

基于 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的掌叶大黄胰脂肪酶抑制剂高效筛选及抗肥胖机制研究

武晓玉^{1,2,3}, 陶子豪¹, 迪丽尼尕尔·阿布都艾尼¹, 张欣艺¹, 吴国泰¹, 魏舒畅^{1,2}, 段文达^{1,3}, 潘燕龙¹, 赵磊^{1,3*}, 马银云¹

1. 甘肃中医药大学药产业创新研究院, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中药制药工艺工程研究中心, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要: 目的 建立一种集成化研究策略, 以实现从掌叶大黄 *Rheum palmatum* 中快速筛选胰脂肪酶抑制剂并系统探究其抗肥胖作用机制。方法 采用化学共沉淀法、Stöber 法及交联法制备胰脂肪酶修饰磁性纳米材料 ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$), 并利用傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)、扫描电子显微镜 (scanning electron microscopy, SEM) 及 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 进行表征; $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 对掌叶大黄提取液进行配体垂钓, 利用 UPLC 及对照品进行初步鉴定; 进一步整合分子对接与网络药理学方法, 从分子互作、靶点映射及通路富集多个维度进行机制预测。结果 表征结果显示其表面存在酶包覆层及 Fe-O、Si-O-Si、-NH₂ 特征吸收峰, 表明胰脂肪酶被成功固载于载体表面。垂钓实验特异性捕获 4 种化合物, 分别为大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄酚; 其中大黄酚、芦荟大黄素对胰脂肪酶具有较高的抑制作用, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 67.03、85.86 $\mu\text{mol/L}$ 。分子对接提示活性成分可与胰脂肪酶关键氨基酸残基形成氢键及疏水相互作用。网络药理学获得活性成分与肥胖交集靶点 150 个; 筛选出表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、蛋白激酶 B1 (protein kinase B1, AKT1)、原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src (proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src, SRC)、热休克蛋白 90A1 (heat shock protein 90 alpha family class A member 1, HSP90A1)、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, BCL2) 5 个核心靶点; 通路富集分析显示 HIF-1 信号通路和脂质与动脉粥样硬化通路是主要作用途径。结论 开发了一套“材料筛选-计算验证-网络预测”的集成方法, 不仅为中药活性成分的高通量发现提供了有效工具, 也为从系统生物学角度阐明中药多靶点作用机制提供了方法学参考。**关键词:** 抗肥胖; 胰脂肪酶抑制剂; 掌叶大黄; 固定化酶; 配体垂钓; 网络药理学; 分子对接; 大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄酚

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2026)15-5814-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.15.004

High-efficiency screening of pancreatic lipase inhibitors of *Rheum palmatum* based on $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ and their anti-obesity mechanism study

WU Xiaoyu^{1,2,3}, TAO Zihao¹, ABUDUAINI Dilinigaer¹, ZHANG Xinyi¹, WU Guotai¹, WEI Shuchang^{1,2}, DUAN Wenda^{1,3}, PAN Yanlong¹, ZHAO Lei^{1,3}, MA Yinyun¹

1. Gansu Pharmaceutical Industry Innovation Research Institute, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Gansu Engineering Research Center for Chinese Medicine Pharmaceutical Technology, Lanzhou 730000, China

3. Key Laboratory of Chemistry and Quality Research of Traditional Chinese Medicine in Colleges of Gansu Province, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To develop an integrated strategy for rapid screening of pancreatic lipase (PPL) inhibitors from *Rheum palmatum* and systematically investigate their potential anti-obesity mechanisms. **Methods** $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ was synthesized via

收稿日期: 2026-05-28

基金项目: 甘肃省科技计划项目 (科技专员专项) (25CXGA022); 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室开放课题 (ZDSYS-KJ-2024-001); 甘肃中医药大学研究生创新创业基金项目 (2026CXCY-320)

作者简介: 武晓玉, 副教授, 硕士生导师, 从事天然产物、中药等复杂体系中有效成分分离分析新材料、新技术和新方法研究。

E-mail: wxypzw@163.com

*通信作者: 赵磊, 女, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及质量控制研究。E-mail: zzyhx@gszy.edu.cn

chemical co-precipitation, Stöber method, and cross-linking, and characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM), and X-ray diffraction (XRD). The $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ was applied in ligand fishing experiments on an ethanol extract of *R. palmatum*, and the captured ligands were identified by UPLC with reference standards. Molecular docking and network pharmacology were integrated to conduct mechanism prediction from multiple dimensions such as molecular interaction, target mapping, and pathway enrichment. **Results** Material characterization revealed the presence of an enzyme coating layer on the surface, along with characteristic absorption peaks of Fe-O, Si-O-Si, and $-\text{NH}_2$, indicating that pancreatic lipase was successfully immobilized on the carrier surface. Four compounds were specifically captured by fishing experiments, including chrysophanol-8- O - β -D-glucopyranoside, aloe-emodin, rhein, and chrysophanol. Among them, chrysophanol and aloe-emodin exhibited high inhibitory effects against pancreatic lipase, with median inhibition concentration (IC_{50}) values of 67.03 and 85.86 $\mu\text{mol/L}$, respectively. Molecular docking suggested that the active components can form hydrogen bonds and hydrophobic interactions with key amino acid residues of pancreatic lipase. Network pharmacology identified 150 overlapping targets between the active components and obesity. Screening out the five core targets: epidermal growth factor receptor (EGFR) and protein kinase B1 (AKT1), proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src (SRC), heat shock protein 90 alpha family class A member 1 (HSP90AA1), and B-cell lymphoma-2 (BCL2). Pathway enrichment analysis indicated that the HIF-1 signaling pathway and the lipid and atherosclerosis pathway were the main mechanisms of action. **Conclusion** An integrated approach combining material-based screening, computational validation, and network prediction was established. This strategy provides an efficient tool for high-throughput screening of bioactive compounds from traditional Chinese medicines and offers methodological insights into clarifying the multi-target action mechanism of traditional Chinese medicine from the perspective of systems biology.

Key words: anti-obesity; pancreatic lipase inhibitor; *Rheum palmatum* L.; enzyme immobilization; ligand fishing; network pharmacology; molecular docking; chrysophanol-8- O - β -D-glucopyranoside; aloe-emodin; rhein; chrysophanol

肥胖是因能量失衡导致的慢性代谢病，其会显著增加心血管疾病、2 型糖尿病等并发症风险^[1]，并造成沉重经济负担。预计 2035 年我国由肥胖直接导致的医疗费用将达 7 169 亿元^[2]；这凸显出寻求安全有效的肥胖干预策略已刻不容缓。

胰脂肪酶 (pancrelipases, PL) 是膳食脂肪消化的关键酶，催化 50%~70% 的三酰甘油水解，成为抗肥胖药物的重要靶点^[3-4]。现有胰脂肪酶抑制剂如奥利司他和西替司他，或因胃肠道副作用及脂溶性维生素缺乏导致依从性差，或仅在部分国家获批使用^[5-7]。因此，亟需更安全有效的替代药物。天然产物因结构多样、不良反应低而备受关注。

大黄具攻积滞、泻热毒、行瘀血等功效^[8]。文献报道大黄提取物可显著抑制胰脂肪酶活性^[9]；大黄素、芦荟大黄素、大黄酸及原花青素类化合物均表现出较强的抑制活性^[10]；其中，原花青素 B5 衍生物抑制效果优于奥利司他^[11]。尽管大黄抗肥胖作用明确，但其抑制胰脂肪酶的具体活性成分群及分子机制尚未完全阐明。

