

# 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 和网络药理学探讨 消炎利胆片治疗胆管炎的药效物质和作用机制

车贵娟<sup>1,2</sup>, 匡艳辉<sup>1</sup>, 严曾豪<sup>1</sup>, 王德勤<sup>1</sup>, 张偲偲<sup>1\*</sup>, 刘晓秋<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>广州白云山和记黄埔中药有限公司, 广州 510000; <sup>2</sup>沈阳药科大学, 沈阳 110015

**摘要:** 基于超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱联用技术 (UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS) 和网络药理学方法预测消炎利胆片 (Xiaoyan Lidan Pian, XLP) 治疗胆管炎的药效物质、潜在作用靶点和机制, 为深入揭示其治疗胆管炎的作用机制奠定基础。通过 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 检测 XLP 的化学成分, 利用 ThermoXcalibur 软件在  $5 \times 10^{-6}$  的质量偏差范围内计算其精确分子式, 结合文献中相关化合物裂解碎片信息及保留时间对化学成分进行定性分析。通过 SwissADME 数据库筛选成分; SwissTargetPrediction 数据库预测成分作用靶点; OMIM、Drugbank、GeneCards 数据库筛选治疗胆管炎相关的靶标。利用 Metascape 平台对潜在靶点进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析, Cytoscape 3.8.0 软件构建“成分-靶点-通路”网络。从 XLP 中初步推断出 89 个化合物, 主要包括生物碱类、黄酮类、内酯类、酚酸类、二萜类、三萜类等化合物; 根据活性成分预测出 876 个潜在靶点, 检索到疾病相关靶点 461 个, 两者交集靶点 76 个, 包括信号传导与转录激活因子 3 (STAT3)、白细胞介素-6 (IL-6)、表皮生长因子受体 (EGFR) 等。涉及的通路有趋化因子信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、PI3K-Akt 信号通路等。预测出 XLP 治疗胆管炎的药效物质有 44 个。其可能通过作用于 STAT3、IL-6 等靶点, 调节多个信号通路发挥抗炎、减少胆汁淤积、抗肝纤维化的作用来治疗胆管炎。

**关键词:** 消炎利胆片; UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS; 胆管炎; 网络药理学

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023) Suppl-0130-15

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.S.018

## Pharmacodynamic substances and mechanism of Xiaoyan Lidan Pian in the treatment of cholangitis based on UPLC-LTQ-Orbitrap- MS/MS and network pharmacology

CHE Gui-juan<sup>1,2</sup>, KUANG Yan-hui<sup>1</sup>, YAN Zeng-hao<sup>1</sup>, WANG De-qin<sup>1</sup>, ZHANG Si-si<sup>1\*</sup>, LIU Xiao-qiu<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Guangzhou Baiyun Mountain Hutchison Whampoa Chinese Medicine Co., Ltd., Guangzhou 510000, China;

<sup>2</sup>Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015, China

**Abstract:** Based on the ultra performance liquid chromatography-linear ion trap quadrupole-Orbitrap-mass spectrometry/mass spectrometry (UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS) and network pharmacology, the pharmacodynamic substances, potential targets and mechanisms of Xiaoyan Lidan Pian (XLP) in the treatment of cholangitis were predicted, which laid a foundation for further revealing its mechanism of action in the treatment of cholangitis. Determination of chemical components of XLP by UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS. Use ThermoXcalibur software to accurately calculate its precise molecular formula within the range of  $5 \times 10^{-6}$  mass deviation, and conduct qualitative analysis of chemical components in combination with the information of relevant compound fragmentation fragments and retention time in the literature. Using SwissADME database to filter components, SwissTargetPrediction database to predicted component targets, OMIM, Drugbank and GeneCards database to collect disease targets; Cytoscape to construct an active ingredient-targets-pathway network. Eighty-nine compounds were preliminarily inferred from XLP, including alkaloids, flavonoids, lactones, phenolic acids, diterpenoids, triterpenoids. Eight hundred and seventy-six potential targets were predicted, four hundred and sixty-one disease-related targets were retrieved, and seventy-six intersection

收稿日期: 2022-09-08

接受日期: 2022-12-06

基金项目: 名优中成药产学研深度融合发展服务平台 (20212210006)

\* 通信作者 E-mail: cici\_only@foxmail.com, liuxiaoqiu3388@163.com

targets were identified, including signal transduction and transcription activator 3 (STAT3), interleukin-6 (IL-6), and epidermal growth factor receptor (EGFR), etc. The involved pathways include Chemokine signaling pathway, NF- $\kappa$ B signaling pathway, tumor necrosis factor (TNF) signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, etc. The forecast results show 44 effective substances of XLP in treating cholangitis. It may act on STAT3, IL-6 and other targets, regulate multiple signal pathways to play the role of anti inflammation, reducing cholestasis and anti liver fibrosis to treat cholangitis.

**Key words:** Xiaoyan Lidan Pian; UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS; cholangitis; network pharmacology

“胆管炎”是肝内外胆管炎症的统称,其主要包含慢性胆管炎、急性胆管炎、原发性胆汁性胆管炎、原发性硬化性胆管炎、IgG4 相关硬化性胆管炎。慢性胆管炎和急性胆管炎是一种胆道系统的炎症,急性胆管炎可分为单纯性、化脓性及化脓性梗阻<sup>[1]</sup>。原发性胆汁性胆管炎是一种机体对自身抗原的耐受性丧失而诱发的小叶间胆管损伤,引起的慢性非化脓性胆汁淤积性肝病<sup>[2]</sup>。原发性硬化性胆管炎是一种因肝内外胆管炎及胆管纤维化导致多灶性胆管狭窄和进展性肝病为特征的胆汁淤积性疾病<sup>[3]</sup>。IgG4 相关硬化性胆管炎是一种胆管壁轮辐状纤维化为主或伴有闭塞性静脉炎的自身免疫性疾病<sup>[4]</sup>。这些类型的胆管炎患者都与炎症、肝内胆汁淤积、肝纤维化存在关联。因为胆道产生炎症,毒素和细菌入侵,肝细胞停止分泌胆汁,胆管内胆汁向上逆流,淤积在肝内。同时,胆管损伤,肝细胞分泌的胆汁会滞留在肝内,胆汁淤积会造成肝内胆管和肝细胞感染,引发炎症,导致肝脏受损发生纤维化,不加以控制会引起肝硬化而产生肝衰竭,最终导致死亡。胆管炎的患病率在北欧、北美、亚洲都较高,且在北欧、北美有逐年增高趋势,严重地威胁了广大人民的健康<sup>[3,5]</sup>。

