oxidative stress and apoptosis: Involvement of NOX2/NOX4 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 3912173.
- [37] Tang X, Wang J, Abboud H E, et al. Sustained upregulation of endothelial Nox4 mediates retinal vascular pathology in type 1 diabetes [J]. *Diabetes*, 2023, 72(1): 112-125.
- [38] Grimm M O, Mett J, Grimm H S, et al. APP function and lipids: A bidirectional link [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 63.
- [39] De Giusti C J, Blanco P G, Lamas P A, et al. Carbonic anhydrase II/sodium-proton exchanger 1 metabolon complex in cardiomyopathy of ob^{-/-} type 2 diabetic mice [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 136: 53-63.
- [40] Olkowicz M, Czyzynska-Cichon I, Szupryczynska, et al. Multi-omic signatures of atherogenic dyslipidaemia: pre-clinical target identification and validation in humans [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 6.
- [41] Hasheminasabgorji E, Jha J C. Dyslipidemia, diabetes and atherosclerosis: Role of inflammation and ROS-redox-sensitive factors [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(11): 1602.
- [42] Long H D, Lin Y E, Liu M J, et al. Spironolactone prevents dietary-induced metabolic syndrome by inhibiting PI3-K/Akt and p38MAPK signaling pathways [J]. *J Endocrinol Invest*, 2013, 36(11): 923-930.
- [43] 胡文君, 张振, 戴敏. 丹皮酚通过抑制 PI3K/AKT-NF- κ B 通路对 LPS 诱导的与平滑肌细胞共培养的大鼠血管内皮细胞的保护作用 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(12): 2298-2302.
- [44] Real J T, Martínez-Hervás S, García-García A B, et al. Circulating mononuclear cells nuclear factor- κ B activity, plasma xanthine oxidase, and low grade inflammatory markers in adult patients with familial hypercholesterolemia [J]. *Eur J Clin Invest*, 2010, 40(2): 89-94.
- [45] Zhang W, Jia L, Zhao B, et al. Quercetin reverses TNF- α induced osteogenic damage to human periodontal ligament stem cells by suppressing the NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(4): 39.
- [46] Zhang P Y, Yu B, Men W J, et al. Acetyl- α -boswellic acid and acetyl- β -boswellic acid protects against caerulein-induced pancreatitis via down-regulating MAPKs in mice. [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 86: 106682.
- [47] Cheng C, Tempel D, van Haperen R, et al. Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress [J]. *Circulation*, 2006, 113(23): 2744-2753.
- [48] Liu F, Fu Y, Wei C, et al. The expression of GPR109A, NF- κ B and IL-1 β in peripheral blood leukocytes from patients with type 2 diabetes [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2014, 44(4): 443-448.

[责任编辑 高源]