传统胰脂肪酶抑制剂筛选方法 (如对硝基苯酚法、荧光法) 存在假阳性、成本高、易受干扰等局限，难以适用于中药复杂体系^[12-13]。基于固定化酶的配体垂钓技术，特别是磁性固定化酶材料，兼具易分离、稳定性好及可重复使用等优点，为高效筛

选提供了新策略^[14-15]。

为此，本研究拟构建胰脂肪酶修饰磁性纳米材料 ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$)，建立配体垂钓方法，从掌叶大黄提取液中快速筛选胰脂肪酶抑制剂；并结合分子对接与网络药理学，系统探讨其抗肥胖的多靶点机制，以期对中药复杂体系中胰脂肪酶抑制剂的高通量筛选提供可行策略，也为阐释掌叶大黄抗肥胖的多靶点机制提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

DF-101Z 集热式磁力搅拌器，上海析牛莱伯仪器有限公司；SHA-C 水浴恒温振荡器，上海皓庄仪器有限公司；DZF-6050 真空干燥箱，上海铂温仪器有限公司；iCAN9 红外检测仪，天津市能谱科技有限公司；Vanquish Core 高相液相色谱仪，赛默飞世尔科技；SpectraMax190 全波长酶标仪，美谷分子仪器 (上海) 有限公司；Secura125-1CN 电子天平，赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司。

1.2 试剂与材料

大黄饮片 (批号 2505067，产地甘肃) 购自甘肃陇脉药材有限公司；大黄饮片经甘肃中医药大学强正泽副教授鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 干燥根；硫酸亚铁 (批号 20220617，天津市大茂化学试剂厂)；三氯化铁六水合物 (批号

02207198, 北京迈瑞达科技有限公司); 戊二醛 (批号 C2517408, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 胰脂肪酶 (批号 JS237489, 上海源叶生物科技有限公司); 4-硝基苯基丁酸酯 (批号 O30IS229703, 上海源叶生物科技有限公司); 对硝基苯酚 (*p*-NP, 批号 K2514263, 上海源叶生物科技有限公司); 奥利司他 (批号 JS236780, 上海源叶生物科技有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号 A381250624; 碧云天生物技术有限公司); 色谱纯甲醇、乙腈 (北京迈瑞达科技有限公司); 超纯水由 Milli-Q 系统制备; 其他试剂均为分析纯。

分子对接软件为 AutoDockTools 1.5.7 (美国 Scripps 研究所)。

2 方法

2.1 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 制备及评价

2.1.1 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 制备及表征 1.39 g FeSO₄·7H₂O 和 2.70 g FeCl₃·6H₂O 溶于 250 mL 超纯水, N₂ 保护下滴加 25% 氨水 50 mL 调 pH 至 10, 80 °C、350 r/min 搅拌反应 1 h。磁分离收集沉淀, 用无水乙醇和超纯水洗涤至中性, 50 °C 真空干燥 4 h, 得 Fe₃O₄ 颗粒。

1.00 g Fe₃O₄ 分散于 200 mL 无水乙醇和 40 mL 超纯水, 超声 30 min。加入 7 mL 25% 氨水, 350 r/min 搅拌下滴加 3 mL 正硅酸乙酯, 50 °C 反应 6 h。磁分离收集产物, 无水乙醇洗涤 3 次, 50 °C 真空干燥 12 h, 得 Fe₃O₄@SiO₂。

1.00 g Fe₃O₄@SiO₂ 分散于 100 mL 无水乙醇, 超声 30 min。N₂ 保护、350 r/min 搅拌下缓慢滴加 3 mL 3-氨基丙基三乙氧基硅烷, 60 °C 反应 12 h。磁分离收集产物, 无水乙醇洗涤 3 次, 50 °C 真空干燥 12 h, 得 Fe₃O₄@SiO₂-NH₂。

精密称取 20.0 mg Fe₃O₄@SiO₂-NH₂, 加入 2 mL 3% 戊二醛溶液, 于 25 °C、180 r/min 振荡反应 2 h。磁分离后 PBS 洗涤 3 次, 得 Fe₃O₄@SiO₂-NH₂@CHO。精密称取 10.03 mg 猪胰脂肪酶溶于 2 mL PBS (pH 7.4), 其与 Fe₃O₄@SiO₂-NH₂@CHO 混合, 于 25 °C、120 r/min 振荡反应 4 h。磁分离, PBS 洗涤 3 次, 得 Fe₃O₄@SiO₂@PPL, 4 °C 保存备用。

采用傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)、扫描电子显微镜 (SEM)、X 射线衍射 (XRD) 进行表征。

2.1.2 固定化效率评价 采用二辛可宁酸法 (bicinchoninic acid, BCA) 法测定蛋白质浓度。以牛血清白蛋白 (BSA) 绘制标准曲线。分别取固定

化前的胰脂肪酶原液及固定化后的吸附残液, 与 BCA 工作液混合, 于 37 °C 孵育 30 min, 562 nm 处测定吸光度。并按公式 (1) (2) 计算固定化率与负载量。

$$\text{酶固定化率} = (C_0 - C_e) / C_0 \quad (1)$$

$$\text{负载量} = (C_0 - C_e) \times V / m \quad (2)$$

C_0 为原液中蛋白质质量浓度, C_e 为吸附残液中蛋白质质量浓度, V 为反应液总体积, m 为 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 质量。

2.2 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 的性能评价

2.2.1 胰脂肪酶活力测定 采用比色法测定 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 和游离胰脂肪酶的酶活性。精密配制 0、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mmol/L *p*-NP 的对照品溶液。以 *p*-NP 浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标建立标准曲线。

游离胰脂肪酶溶液 (5 mg/mL) 20 μL 加入 140 μL pH 7.0 PBS 缓冲液中, 37 °C 孵育 5 min; 加入 0.8 mmol/L 底物 4-硝基苯基丁酸酯 (4-nitrophenyl-butyrate, *p*-NPB) 溶液 40 μL, 405 nm 下测定反应 0、10 min 的吸光度 (A)。按公式 (3) 计算其酶活力。

$$\text{酶活力} = \Delta A \times V_{\text{total}} \times n / (k \times t \times V_{\text{enzyme}}) \quad (3)$$

ΔA 为 A 变化值, V_{total} 为反应体系总体积, n 为稀释倍数, k 为 *p*-NP 标准曲线斜率, t 为反应时间, V_{enzyme} 加入酶液体积

将 5 mg 胰脂肪酶固定于 20 mg 磁性载体上制备 Fe₃O₄@SiO₂@PPL, 反应体系同游离胰脂肪酶; 反应 10 min, 磁分离, 取上清液, 405 nm 处测定 A 。按公式 (4) 计算其酶活力。

$$\text{酶活力} = (A - b) \times V_{\text{total}} / (k \times t \times m) \quad (4)$$

b 为 *p*-NP 标准曲线的截距, V_{total} 为反应体系总体积, k 为 *p*-NP 标准曲线斜率, t 为反应时间, m 为材料质量

2.2.2 热稳定性 取等量游离胰脂肪酶溶液与 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 各 5 份, 分散于 pH 9.0 缓冲液中, 于 25、35、45、55、65 °C 下恒温孵育 1 h; 孵育结束后, 测定各组胰脂肪酶活性。以所测得最高胰脂肪酶酶活性为 100%, 计算不同温度下游离酶与固定化酶的相对活性。