消炎利胆片(Xiaoyan Lidan Pian, XLP)是具有岭南特色的名优中成药,由穿心莲、苦木、溪黄草组成,有清热、祛湿、利胆的功效,临床上常用于肝胆湿热引起的口苦、胁痛、急性胆囊炎、胆管炎。有文献证明,XLP 可以促进胆汁的排泄,减少炎症渗出,降低肝损伤,达到保肝利胆的功效<sup>[6]</sup>。但其作用机制尚未明确,因此,有必要对 XLP 的活性成分进行深入研究,为阐明其治疗胆管炎的药理机制奠定基础。本研究拟采用超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱联用技术(UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS),结合精确分子量、碎片裂解规律等质谱信息及文献数据对 XLP 化学成分进行表征,同时结合网络药理学初步揭示其药效物质基础、潜在作用靶点和通路,旨在为其质量控制研究、发挥保肝利胆作用的机制研究及药物的合理应用等提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

消炎利胆片(批号 E21A012,广州白云山和记黄埔中药有限公司);色谱纯乙腈(默克(德国)制药公司);甲酸(上海安谱实验科技股份有限公司);水(Genie U12 超纯水仪制得);其他试剂均为分析纯(广东广试试剂科技有限公司)。

### 1.2 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 分析

#### 1.2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Poroshell 120 SB-C<sub>18</sub> 柱;流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~2 min,7%→10% B;2~6 min,10%→16% B;6~10 min,16%→19% B;10~15 min,19%→22% B;15~20 min,22%→30% B;20~25 min,30%→43% B;25~30 min,43%→48% B;30~35 min,48%→50% B;35~37 min,50%→90% B;37~40 min,90% B;40~45 min,90%→7% B;流速为 0.4 mL/min;柱温为 25 °C;进样量为 2  $\mu$ L。

#### 1.2.2 质谱条件

采用 ESI 离子源分别在正、负模式下进行质谱分析;喷雾电压为 +3.0 kV/-2.8 kV;毛细管温度为 300 °C;源加热温度为 350 °C;鞘气压力为 45 arb;辅助气压力为 8 arb。

利用 ThermoXcalibur 软件在  $5 \times 10^{-6}$  的质量偏差范围内计算其精确分子式,查询相关文献,结合保留时间、裂解碎片信息对色谱峰对应的化合物进行定性分析。

#### 1.2.3 供试品溶液的配制

取 XLP10 片,除去包衣,研细,取约 0.3 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 10 mL,密塞,称定重量,超声 30 min(250 W,45 kHz),放冷,补足减失的重量,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,即得。

### 1.3 基于网络药理学对 XLP 治疗胆管炎的活性成分及机制预测

#### 1.3.1 XLP 化学成分及靶点的获取

将 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 分析所获得的化

学成分的 2D 结构导入 SwissADME 数据库 (<http://www.swissadme.ch/>), 选取胃肠吸收为“High”, 类药性五原则中有 3 个及以上为“Yes”的化合物为目标化合物(其中中国药典或部颁标准中“含量测定项”的成分直接纳入为目标化合物)。再通过 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 获得目标化合物的靶点 (probability > 0)。通过 OMIM 数据库 (<https://omim.org/>)、Drugbank 数据库 (<https://go.drugbank.com/>)、GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 搜索“cholangitis”, 获得疾病靶点 (relevance score > 1)。

### 1.3.2 蛋白质相互作用 (PPI) 网络图的构建及核心靶点的获取

将共同靶点导入 String11.5 (<https://cn.string-db.org/>) 数据库, 设定 minimum required interaction score 为 0.7 并去除无相互作用的单一蛋白, 获得蛋白相互作用关系的 tsv 文件, 再将其导入 Cytoscape 3.8.0 软件。利用采用 Network Analysis 插件计算网络拓扑参数, 筛选介数中心性 (betweenness centrality, BC) 和接近中心性 (closeness centrality, CC) 大于

中位数, 度值 (degree, DC) 大于 2 倍中位数的靶点作为核心靶点, 同时绘制 PPI 网络图。

### 1.3.3 功能富集分析与通路分析

将共同靶点导入 Metascape 平台 (<https://metascape.org/>), 进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析 (min overlap 为 3,  $P$  cutoff 为 0.01, minienrichment 为 1.5), 并利用微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化分析。

### 1.3.4 “成分-靶点-通路”网络构建

将目标化合物、核心靶点、相关通路导入 Cytoscape 3.8.0 软件, 构建 XLP 治疗胆管炎的“成分-靶点-通路”网络。

## 2 结果

### 2.1 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 分析

XLP 在正、负离子模式下的总离子流图见图 1。通过 ThermoXcalibur 软件对色谱峰对应化合物进行定性分析, 从 XLP 中初步推断出 89 个化合物, 见表 1, 主要包括生物碱类、黄酮类、内酯类、酚酸类、二萜类、三萜类等化合物<sup>[7-18]</sup>。下面选取主要成分类型中的代表性化合物, 进行裂解规律分析。

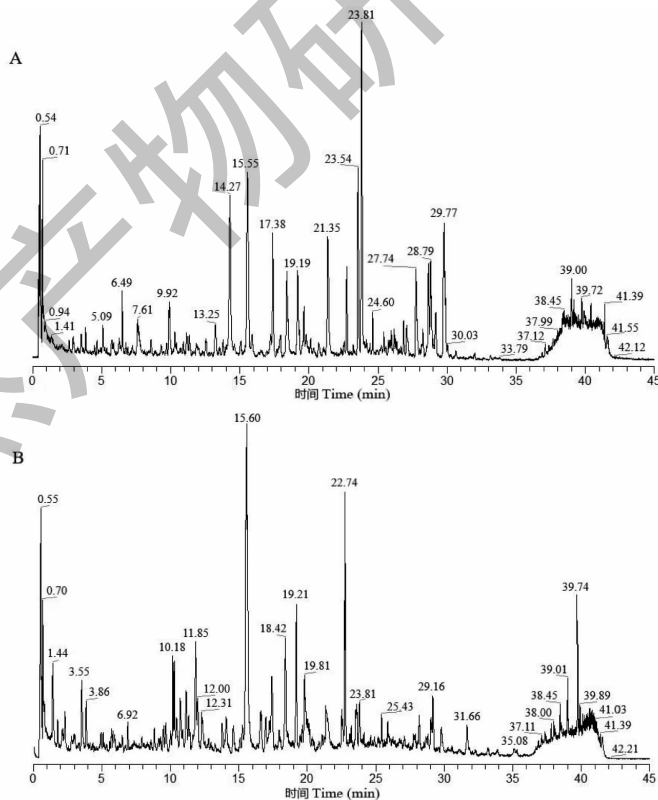


图 1 XLP 在正离子 (A) 和负离子 (B) 模式下的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatograms of XLP in positive ion (A) and negative ion (B) modes