2.2.3 pH 稳定性 取等量游离胰脂肪酶溶液和 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 各 5 份, 置于 pH 为 3、5、7、9、11 的 PBS 缓冲液中, 25 °C 恒温孵育 1 h; 孵育结束后, 测定胰脂肪酶活性。以所测得最高胰脂肪酶活性为 100%, 计算不同 pH 下游离酶与固定化酶的相对活性。

2.3 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 重复使用性

取 10 mg Fe₃O₄@SiO₂@PPL, 加入 1 mL 底物 *p*-NPB 溶液, 在 25 °C、pH 9.0 条件下反应 10 min。

反应结束后,磁分离回收 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 。按上述步骤连续循环操作 10 次。以第 1 次循环测得的胰脂肪酶活力为 100%, 计算各次循环后固定化酶的相对活力。

2.4 活性分配体垂钓

2.4.1 掌叶大黄 30%乙醇溶液的制备 取掌叶大黄饮片,粉碎后过四号筛。精密称取粉末 10.005 6 g,加 30%乙醇溶液 100 mL,加热回流提取 1 h,冷却至室温,以 4 000 r/min 离心 10 min,上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4.2 色谱条件 色谱柱为 Hypersil GOLD (100 $\times$ 4.6 mm, 3 μm),流动相为乙腈 (C)-0.05%甲酸溶液 (D);梯度洗脱程序:0~30 min, 15%~21% C; 30~50 min, 21%~50% C; 50~51 min, 50%~100% C; 51~57 min, 100% C; 57~58 min, 100%~15% C; 58~63 min, 15%~15% C; 体积流量为 0.3 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量为 4 μL ;检测波长为 254 nm。

2.4.3 配体垂钓模型构建 分别建立大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪的标准曲线。大黄酸在 20~400 $\mu\text{g/mL}$ 回归方程为 $Y=0.748\ 2\ X+2.349\ 2$ ($R^2=0.999\ 7$);芦荟大黄素在 40~400 $\mu\text{g/mL}$ 回归方程为 $Y=0.531\ 6\ X+1.051\ 3$ ($R^2=0.999\ 8$);川芎嗪在 50~500 $\mu\text{g/mL}$ 回归方程为 $Y=0.883\ 5\ X+2.682\ 1$ ($R^2=0.999\ 8$),三者均呈良好线性关系。以已报道潜在胰脂肪酶抑制剂大黄酸、芦荟大黄素为阳性对照,以无特异性相互作用的川芎嗪为阴性对照,精密配制含上述 3 种成分各 200 $\mu\text{g/mL}$ 的甲醇混合溶液。

取 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 20 mg,加 2 mL 含大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪的甲醇混合溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 条件下孵育 1 h。反应结束后,磁分离收集材料,并收集吸附残液。1 mL PBS 缓冲液洗涤材料,洗涤 3 次,洗涤液记为 P1~P3;1 mL 甲醇洗脱材料,洗脱 3 次,洗脱液记为 D1~D3。各类溶液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, UPLC 分析。

另取 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2@\text{CHO}$ 20 mg,同法操作。

2.4.4 配体垂钓 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 20 mg 加入 2 mL 掌叶大黄 30%乙醇提取液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 条件下振荡孵育 1 h;磁分离收集材料,并收集吸附残液。1 mL PBS 缓冲液洗涤,洗涤 3 次,合并洗涤液,记为“PBS 洗涤液”;1 mL 甲醇洗脱,洗脱 3 次,合并洗脱液,记为“甲醇洗脱液”。各类溶液经

0.22 μm 微孔滤膜滤过, UPLC 分析。

2.5 化合物对胰脂肪酶抑制活性验证

以 *p*-NPB 为底物,奥利司他为阳性对照,测定芦荟大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄酚-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷对胰脂肪酶的抑制活性。实验分为空白组、空白对照组、样品组和样品对照组。样品组:40 μL *p*-NPB (0.8 mmol/L)及 40 μL 样品液,混匀后 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。随后加入 20 μL 胰脂肪酶溶液 (1.5 mg/mL),混匀后 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min。样品对照组:20 μL PBS 替代 20 μL 胰脂肪酶溶液。空白组:40 μL PBS 替代 40 μL 样品溶液。空白对照组:40 μL PBS 替代 40 μL 样品溶液,并用 20 μL PBS 替代 20 μL 胰脂肪酶。上述各反应体系总体积均为 200 μL ,不足部分用 PBS 缓冲液补齐。反应结束后于 405 nm 处测定 *A* 值。按公式 (5) 计算胰脂肪酶抑制率。

$$\text{抑制率}=1-(A_1-A_2)/(A_3-A_4) \quad (5)$$

A_1 为样品组 *A* 值; A_2 为样品对照组 *A* 值; A_3 为空白组 *A* 值; A_4 为空白对照组 *A* 值

2.6 分子对接

从 PubChem 数据库获取活性成分二维结构文件, ChemDraw 3D 软件进行 MM2 能量最小化处理。从 PDB 数据库获取猪胰脂肪酶三维晶体结构文件 (PDB ID: 1ETH),利用 PyMOL 软件移除结晶水分子及小分子配体。采用 PyMOL 及 Chem3D 18.0 软件对配体与受体进行加氢处理, AutoDockTools 1.5.7 软件进行分子对接;借助 PyMOL 及 LigPlus 软件进行可视化处理,分析配体与受体之间的相互作用。

2.7 网络药理学预测大黄活性成分抗肥胖症的作用机制

2.7.1 大黄活性成分靶点收集 利用 PubChem 数据库获取活性成分的规范 SMILES 结构及化学结构式;将活性成分结构式分别导入 PharmMapper 数据库与 Swiss Target Prediction 数据库,预测潜在作用靶点,并筛选获得重要靶点。通过 UniProt 数据库对所得靶点的物种来源及基因信息进行校正。

2.7.2 疾病靶点收集 以“obesity”为关键词,检索 Genecards、OMIM、TTD、CTD 及 PharmGKB 数据库,获取肥胖相关疾病靶点。对所得基因进行筛选、合并及去重处理后,获得疾病靶点数据集。

2.7.3 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络的构建 利用 Venn 2.1.0 平台

获取活性成分与肥胖的交集靶点,并将交集靶点导入 STRING 数据库,限定物种为人类(Homo sapiens),设置置信度评分 ≥ 0.700 。剔除孤立靶点后,所得靶点视为药物治疗疾病的核心靶点。将结果以 TSV 格式保存,并导入 Cytoscape 3.10.0 软件进行分析。采用 Cytoscape 中的 CytoNCA 工具构建网络,节点的大小及颜色梯度与度值相对应。

2.7.4 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 将交集靶点导入 DAVID 数据库,设置物种为“homo sapiens”;进行 GO 生物过程 (biological process, BP)、GO 细胞组分 (cellular component, CC)、GO 分子功能 (molecular function, MF) 及 KEGG 通路的富集分析,整理并保存分析报告,利用生物信息学平台将结果以条形图和气泡图形式进行可视化展示。

3 结果

3.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 制备及表征

材料的 FT-IR 光谱图见图 1。 Fe_3O_4 在 584 cm^{-1} 处出现 Fe-O 键特征吸收峰。 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 在 $1\ 090\text{ cm}^{-1}$ 出现 Si-O-Si 键强吸收峰, 467 cm^{-1} 出现 Si-O 键弯曲振动峰,证实 SiO_2 包覆成功。 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 在 $3\ 432\text{ cm}^{-1}$ 出现 -NH_2 伸缩振动吸收峰,表明氨基接枝成功。 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的 $3\ 432\text{ cm}^{-1}\text{NH}_2$ 伸缩振动峰显著减弱,说明活性氨基与胰脂肪酶发