表 1 XLP 化学成分的质谱信息

Table 1 Mass spectrometry information of chemical constituents of XLP

No.	$t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	MS	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	MS <sup>2</sup>	来源 Source
1	3.52	绿原酸 Chlorogenic acid	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355.102 5 [M + H] <sup>+</sup>	0.426	337, 164, 163, 135, 117	穿心莲、 溪黄草
2	3.86	隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	355.102 4 [M + H] <sup>+</sup>	0.004	167, 164, 163, 149, 135	穿心莲、 溪黄草
3	3.95	咖啡酸 Caffeic acid <sup>[7]</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	181.049 4 [M + H] <sup>+</sup>	-0.637	163, 135, 117, 89	穿心莲、 溪黄草
4	3.96	2,5-二羟基苯甲酸 2,5-Dihydroxybenzoic acid <sup>[8]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	153.019 1 [M-H] <sup>-</sup>	-1.320	152, 154, 110, 109, 108	溪黄草
5	5.09	1-羟甲基-β-咔巴啉 1-Hydroxymethyl-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O	199.086 6 [M + H] <sup>+</sup>	-0.048	181, 154	苦木
6	5.45	1-甲酸-7-羟基-β-咔巴啉 1-Carboxy-7-hydroxy-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	229.060 7 [M + H] <sup>+</sup>	-0.518	211, 183, 155, 128	苦木
7	5.72	新西兰牡荆苷 2 Vicenin-2 <sup>[7]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	593.151 7 [M-H] <sup>-</sup>	0.905	575, 503, 473, 383, 353	溪黄草
8	5.96	异夏佛塔苷 Isoschaftoside <sup>[7]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	563.141 2 [M-H] <sup>-</sup>	1.086	443, 383, 353, 227	溪黄草
9	6.14	1-乙基-4-甲氧基-β-咔巴啉 1-Ethyl-4-methoxy-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O	227.117 7 [M + H] <sup>+</sup>	-0.659	199, 124, 113	苦木
10	6.27	1-甲酸-β-咔巴啉 1-Carboxy-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	213.065 8 [M + H] <sup>+</sup>	-0.066	195, 167, 140, 113	苦木
11	6.49	1-丙酸基-β-咔巴啉 1-Propanoic acid-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	241.097 1 [M + H] <sup>+</sup>	-0.142	223, 195, 140, 113	苦木
12	6.92	夏佛塔苷 Schaftoside <sup>[7]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	563.141 4 [M-H] <sup>-</sup>	0.791	503, 443, 383, 353	溪黄草
13	7.61	3-甲基-铁屎米-5,6-二酮 3-Methylcanthin-5,6-dione <sup>[9]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	251.081 6 [M + H] <sup>+</sup>	0.581	223, 195, 168	苦木
14	7.86	1-甲氧甲酰基-4-羟基-β-咔巴啉 1-Methoxycarbonyl-4-hydroxy-β-carboline <sup>[9,10]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	243.076 4 [M + H] <sup>+</sup>	-0.118	183, 155	苦木
15	8.37	3,4-二羟基苯甲醛 3,4-Dihydroxybenzaldehyde <sup>[11]</sup>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.024 3 [M-H] <sup>-</sup>	-0.929	136, 138, 108, 109	溪黄草
16	8.46	Glycoside <sup>[12]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	607.166 1 [M + H] <sup>+</sup>	0.648	469, 427, 409	溪黄草
17	8.60	Abietane diterpenoids <sup>[12]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	331.190 4 [M + H] <sup>+</sup>	0.043	313, 227, 213, 209	溪黄草
18	9.57	8-羟基铁屎米酮 8-Hydroxycanthin-6-one <sup>[9]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	237.065 8 [M + H] <sup>+</sup>	-0.439	259, 209, 154, 128, 113	苦木
19	9.71	1-乙基-4-甲氧基-8-羟基-β-咔巴啉 1-Ethyl-4-methoxy-8-hydroxycanthin-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	243.113 0 [M + H] <sup>+</sup>	0.723	227, 213, 196, 182, 139, 113	苦木
20	9.92	1-甲氧甲酰基-β-咔巴啉 1-Methoxycarbonyl-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	227.081 6 [M + H] <sup>+</sup>	0.246	249, 195, 167, 140, 113	苦木
21	10.11	Abietane diterpenoids <sup>[12]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	389.195 9 [M + H] <sup>+</sup>	0.141	371, 311, 269, 243	溪黄草
22	10.30	穿心莲内酯苷 Andrographiside 或同分异构体 <sup>[13]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>10</sub>	513.269 7 [M + H] <sup>+</sup>	0.558	351, 333, 315, 297	穿心莲
23	10.90	穿心莲内酯苷 Andrographiside 或同分异构体 <sup>[13]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>10</sub>	513.269 7 [M + H] <sup>+</sup>	0.441	351, 333, 315, 297	穿心莲
24	10.97	牡荆苷 Vitexin <sup>[7]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	431.098 8 [M-H] <sup>-</sup>	0.974	401, 373, 341, 311, 283, 229, 171	溪黄草
25	10.99	芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 Apigenin-7-O-β-D-glucuronide <sup>[14]</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	447.093 1 [M + H] <sup>+</sup>	-0.028	271, 153, 119	穿心莲

续表 1 (Continued Tab. 1)