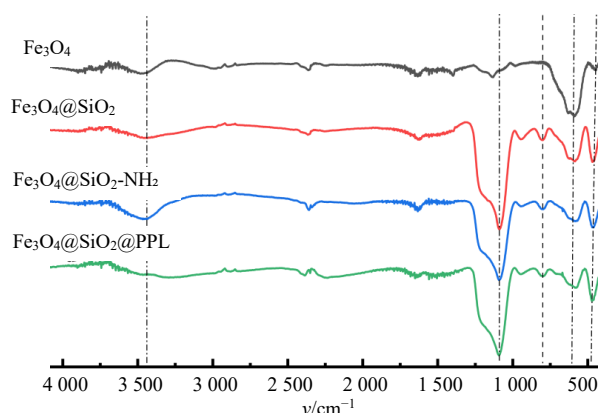


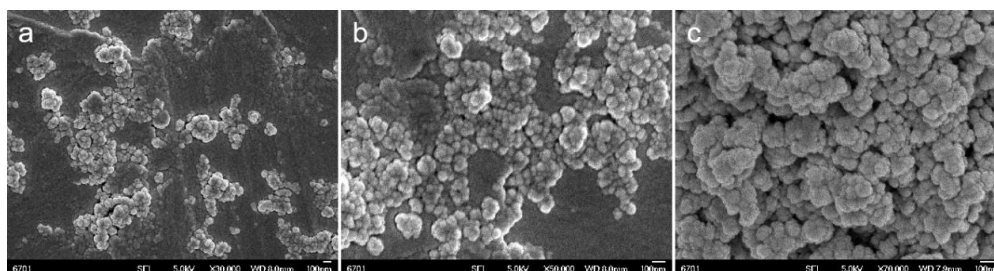
图 1 Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的 FT-IR 光谱图

Fig. 1 FT-IR spectra of Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ and $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$

子发生反应,证明 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 制备成功。

SEM 结果见图 2。不同放大倍数下, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 均呈球形,形貌较均匀。低倍镜(图 2-a)下可见材料无明显团聚现象;中倍镜(图 2-b)下可见材料包覆层结构清晰;高倍镜(图 2-c)下可见颗粒表面附着大量丝状蛋白样物质。因此,胰脂肪酶成功固定于载体表面。

材料的 XRD 见图 3。3 种材料 XRD 峰与磁铁矿 Fe_3O_4 标准卡片(JCPDS #79-0416)一致;表明材料均保持反尖晶石结构。此外, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 和



a- $\times 300\ 00$; b- $\times 500\ 00$; c- $\times 700\ 00$

图 2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的 SEM 图

Fig. 2 SEM image of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的衍射峰未偏移,亦未出现新衍射峰,说明包覆过程未改变 Fe_3O_4 的晶体结构。

不同固定化方法下 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的固定化效率、负载量及分离性能比较结果见表 1。化学共价法的固定化率及胰脂肪酶负载量均显著高于物理吸附法,表明戊二醛交联形成的共价键可更高效地固定胰脂肪酶。此外,2 种方法所得固定化材料均可在 1 min 内实现快速分离。

3.2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 性能评价

3.2.1 p -NP 标准曲线 在 $0\sim 0.5\text{ mmol/L}$ 浓度内, p -NP 标准曲线回归方程为 $Y=6.428 X+0.061\ 84$, $R^2=0.999\ 4$,表明线性关系良好。

3.2.2 热稳定性 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 与游离胰脂肪酶的热稳定性结果见图 4。随温度升高,二者酶活性均呈下降趋势。与游离酶相比, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 表现出更优的热稳定性,在 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 时仍保持 44.25% 的酶

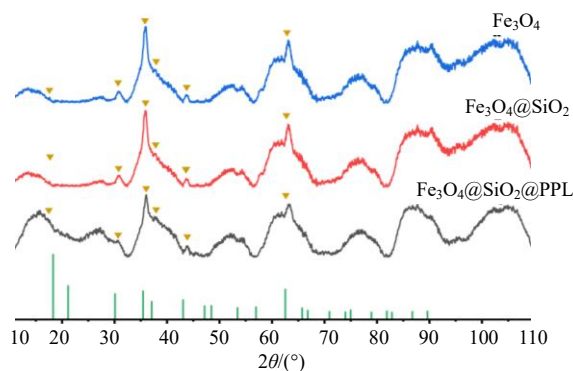


图 3 Fe_3O_4 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的 XRD 图
Fig. 3 XRD patterns of Fe_3O_4 , $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ and $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$

表 1 不同固定化方法下 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的固定化效率、负载量及分离性能比较表 ($n=3$)

Table 1 Comparison table of immobilization efficiency, loading amount and separation performance of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ under different immobilization methods ($n=3$)

材料	固定化方法	固定化率/%	负载量/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	分离方式	分离时间/min
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$	化学共价	70.4 ± 0.49	94.59 ± 0.52	磁分离	1
	物理吸附	60.9 ± 0.58	80.17 ± 0.61	磁分离	1
游离 PPL	无	无	无	高速离心	40

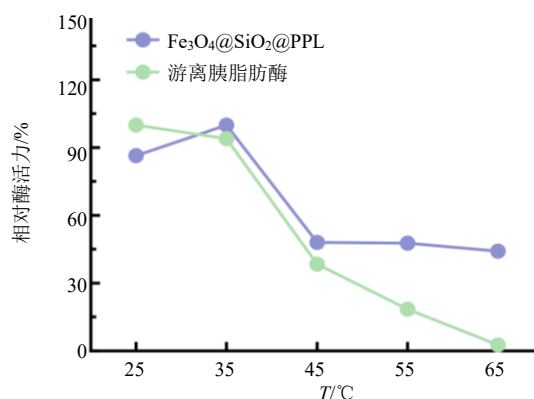


图 4 温度对 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 和游离胰脂肪酶相对酶活力的影响
Fig. 4 Influence of temperature on relative enzymatic activity of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ and free pancreatic lipase

液、PBS 洗涤液及甲醇洗脱液的 UPLC 色谱图见图 7。

由图 7 可知, 大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪色谱峰形对称, 分离度良好, 表明该色谱条件适用于三者同时测定。对比混合溶液 (图 7-a) 与 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 吸附残液 (图 7-b) 中各组分的峰面积变化可见, 川芎嗪峰面积无明显改变, 而大黄酸与芦荟大黄素分别下降 17.61% 与 13.70%, 说明该材料对二者具有选择性吸附作用。PBS 洗涤液中未检出三者的色谱峰 (图 7-c~e), 表明 PBS 洗

活性。

3.2.3 pH 稳定性 图 5 展示了 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 与游离胰脂肪酶的 pH 稳定性。随着 pH 升高, 两者酶活性均呈现先升高后降低的趋势, pH 9.0 时达到最大值。在相同 pH 条件下, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 的酶活性均高于游离胰脂肪酶。

3.2.4 重复使用性 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 重复使用性见图 6。重复使用 10 次后, 其胰脂肪酶相对活力仍保持在 50% 以上, 表明该固定化酶具有良好的可重复使用性。

3.3 活性成分配体垂钧

3.3.1 配体垂钧模型验证 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 吸附大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪的甲醇混合溶液, 吸附残

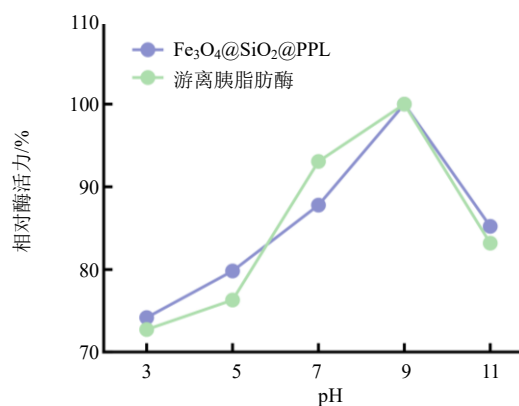
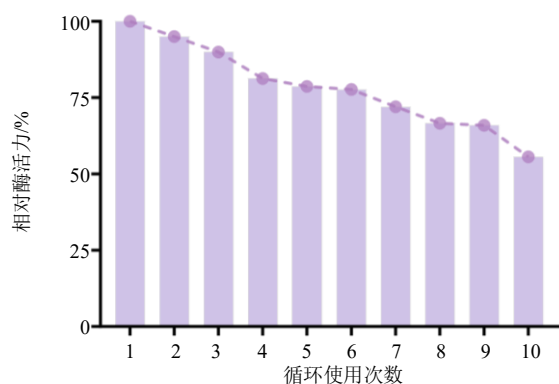
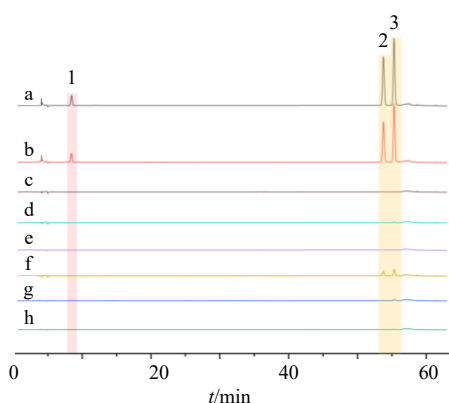


图 5 pH 值对 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 和游离胰脂肪酶相对酶活力的影响
Fig. 5 Influence of pH value on relative enzymatic activity of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ and free pancreatic lipase

液不影响目标成分保留。甲醇洗脱后 (图 7-f), 芦荟大黄素和大黄酸可被特异性洗脱, 峰面积分别为 4.155 8 与 8.039 9, 进一步证实 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 与二者之间存在特异性结合作用。

图 8 为空白材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{CHO}$ 对大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪甲醇混合溶液的吸附残液、PBS 洗涤液及甲醇洗脱液的 UPLC 色谱图。

空白材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{CHO}$ 对大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪均无明显吸附作用 (图 8-b~8-h),

图 6 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 的重复使用性能Fig. 6 Reusability performance of Fe₃O₄@SiO₂@PPL

a-大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪甲醇混合溶液；b-Fe₃O₄@SiO₂@PPL 吸附残液；c-PBS 洗涤液 1；d-PBS 洗涤液 2；e-PBS 洗涤液 3；f-甲醇洗脱液 1；g-甲醇洗脱液 2；h-甲醇洗脱液 3；1-川芎嗪；2-芦荟大黄素；3-大黄酸。

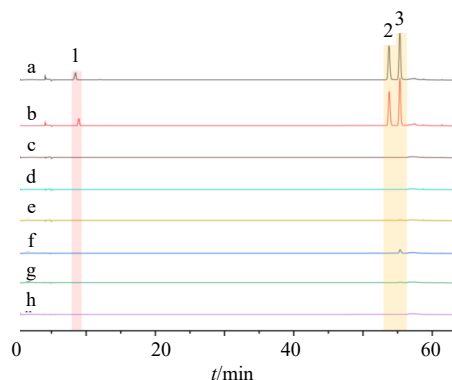
a-mixed solution of rhein, aloë-emodin, and tetramethylpyrazine in methanol; b-residual adsorption solution of Fe₃O₄@SiO₂@PPL; c-PBS washing solution 1; d-PBS washing solution 2; e-PBS washing solution 3; f-methanol eluate 1; g-methanol eluate 2; h-methanol eluate 3; 1-tetramethylpyrazine; 2-aloe-emodin; 3-rhein.

图 7 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 吸附大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪甲醇溶液的 UPLC 图Fig. 7 UPLC chromatogram of the methanol mixture solution of emodin, aloë-emodin and tetramethylpyrazine adsorbed by Fe₃O₄@SiO₂@PPL

其中图 8-f 中大黄酸峰面积忽略不计。综上，本研究构建的 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 材料可有效区分特异性和非特异性吸附，适用于胰脂肪酶抑制剂的筛选。

3.3.2 活性成分筛选 掌叶大黄 30%乙醇提取液、Fe₃O₄@SiO₂@PPL 吸附后的吸附残液、混合对照品溶液、PBS 洗涤液及甲醇洗脱液的色谱图见图 9。

在图 9-a 所示色谱条件下，掌叶大黄 30%乙醇提取液中各成分峰形对称，分离度良好。与图 9-a 相比，吸附残液（图 9-b）中部分色谱峰信号显著降



a-大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪甲醇混合溶液；b-Fe₃O₄@SiO₂@CHO 吸附残液；c-PBS 洗涤液 1；d-PBS 洗涤液 2；e-PBS 洗涤液 3；f-甲醇洗脱液 1；g-甲醇洗脱液 2；h-甲醇洗脱液 3；1-川芎嗪；2-芦荟大黄素；3-大黄酸。

a-mixed methanol solution of rhein, aloë-emodin, and tetramethylpyrazine; b-residual adsorption solution of Fe₃O₄@SiO₂@CHO; c-PBS washing solution 1; d-PBS washing solution 2; e-PBS washing solution 3; f-methanol eluate 1; g-methanol eluate 2; h-methanol eluate 3; 1-tetramethylpyrazine; 2-aloe-emodin; 3-rhein.

图 8 Fe₃O₄@SiO₂@CHO 吸附大黄酸、芦荟大黄素及川芎嗪甲醇溶液的 UPLC 图Fig. 8 UPLC chromatogram of Fe₃O₄@SiO₂@CHO adsorbing methanol solutions of emodin, aloë-emodin and tetramethylpyrazine

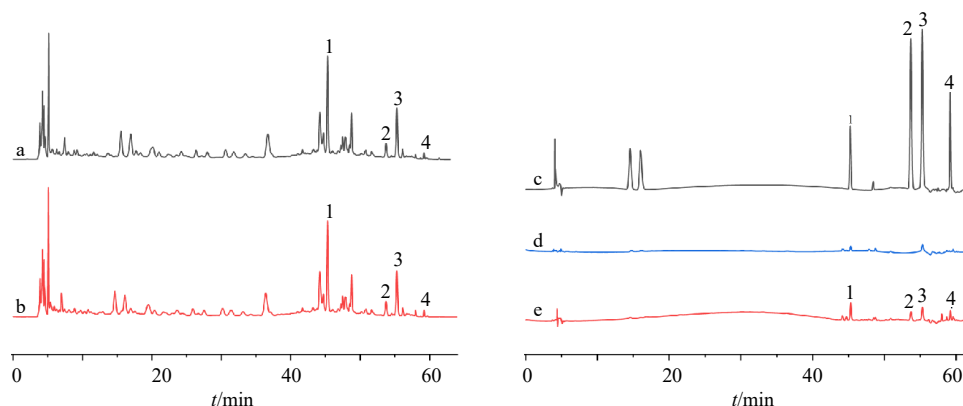
低，表明 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 对提取液中某些成分具有选择性吸附作用。通过与混合对照品溶液（图 9-c）的保留时间及紫外光谱对比，初步鉴定 1~4 号峰分别为大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸及大黄酚。PBS 洗涤液（图 9-d）中各色谱峰响应较低，说明目标成分与材料结合牢固，不易被常规洗涤解吸。甲醇洗脱液（图 9-e）中上述四种成分的色谱峰响应明显，表明 Fe₃O₄@SiO₂@PPL 对其具有良好的特异性吸附与洗脱性能。