No.	$t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	MS	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	MS <sup>2</sup>	来源 Source
26	11.13	迷迭香酸 Rosmarinic acid <sup>[7]</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	359.077 7 [M-H] <sup>-</sup>	1.279	197, 161, 135, 133, 107	溪黄草
27	11.18	Nigakilactone A	C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>7</sub>	392.214 8 [M+H] <sup>+</sup>	-1.349	410, 374, 332, 300, 299	苦木
28	11.39	Abietane diterpenoid <sup>[12]</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	375.214 8 [M+H] <sup>+</sup>	-4.799	287, 279, 273, 205	溪黄草
29	12.72	Dehydrocrenatinine <sup>[9]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	225.102 2 [M+H] <sup>+</sup>	-0.309	224, 224, 210, 182, 154, 113	苦木
30	13.21	1-乙基-4-甲氧基-8-羟基-β-咔巴啉 1-Ethenyl-4-methoxy-8-hydroxycanthin-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	241.097 1 [M+H] <sup>+</sup>	-0.183	226, 213, 184, 141, 116	苦木
31	14.12	木犀草素 Luteolin <sup>[15]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	285.040 5 [M-H] <sup>-</sup>	0.136	199, 151, 133	穿心莲、 溪黄草
32	14.30	Picrasidine Q <sup>[10]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	267.076 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.791	252, 183, 168, 140	苦木
33	14.30	4-甲氧基-5-羟基铁尿米酮 4-Methoxy-5-hydroxycanthin-6-one <sup>[9,10]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	267.076 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.791	252, 183, 168, 140	苦木
34	15.55	穿心莲内酯 Andrographolide <sup>[14]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	351.216 6 [M+H] <sup>+</sup>	-0.021	701, 373, 333, 315, 297	穿心莲
35	15.89	1-乙基-4,8-二甲氧基-β-咔巴啉 1-Ethyl-4,8-dimethoxy-β-carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	257.128 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.450	280, 241, 124, 113	苦木
36	16.02	穿心莲黄酮苷 E Andrographidine E <sup>[16]</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>11</sub>	491.154 9 [M+H] <sup>+</sup>	0.187	329, 314, 222, 199	穿心莲
37	16.59	穿心莲酸 Andrographic acid <sup>[10]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	363.181 8 [M-H] <sup>-</sup>	1.317	319, 275	穿心莲
38	16.69	14-Deoxy-17- hydroxyandrographolide <sup>[10]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	351.218 2 [M-H] <sup>-</sup>	1.431	333, 321	穿心莲
39	17.19	Picrasidine M <sup>[9]</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	491.171 5 [M+H] <sup>+</sup>	0.261	513, 246, 113	苦木
40	17.38	异穿心莲内酯 Isoandrographolide <sup>[14]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>	351.216 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.112	701, 373, 333, 315, 297	穿心莲
41	17.68	Dihydroxydimethoxyflavone <sup>[14]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	315.086 4 [M+H] <sup>+</sup>	0.085	300, 287, 177, 154	穿心莲
42	17.86	穿心莲黄酮苷 A Andrographidine A <sup>[17]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	461.146 4 [M-H] <sup>-</sup>	2.255	299, 284, 269	穿心莲
43	17.86	5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavanone(2R)- 5-O-β-D-glucopyranoside <sup>[17]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	461.146 4 [M-H] <sup>-</sup>	2.255	299, 284, 269	穿心莲
44	18.39	3-O-β-D-Glucopyranosyl- 14-deoxyandrographiside <sup>[13,14]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub>	497.274 9 [M+H] <sup>+</sup>	0.725	519, 335, 317, 299, 259	穿心莲
45	18.39	14-去氧穿心莲内酯苷 14-Deoxyandrographiside <sup>[13]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>38</sub> O <sub>9</sub>	497.274 9 [M+H] <sup>+</sup>	0.725	519, 335, 317, 299, 259	穿心莲
46	19.19	14-去氧-11,12-二去氢穿心莲内酯苷 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographiside <sup>[13]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub>	495.258 9 [M+H] <sup>+</sup>	0.163	517, 333, 315, 297	穿心莲
47	19.19	3-O-β-D-Glucopyranosyl-14- deoxy-11,12-didehydroandrographiside <sup>[13]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub>	495.258 9 [M+H] <sup>+</sup>	0.163	517, 333, 315, 297	穿心莲
48	19.44	Nigakilactone D	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	389.196 0 [M+H] <sup>+</sup>	0.347	371, 299, 257, 223, 205, 191, 133, 119	苦木
49	19.46	铁尿米酮 Canthin- 6-one	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O	221.071 0 [M+H] <sup>+</sup>	0.274	206, 193, 192, 178, 166	苦木
50	19.77	7,8-Dimethoxy-2'-hydroxy-5-O- β-D-glucopyranosyloxyflavone <sup>[13]</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	477.139 3 [M+H] <sup>+</sup>	0.298	499, 337, 315	穿心莲
51	20.05	芹菜素 Apigenin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	269.045 9 [M-H] <sup>-</sup>	1.202	241, 197, 135, 117	穿心莲

续表 1 (Continued Tab. 1)

No.	$t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	MS	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	MS <sup>2</sup>	来源 Source
52	20.74	1-甲酰基-4,8-二甲氧基- $\beta$ -咔巴啉 1-Formyl-4,8-dimethoxy- $\beta$ -carboline <sup>[10]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	257.092 2 [M+H] <sup>+</sup>	0.355	225,197,182	苦木
53	21.18	5-Hydroxy-7,8,2',5'-tetramethoxyflavone- 5-O-glucoside <sup>[18]</sup>	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>	521.165 5 [M+H] <sup>+</sup>	0.225	359,344,331,285,286	穿心莲
54	21.18	穿心莲黄酮苷 D Andrographidine D <sup>[16]</sup>	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>	521.165 5 [M+H] <sup>+</sup>	0.225	359,344,331,285,286	穿心莲
55	21.35	4,5-二甲氧基铁屎米酮 4,5-Dimethoxycanthin-6-one <sup>[9]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	281.092 1 [M+H] <sup>+</sup>	0.111	266,237,220,167	苦木
56	21.97	穿心莲黄酮 Andrographin <sup>[16]</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	329.101 6 [M+H] <sup>+</sup>	-1.139	314,299,285, 199,165	穿心莲
57	22.73	新穿心莲内酯 Neoandrographolide <sup>[14]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>8</sub>	481.279 8 [M+H] <sup>+</sup>	0.323	319,301,289,261,191	穿心莲
58	23.54	14-去氧穿心莲内酯 14-Deoxyandrographolide <sup>[14]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	335.221 6 [M+H] <sup>+</sup>	-0.286	317,299,259,119, 133,107	穿心莲
59	23.81	脱水穿心莲内酯 Dehydroandrographolide <sup>[14]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	333.206 2 [M+H] <sup>+</sup>	-0.498	287,315,297,211	穿心莲
60	24.60	Picrasidine H <sup>[9]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	481.187 0 [M+H] <sup>+</sup>	0.017	449,253,238,228,185	苦木
61	24.60	4-甲氧基-1-甲酰基- $\beta$ -咔巴啉 4-Methoxycabonyl-1-formyl- $\beta$ -carboline <sup>[9]</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	241.097 2 [M+H] <sup>+</sup>	0.066	228,213, 196,167,124	苦木
62	25.01	千层纸素 A Oroxylin A	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	283.060 5 [M-H] <sup>-</sup>	1.590	268,262,234, 214,178,163	穿心莲
63	25.59	Picrasidine C <sup>[9]</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	495.202 9 [M+H] <sup>+</sup>	0.340	476,351,267, 253,225,212,168	苦木
64	25.87	5,7,2',3'- Tetramethoxyflavone <sup>[16]</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	343.117 6 [M+H] <sup>+</sup>	-0.101	328,313,285	穿心莲
65	25.87	蓟黄素 Cirsimaritin	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	313.072 3 [M-H] <sup>-</sup>	1.625	298,283,255	溪黄草
66	25.89	黄芩黄酮 I Skullcapflavone I	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	313.072 3 [M-H] <sup>-</sup>	1.625	314,315,283	穿心莲
67	25.89	5,4'-二羟基-7,8-二甲氧基黄酮 5,4'-Dihydroxy-7,8-dimethoxy-flavone <sup>[14]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	315.086 5 [M+H] <sup>+</sup>	0.652	300,287,271,197,153	穿心莲
68	26.00	1- $\beta$ -羰基-3-(4-甲氧基- $\beta$ -羰基)-丙-2-酮 1- $\beta$ -Carboline-3-(4-methoxy- $\beta$ - carboline)-propan-2-one <sup>[10]</sup>	C <sub>26</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	421.166 0 [M+H] <sup>+</sup>	0.279	403,253,211	苦木
69	26.30	Pachypodol	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	345.097 1 [M+H] <sup>+</sup>	0.231	330,315,297,283,169	溪黄草
70	27.18	Picrasidine A <sup>[9]</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	451.176 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.143	283,241,226,199	苦木
71	27.74	Kumujiansine <sup>[9]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	449.197 4 [M+H] <sup>+</sup>	0.551	225,212,199,152	苦木
72	27.87	新穿心莲内酯苷元 Andrograpanin	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	319.226 9 [M+H] <sup>+</sup>	0.309	301,289,205,109	穿心莲
73	28.23	Aurantiamide acetate	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	445.212 4 [M+H] <sup>+</sup>	0.186	252,224,194,134,105	溪黄草
74	28.63	Picrasidine F <sup>[9]</sup>	C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	479.208 0 [M+H] <sup>+</sup>	0.507	449,267,252,237,227,197,168	苦木
75	29.00	Diterpenoids <sup>[12]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	315.195 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.282	297,279,227,212	溪黄草
76	29.09	Abietane diterpenoids <sup>[12]</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	313.179 8 [M+H] <sup>+</sup>	-0.131	295,277,228,237	溪黄草
77	29.18	苏芥宁黄酮 Moslossooflavone	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	299.091 7 [M+H] <sup>+</sup>	0.903	283,267,255,238	穿心莲