3.4 活性化合物对胰脂肪酶抑制活性验证

根据半数抑制浓度（median inhibition concentration, IC₅₀）可知，各化合物对胰脂肪酶的抑制活性由强至弱依次为大黄酚>芦荟大黄素>大黄酸>大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷。如图 10 所示，在一定浓度范围内，各化合物的抑制率随质量浓度升高而逐渐增大，呈现明显的剂量-效应关系。其中，大黄酚和芦荟大黄素的 IC₅₀ 值分别为 67.03、85.86 μmol/L，表现出较强的抑制作用。

3.5 分子对接结果

采用分子对接模拟考察筛选出的 4 种活性成分与胰脂肪酶的结合能力，结果见表 2。

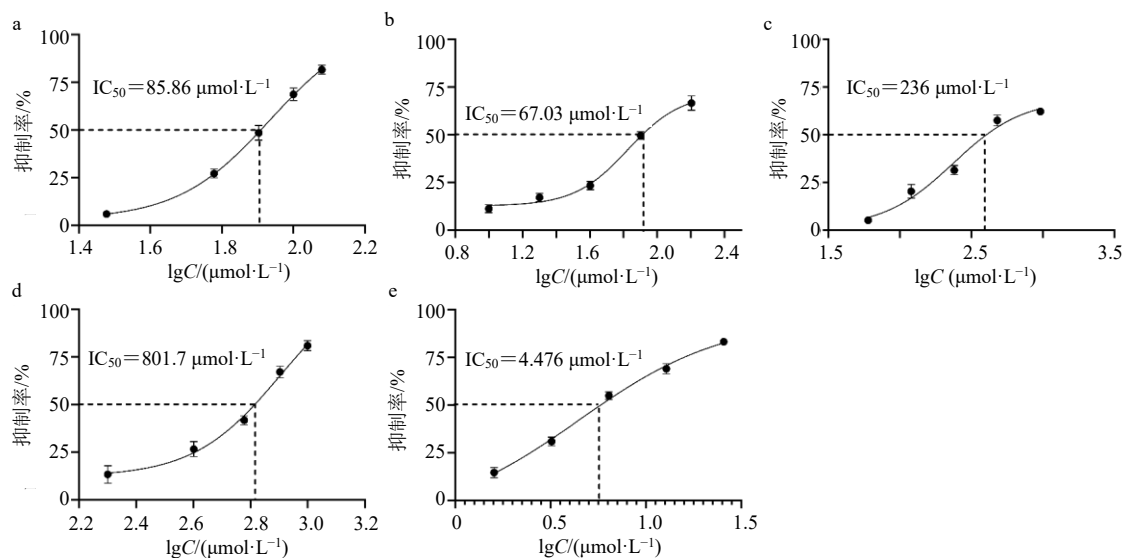


a-掌叶大黄 30%乙醇提取液; b- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 吸附残液; c-混合对照品溶液; d-PBS 洗涤液; e-甲醇洗脱液; 1-大黄酚-8- O - β -D-葡萄糖苷; 2-芦荟大黄素; 3-大黄酸; 4-大黄酚。

a-30% ethanol extract of *R. palmatum*; b- $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ adsorption residual solution; c-mixed reference standard solution; d-PBS washing solution; e-methanol eluate; 1-chrysophanol-8- O - β -D-glucopyranoside; 2-aloe-emodin; 3-rhein; 4-chrysophanol.

图 9 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 吸附掌叶大黄 30%乙醇提取液的 UPLC 图

Fig. 9 UPLC chromatogram of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ adsorbing 30% ethanol extract of *R. palmatum*



a-芦荟大黄素; b-大黄酚; c-大黄酸; d-大黄酚-8- O - β -D-葡萄糖苷; e-奥利司他。
a-aloe-emodin; b-chrysophanol; c-rhein; d-chrysophanol-8- O - β -D-glucopyranoside; e-Orlistat.

图 10 胰脂肪酶抑制活性图

Fig. 10 Graph of pancreatic lipase inhibitory activity

表 2 4 种化合物与胰脂肪酶的分子对接结果表

Table 2 Molecular docking results of four compounds with pancreatic lipase

活性成分	结合能/($\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)	氨基酸残基
大黄酚-8- O - β -D-葡萄糖苷	-6.41	SER-323、GLN-324、VAL-325、ASP-287、CYS-286
芦荟大黄素	-6.76	PHE-78、SER-153
大黄酚	-6.95	ASP-258、CYS-262、ASN-263、CY-S238、GLN239
大黄酸	-6.24	HIS-224、ASN-320、LYS-198

1 $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}=4.182 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。

由表 2 可知, 各化合物与胰脂肪酶的结合能均低于-5.0 kcal/mol , 说明其具有良好的结合活性; 其中, 芦荟大黄素和大黄酚的结合能明显低于其他 2

种成分, 提示其与胰脂肪酶存在更强的相互作用。本研究运用 PyMOL 软件和 Ligplot 软件将 4 个对接组合进行 3D 与 2D 可视化处理, 展示氢键、氨基酸

残基、疏水作用力等关键相互作用特征, 见图 11。

3.6 网络药理学分析结果

3.6.1 4 种活性成分抗肥胖症的靶点收集 4 种潜在活性成分共涉及 306 个作用靶点, 而肥胖症相关靶点共收集到 2 111 个, 二者交集靶点数为 150 个。

3.6.2 PPI 网络分析 如图 12 所示, PPI 网络共包含 139 个节点和 629 条边。图中节点面积越大, 颜色越深表示对“肥胖症”的影响越大。依据度中心性

(degree centrality) 值对靶点进行评分, 最终确定表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT1)、非受体酪氨酸激酶 (sarcoma receptor coactivator, Src)、热休克蛋白 90- α (heat shock protein 90- α , HSP90AA1)、B 细胞淋巴瘤 2 蛋白 (B-cell lymphoma 2, BCL2) 具有较高的度值。这表明它们可能在大黄提取物抗肥胖症的作用机制中发挥关键作用。