续表 1 (Continued Tab. 1)

No.	$t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	MS	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	$MS^2$	来源 Source
78	29.32	5-Hydroxy-7,8-dimethoxydihydroflavone <sup>[17]</sup>	$C_{17}H_{16}O_5$	299.092 2 [M-H] <sup>-</sup>	-1.026	284, 269	穿心莲
79	29.77	苦木双碱乙 Kumujiantine <sup>[9]</sup>	$C_{30}H_{28}N_4O_4$	509.218 9 [M+H] <sup>+</sup>	1.057	279, 267, 227, 199	苦木
80	29.80	去氢苦木碱 Dehydrocrenatinine <sup>[9]</sup>	$C_{15}H_{14}N_2O_2$	255.112 8 [M+H] <sup>+</sup>	0.062 253, 254, 256, 240, 227, 197, 148	糖木	
81	30.04	5-Hydroxy-7,2',3'-trimethoxyflavone <sup>[16]</sup>	$C_{18}H_{16}O_6$	329.101 5 [M+H] <sup>+</sup>	-1.503	314, 299, 285, 268, 165	穿心莲
82	30.63	5-Hydroxy-7,8,2',5'-tetramethoxyflavone <sup>[18]</sup>	$C_{19}H_{18}O_7$	359.112 7 [M+H] <sup>+</sup>	0.559	344, 331, 329, 285, 286	穿心莲
83	30.63	5-Hydroxy-7,8,2',3'-tetramethoxyflavone <sup>[16]</sup>	$C_{19}H_{18}O_7$	359.112 7 [M+H] <sup>+</sup>	0.559	344, 331, 329, 285, 286	穿心莲
84	30.63	3-Hydroxy-3',4',5,7-tetramethoxyflavone	$C_{19}H_{18}O_7$	359.112 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.308	360, 361, 381, 344	穿心莲
85	31.68	3,19-Dihydroxy-15-methoxy-entlabda-8(17),11,13-trien-16,15-olide <sup>[14]</sup>	$C_{21}H_{30}O_5$	363.216 6 [M+H] <sup>+</sup>	0.026	385, 345, 327, 313, 295	穿心莲
86	32.61	疏展香茶菜宁 A Effusanin A	$C_{20}H_{28}O_5$	349.201 8 [M+H] <sup>+</sup>	2.433	331, 303, 275	溪黄草
87	36.86	科罗索酸 Corosolic acid	$C_{30}H_{48}O_4$	471.348 5 [M-H] <sup>-</sup>	0.497	455, 425, 178	穿心莲、 溪黄草
88	38.65	齐墩果酸 Oleanic acid	$C_{30}H_{48}O_3$	455.353 5 [M-H] <sup>-</sup>	0.838	456, 457	穿心莲、 溪黄草
89	38.82	熊果酸 Ursolic acid	$C_{30}H_{48}O_3$	455.353 3 [M-H] <sup>-</sup>	0.508	456, 457, 523, 524, 33, 591	溪黄草

### 2.1.1 生物碱类化合物的分析鉴定

从 XLP 中正、负离子模式下共鉴别出生物碱类 28 种, 主要有咔巴啉、铁屎米酮、二聚体这 3 种类型。铁屎米酮型化合物 **33** 在正离子模式下的分子离子峰  $m/z$  267.076 6 [M+H]<sup>+</sup>, 推测分子式为  $C_{15}H_{10}N_2O_3$ 。可以从图 2 观察到, 母离子失去  $CH_3$ 、O、CO, 然后酮基丢失, D 环开裂得到  $\beta$  咔巴啉型碎片离子, 根据裂解规律参照文献比对确定化合物为 4-

甲氧基-5-羟基铁屎米酮<sup>[9]</sup>。二聚体化合物 **74** 在正离子模式下的分子离子峰  $m/z$  479.208 0 [M+H]<sup>+</sup>, 推测分子式为  $C_{29}H_{26}N_4O_3$ 。二聚体类生物碱主要是裂解形成多种  $\beta$  咔巴啉型碎片离子, 然后失去  $OCH_3$ 、 $CH_3$ 、 $H_2O$  等取代基。根据裂解规律参照文献比对确定化合物为 picrasidine F<sup>[9]</sup>。不同  $\beta$  咔巴啉型生物碱的辨别依据是取代基不同而裂解后所产生的质谱数据不同。

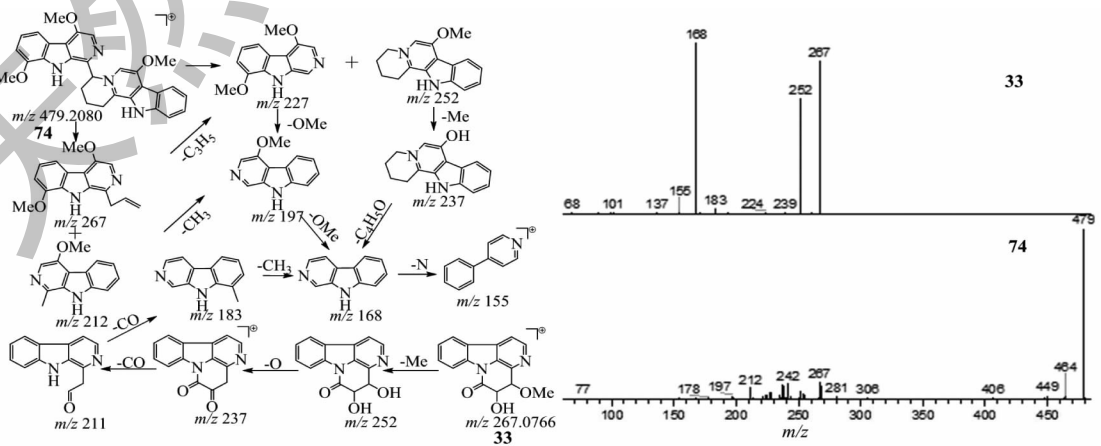


图 2 4-甲氧基-5-羟基铁屎米酮和 picrasidine F 的质谱裂解规律

Fig. 2 Mass spectrum fragmentation law of 4-methoxy-5-hydroxycanthin-6-one and picrasidine F

### 2.1.2 酚酸类化合物的分析鉴定

从 XLP 中正、负离子模式下共鉴别出酚酸类 5 种,主要有迷迭香酸、咖啡酸、绿原酸等。化合物 **26** 在负离子模式下的分子离子峰  $m/z$  359.077 7  $[M-H]^-$ ,推测分子式为  $C_{18}H_{16}O_8$ 。可以从图 3 观察到,

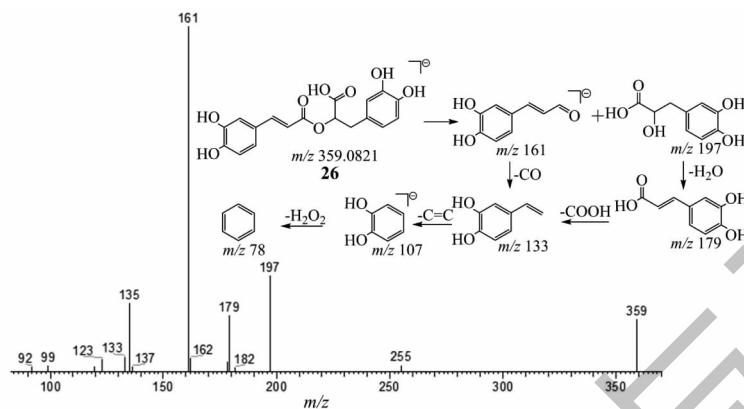


图 3 迷迭香酸的质谱裂解规律

Fig. 3 Mass spectrum fragmentation law of rosmarinic acid

### 2.1.3 黄酮类化合物的分析鉴定

从 XLP 中正、负离子模式下共鉴别出黄酮类及其苷类 27 种,主要有木犀草素、穿心莲黄酮苷 E、芹菜素、牡荆苷、穿心莲黄酮等。化合物 **36** 在正离子模式下的分子离子峰  $m/z$  491.154 9  $[M+H]^+$ ,推测分子式为  $C_{24}H_{26}O_{11}$ 。可以从图 4 观察到,母离子

先失去苷元形成  $m/z$  329 离子碎片,失去  $CH_3$  形成  $m/z$  314  $[M+H-Glc-CH_3]^+$  碎片离子,同时还有较高的 A 环  $m/z$  199 碎片离子。根据裂解规律参照文献比对确定化合物为穿心莲黄酮苷 E<sup>[16]</sup>。

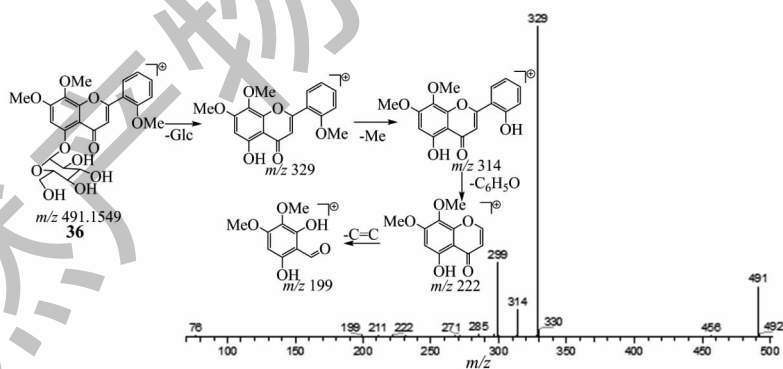


图 4 穿心莲黄酮苷 E 的质谱裂解规律

Fig. 4 Mass spectrum fragmentation law of andrographidine E

化合物 **67** 在正离子模式的分子离子峰  $m/z$  315.086 5  $[M+H]^+$ ,推测分子式为  $C_{17}H_{14}O_6$ 。可以从图 5 观察到,母离子发生 RDA 裂解形成  $m/z$  197 离子碎片,失去 CO 形成  $m/z$  287  $[M+H-CO]^+$  碎片离子,同时还有  $m/z$  153、 $m/z$  136 碎片离子。根据裂解规律参照文献比对确定化合物为 5,4'-二羟基-7,8-二甲氧基黄酮<sup>[14]</sup>。

### 2.1.4 内酯类化合物的分析鉴定

从 XLP 中正、负离子模式下共鉴别出内酯类及其苷类 17 种,主要有穿心莲内酯、新穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯苷等。化合物 **57** 在正离子模式下的分子离子峰  $m/z$  481.279 8  $[M+H]^+$ ,推测分子式为  $C_{26}H_{40}O_8$ 。可以从图 6 观察到,母离子先失去苷元形成  $m/z$  319  $[M+H-Glc]^+$  碎片



离子,然后失去  $\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CH}_2\text{O}$ 、 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3$  形成  $m/z$  301  $[\text{M} + \text{H-Glc-H}_2\text{O}]^+$ 、 $m/z$  289  $[\text{M} + \text{H-Glc-2CH}_2\text{O}]^+$ 、 $m/z$  191  $[\text{M} + \text{H-Glc-C}_6\text{H}_8\text{O}_3]^+$  碎片离