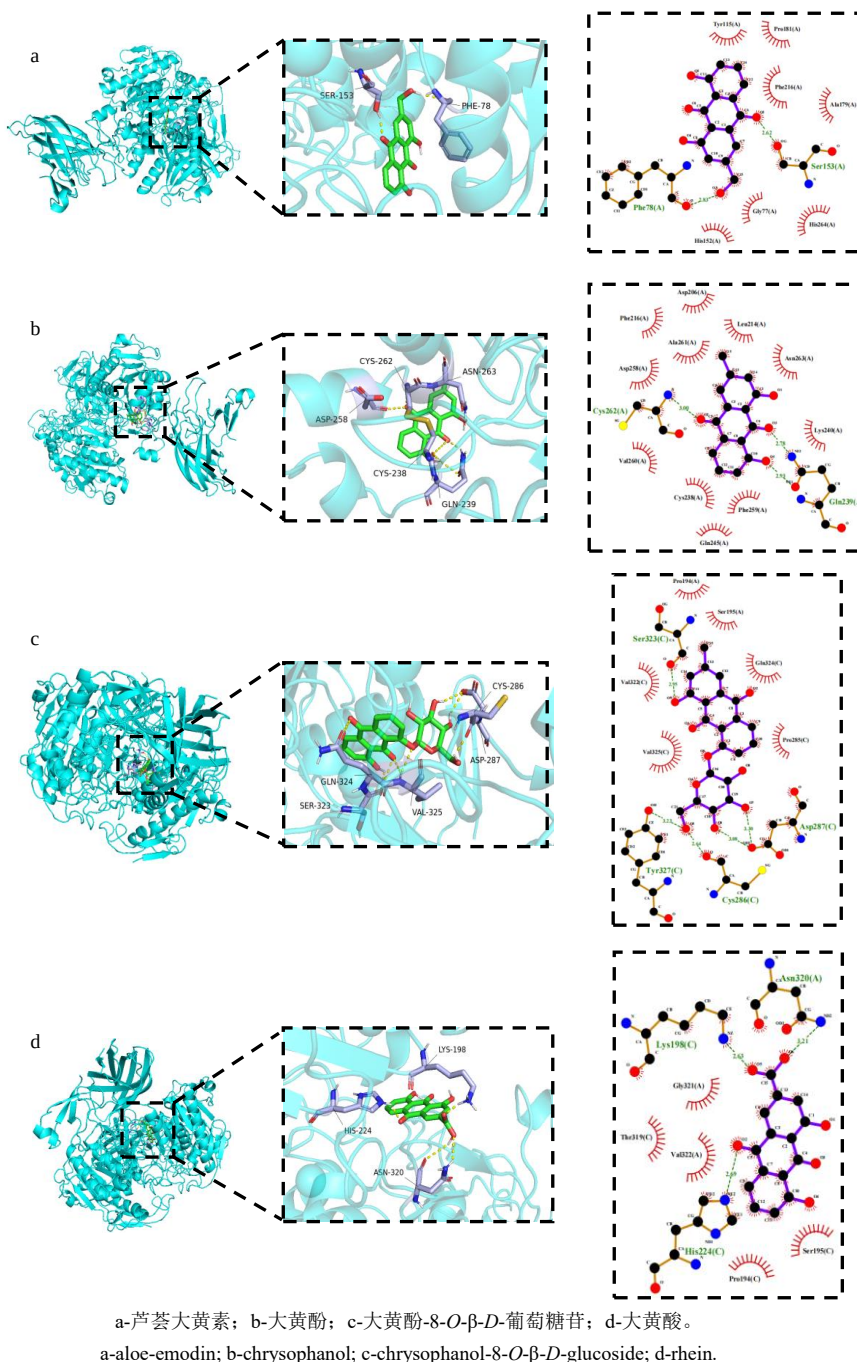


图 11 4 种活性成分与胰脂肪酶的 3D、2D 分子对接结果图

Fig. 11 3D and 2D molecular docking of four bioactive constituents with pancreatic lipase

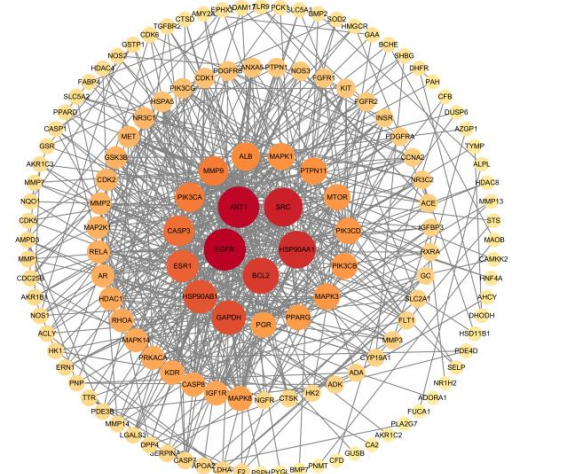


图 12 150 个靶点 PPI 交互网络图

Fig. 12 PPI network of 150 targets

3.6.3 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析 将 150 个交集靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析，共富集得到 535 个 GO 功能条目（包括 BP 294 个、CC 69 个、MF 172 个）和 170 条 KEGG 通路。选择前 10 条通路，并借助微生信平台绘制条形图，见图 13。BP 分析显示，关键靶点主要参与与蛋白激酶的信号传导、细胞迁移、细胞增殖、脂多糖反应和细胞凋亡调控等生物学过程；CC 分析提示关键靶点与细胞质、线粒体、细胞外分泌体、受体复合体等有关；MF 主要包括多种蛋白激酶活性、内肽酶活性、转移酶活性、水解酶活性、ATP 结合、核苷酸结合等。

KEGG 分析显示，肥胖与 HIF-1 信号通路、癌症中的中心碳代谢、癌症相关通路、前列腺癌以及脂质与动脉粥样硬化等通路相关性较高，选取前 10 条通路信息借助微生信平台绘制气泡图，见图 14。

4 讨论

在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 核壳材料的制备过程中，需严格控制正硅酸乙酯 (TEOS) 的滴加速度。缓慢滴加可使 TEOS 局部浓度维持在较低水平，促进其水解产物在磁核表面活性位点均匀键合，形成致密平整的 SiO_2 壳层，获得单分散性良好的核壳结构纳米粒子。反之，滴加速度过快易导致局部 TEOS 浓度过高，引发自身聚集成游离 SiO_2 颗粒，造成壳层包覆不均、结构疏松多孔等问题。

采用 Schiff's 试剂对 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 与戊二醛的反应进行验证。结果显示， $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{CHO}$ 与 Schiff's 试剂作用后 15 min 内呈现明显紫红色变化，而 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-NH}_2$ 在相同条件下颜色始终不变。表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{CHO}$ 表面成功引入醛基官能团。

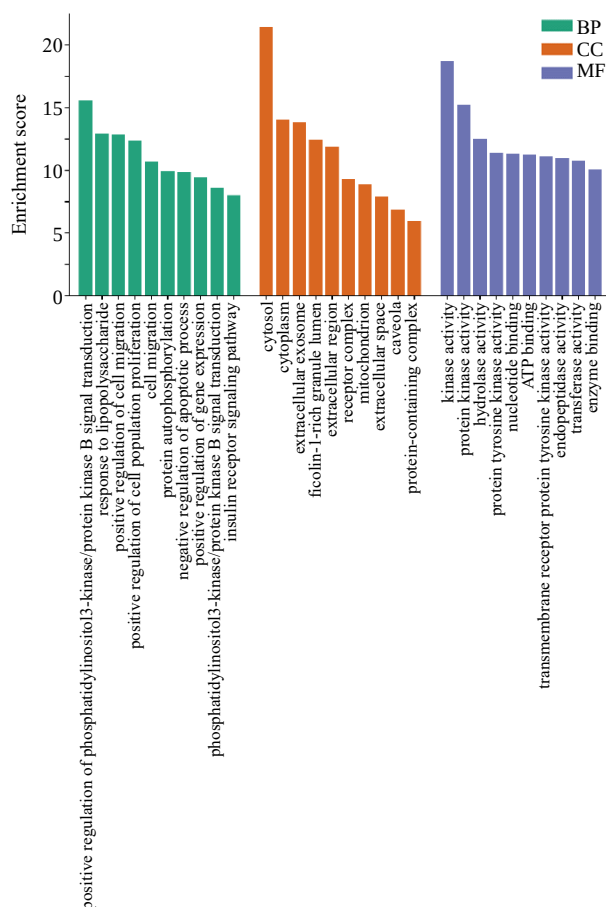


图 13 4 种活性成分抗肥胖症潜在作用靶点的 GO 功能富集分析图

Fig. 13 GO functional enrichment analysis of potential targets of four active ingredients against obesity

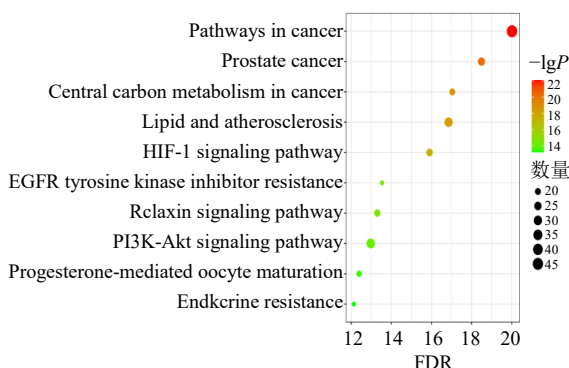


图 14 4 种活性成分抗肥胖症潜在作用靶点的 KEGG 功能富集分析图

Fig. 14 KEGG functional enrichment analysis of potential targets of four active ingredients against obesity

化学共价法制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 其固定化率与负载量均显著优于物理吸附法，基于超顺磁性可在 1 min 内实现快速磁分离，较游离胰脂肪酶

(40 min 高速离心)大幅提升分离效率,且展现出良好的热稳定性与可重复使用性。应用该材料分别从山楂和荷叶提取物中垂钓获得 2 个和 3 个特异性成分,结构尚在解析,表明该材料具有一定的通用性。

针对假阳性结果,本研究通过设置川芎嗪阴性对照与空白材料 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{CHO}$ 平行实验,结合 PBS 多步洗涤,有效排除非特异性吸附及载体干扰。阴性对照吸附前后峰面积无明显变化,空白材料对目标成分无显著保留,确保捕获成分均源于与胰脂肪酶的特异性结合,降低了假阳性风险。针对假阴性结果,本研究优化孵育条件(37 °C、pH 7.4)以维持酶活性,采用甲醇梯度洗脱 3 次保证目标成分充分回收,并以已报道的潜在抑制剂(大黄酸、芦荟大黄素)作为阳性对照验证系统捕获能力。阳性对照被有效吸附并洗脱,证明垂钓系统对真实活性成分具有响应性,避免了因酶失活或洗脱不完全所致的漏检。

本研究尚存在以下局限性,配体垂钓仅在体外进行,未能模拟体内代谢环境;网络药理学预测结果有待细胞及动物实验验证;且仅聚焦于 4 种垂钓成分,掌叶大黄中是否存在其他类型(如鞣质、二苯乙烯等)的胰脂肪酶抑制剂值得深入探索。未来可进一步优化磁性固定化酶材料的制备工艺以提高酶负载量,结合代谢组学与蛋白组学技术验证关键通路与靶点,并开展体内药效学评价以明确大黄酚、芦荟大黄素等活性成分的抗肥胖效果及安全性。

5 结论

本研究成功构建了 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PPL}$ 固定化磁性纳米材料,并基于该平台实现了从掌叶大黄 30%乙醇提取液中高效筛选出 4 种潜在胰脂肪酶抑制剂。体外酶活性试验证实大黄酚、芦荟大黄素对胰脂肪酶具有较高的抑制作用。分子对接结果也显示,大黄酚、芦荟大黄素与胰脂肪酶结合能力要高于大黄酸及大黄酚-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷;分子对接与体外活性验证相吻合。进一步借助网络药理学分析发现,这些活性成分可能通过协同调控 EGFR、AKT1、SRC、HSP90AA1 及 BCL2 等关键靶点,影响 HIF-1 信号通路、脂质代谢与动脉粥样硬化等多条生物学通路,进而在信号转导、细胞增殖与细胞凋亡等过程中共同发挥抗肥胖效应。本研究不仅为胰脂肪酶抑制剂的快速、靶向筛选提供了新材料与新方法,也为天然抗肥胖活性成分发现及大黄多靶点作用机制的阐释提供了重要参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Chen Y K, Liu T T, Teia F K F, *et al.* Exploring the underlying mechanisms of obesity and diabetes and the potential of traditional Chinese medicine: An overview of the literature [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 121880
- [2] 孙孟姊, 聂鹏, 李铁梅, 等. 中国成人肥胖疾病负担与经济负担及趋势预测 [J]. *中国预防医学杂志*, 2025, 26(8): 1013-1017.
- [3] Subramaniyan V, Hanim Y U. Role of pancreatic lipase inhibition in obesity treatment: Mechanisms and challenges towards current insights and future directions [J]. *Int J Obes*, 2025, 49(3): 492-506.
- [4] 侯旭东, 胡情, 马丽娟, 等. 源于中药的胰脂肪酶抑制剂研究进展 [J]. *药科学报*, 2020, 55(7): 1478-1493.
- [5] 黎秋萍, 郝小庆, 刘松. 胃肠道脂肪酶抑制剂治疗肥胖的药理药效研究进展: 以奥利司他为例 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(17): 2287-2292.
- [6] Holmbäck U, Forslund A, Grudén S, *et al.* Effects of a novel combination of orlistat and acarbose on tolerability, appetite, and glucose metabolism in persons with obesity [J]. *Obes Sci Pract*, 2020, 6(3): 313-323.
- [7] 崔鑫源, 陈晓君, 李毅夫, 等. 奥利司他致草酸盐结晶相关急性肾损伤 1 例 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2022, 47(5): 583-587.
- [8] 郑云飞, 陈泽山, 邓鑫. 大黄及其药对的研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2026, 44(5): 204-210.
- [9] 陈廷贵, 魏煜如, 张立伟. 磁珠固定化酶和 LC-MS/MS 筛选鉴定虎杖中的胰脂肪酶抑制剂 [J]. *天然产物研究与开发*, 2017, 29(2): 198-205.
- [10] Kumar D, Karmase A, Jagtap S, *et al.* Pancreatic lipase inhibitory activity of cassiamin A, a bianthraquinone from *Cassia siamea*[J]. *Nat Prod Commun*, 2013, 8(2): 195-198.
- [11] Quan S H, Wen M Y, Xu P, *et al.* Efficient screening of pancreatic lipase inhibitors from *Rheum palmatum* by affinity ultrafiltration-high-performance liquid chromatography combined with high-resolution inhibition profiling [J]. *Phytochem Anal*, 2024, 35(3): 540-551.
- [12] Rocha S, Lobo M C, Proença C, *et al.* Optimization and implementation of spectrophotometric and fluorimetric methodologies to evaluate pancreatic lipase inhibitory using chalcones: A comparative study [J]. *J Anal Test*, 2025, 9(3): 334-345.
- [13] 张欣艺, 武晓玉, 陶子豪, 等. 胰脂肪酶抑制剂筛选方法的研究进展 [J]. *中国药科大学学报*, 2026(2): 163-171.
- [14] 陈凯华, 朱雪艳, 郭嘉亮, 等. 天然产物中酶抑制剂的快速筛选方法研究进展 [J]. *天然产物研究与开发*, 2024, 36(7): 1266-1277.
- [15] 杨玉秀, 李苏颖, 张倩, 等. 固定化技术在中药活性成分筛选中的应用 [J]. *药科学报*, 2017, 52(2): 198-205.

[责任编辑 王文倩]