子。根据裂解规律参照文献比对确定化合物为新穿心莲内酯<sup>[14]</sup>。

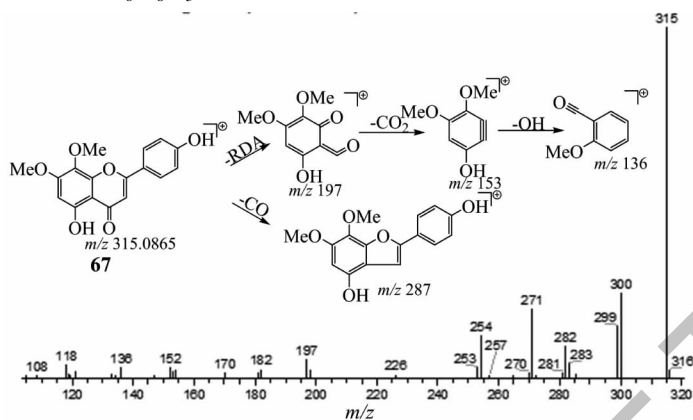


图 5 5,4'-二羟基-7,8-二甲氧基黄酮的质谱裂解规律

Fig. 5 Mass spectrum fragmentation law of 5,4'-dihydroxy-7,8-dimethoxy-flavone

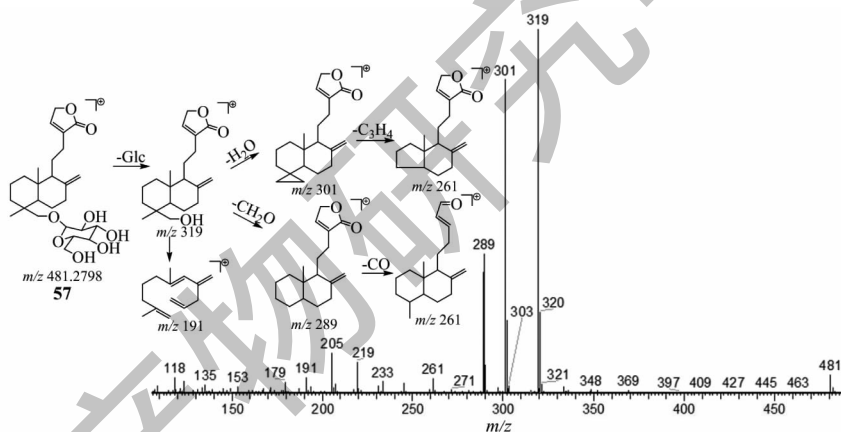


图 6 新穿心莲内酯的质谱裂解规律

Fig. 6 Mass spectrum fragmentation law of neoandrographolide

## 2.2 基于网络药理学对消炎利胆片治疗胆管炎的活性成分及机制预测

### 2.2.1 靶点的预测

基于 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 技术鉴定的 XLP 化学成分通过 SwissADME 数据库筛选后导入 SwissTargetPrediction 数据库获得了 876 个靶点。以“cholangitis”为检索词,通过 OMIM 数据库、Drugbank 数据库 Genecards 数据库,获得了 461 个疾病靶点。将成分与疾病的靶点取交集后获得了 76 个共同靶点。

### 2.2.2 PPI 网络的构建及核心靶点的获取

利用 Cytoscape 软件对 76 个共同靶点绘制如图 7 所示的 PPI 网络(颜色越深 DC 值越大)。通过

BC、CC、DC 指标筛选后,得到了 16 个核心靶点,包括信号传导与转录激活因子 3 (STAT3)、白细胞介素-6 (IL-6)、表皮生长因子受体 (EGFR) 等。

### 2.2.3 功能富集分析和通路分析

通过 Metascape 平台对 76 个共同靶点进行 GO 富集和 KEGG 通路分析。GO 富集主要包括生物过程 (BP)、细胞组成 (CC)、分子功能 (MF),分别根据  $-\log(P \text{ value})$  值取前 10,对其进行可视化分析,见图 8A。BP 主要与炎症反应、细胞对细胞因子刺激的反应、运动正调节有关;CC 主要与膜侧、质膜外侧、受体复合体有关;MF 主要与 G 蛋白偶联趋化剂受体活性、趋化因子受体活性、趋化因子结合有关。KEGG 通路分析获得了 151 条通路,查询文献筛选

出与疾病直接或间接相关通路 10 条,如趋化因子信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、肿瘤坏死因子(TNF)信号

通路、PI3K-Akt 信号通路等(见图 8B)。

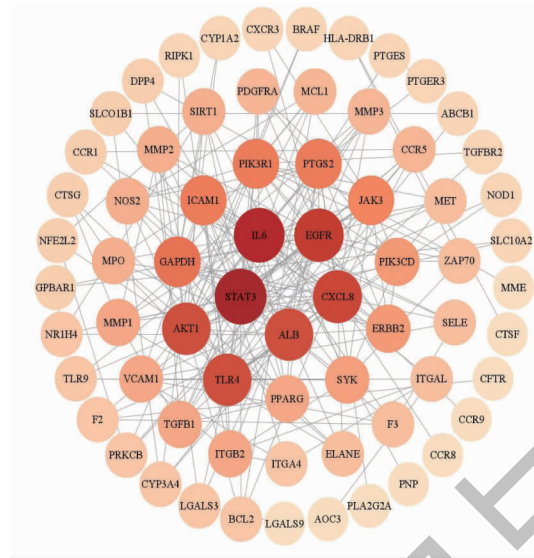


图 7 XLP 治疗胆管炎的 PPI 网络图

Fig. 7 PPI network diagram of XLP in treating cholangitis

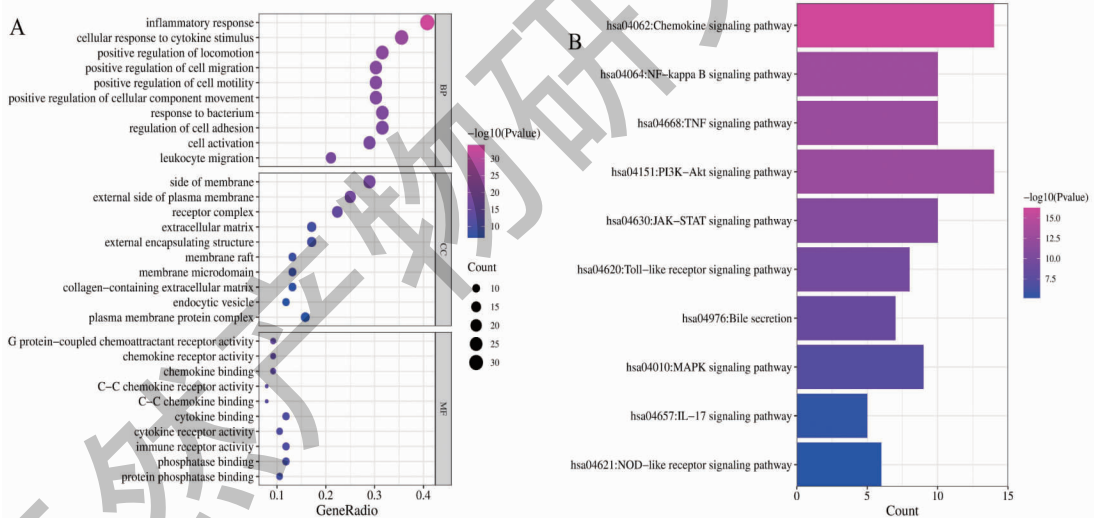


图 8 消炎利胆片治疗胆管炎的 GO 富集(A)和 KEGG 通路分析(B)

Fig. 8 Go enrichment (A) and KEGG pathway analysis (B) of Xiaoyanlidan tablets in treating cholangitis

#### 2.2.4 “成分-靶点-通路”图的构建

通过 Cytoscape 软件绘制成分-靶点-通路图,见图 9(其中删除了与其他节点无相互作用的“胆汁分泌”节点)。图 9 共包含 67 个节点、184 条边,节点大小与 DC 呈正相关,边的粗细与 BC 呈正相关,红色三角形代表通路,黄色方形代表靶点,深蓝色圆形代表穿心莲活性成分,浅蓝色六边形代表苦木活性成分,绿色八边形代表溪黄草活性成分,紫色菱形代

表穿心莲和溪黄草的共有成分。将网络中 3 种药材的活性成分根据其在 UPLC-MS 中峰面积占比进行排序,发现穿心莲中脱水穿心莲内酯、穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯排名靠前,苦木中 4-甲氧基-5-羟基铁尿米酮、4,5-二甲氧基铁尿米酮、去氢苦木碱排名靠前,溪黄草中木犀草素、迷迭香酸排名靠前,见表 2。网络中 9 个通路节点根据 DC 排序,PI3K-Akt 信号通路、JAK-STAT 信号通路排名靠前。

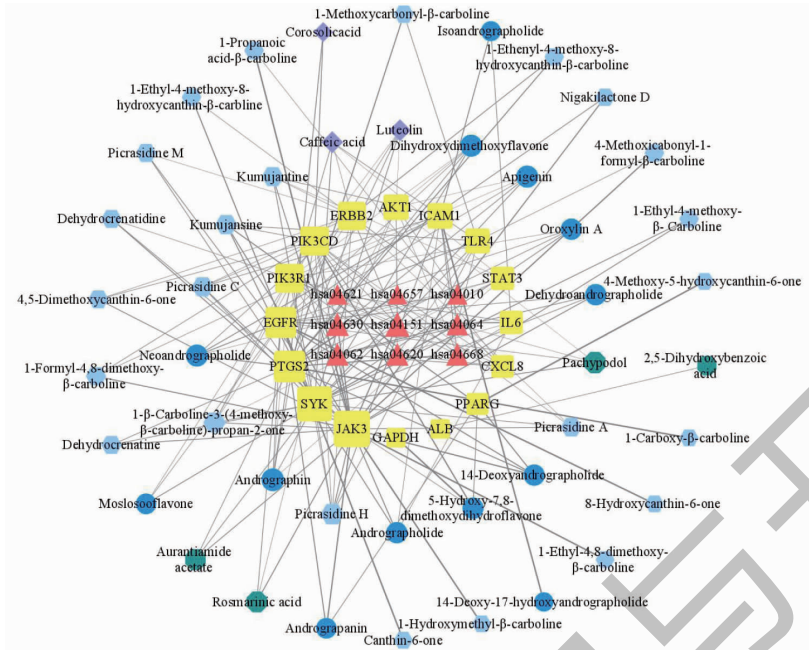


图9 XLP 治疗胆管炎的“成分-靶点-通路”网络

Fig. 9 "Component-target-pathway" network of XLP in treating cholangitis

表2 XLP 治疗胆管炎相关成分的峰面积占比排序

Table 2 Peak area specific ranking of cholangitis associated components by XLP treatment

No.	成分 Component	峰面积占比 Proportion of peak area (%)	来源 Source
1	脱水穿心莲内酯 Dehydroandrographolide	7.25	穿心莲
2	穿心莲内酯 Andrographolide	6.35	穿心莲
3	4-甲氧基-5-羟基铁尿米酮 4-Methoxy-5-hydroxycanthin-6-one	5.54	苦木
4	4,5-二甲氧基铁尿米酮 4,5-Dimethoxy-canthin-6-one	3.61	苦木
5	14-去氧穿心莲内酯 14-Deoxyandrographolide	3.54	穿心莲
6	新穿心莲内酯苷元 Andrograpanin	2.46	穿心莲
7	异穿心莲内酯 Isoandrographolide	2.15	穿心莲
8	去氢苦木碱 Dehydrocrenatidine	2.05	苦木
9	苦木双碱 K. Kumujiantine	2.04	苦木
10	新穿心莲内酯 Neoandrographolide	1.48	穿心莲
11	木犀草素 Luteolin	1.47	穿心莲、溪黄草
12	14-Deoxy-17-hydroxyandrographolide	1.37	穿心莲
13	1-甲氧甲酰基-β-咔巴啉 1-Methoxycarbonyl-β-carboline	1.35	苦木
14	迷迭香酸 Rosmarinic acid	1.34	溪黄草
15	芹菜素 Apigenin	1.32	穿心莲
16	苏芥宁黄酮 Moslosooflavone	1.06	穿心莲
17	1-乙烯基-4-甲氧基-8-羟基-β-咔巴啉 1-Ethenyl-4-methoxy-8-hydroxycanthin-β-carboline	0.99	苦木
18	Picrasidine A	0.88	苦木
19	1-β-羰基-3-(4-甲氧基-β-羰基)-丙-2-酮 1-β-Carboline-3-(4-methoxy-β-carboline)-propan-2-one	0.83	苦木

续表 2(Continued Tab. 2)

No.	成分 Component	峰面积占比 Proportion of peak area(%)	来源 Source
20	Pachypodol	0.81	溪黄草
21	1-羟甲基- $\beta$ -咔巴啉 1-Hydroxymethyl- $\beta$ -carboline	0.80	苦木
22	Aurantiamide acetate	0.77	溪黄草
23	1-乙基-4,8-二甲氧基- $\beta$ -咔巴啉 1-Ethyl-4,8-dimethoxy- $\beta$ -carboline	0.75	苦木
24	1-丙酸基- $\beta$ -咔巴啉 1-Propanoic acid- $\beta$ -carboline	0.68	苦木
25	Picrasidine M	0.67	苦木
26	Picrasidine H	0.64	苦木
27	4-甲氧基-1-甲酰基- $\beta$ -咔巴啉 4-Methoxycabonyl-1-formyl- $\beta$ -carboline	0.64	苦木
28	1-甲酸- $\beta$ -咔巴啉 1-Carboxy- $\beta$ -carboline	0.52	苦木
29	1-甲酰基-4,8-二甲氧基- $\beta$ -咔巴啉 1-Formyl-4,8-dimethoxy- $\beta$ -carboline	0.46	苦木
30	1-乙基-4-甲氧基- $\beta$ -咔巴啉 1-Ethyl-4-methoxy- $\beta$ -carboline	0.40	苦木
31	1-乙基-4-甲氧基-8-羟基- $\beta$ -咔巴啉 1-Ethyl-4-methoxy-8-hydroxycanthin- $\beta$ -carbline	0.26	苦木
32	Picrasidine C	0.19	苦木
33	科罗索酸 Corosolic acid	0.17	穿心莲、溪黄草
34	Dihydroxydimethoxyflavone	0.16	穿心莲
35	Nigakilactone D	0.14	苦木
36	铁屎米酮 Canthin-6-one	0.14	苦木
37	千层纸素 A Oroxylin A	0.14	穿心莲
38	2,5-二羟基苯甲酸 2,5-Dihydroxybenzoic acid	0.11	溪黄草
39	Dehydrocrenatine	0.10	苦木
40	8-羟基铁屎米酮 8-Hydroxycanthin-6-one	0.09	苦木
41	Kumujansine	0.07	苦木
42	咖啡酸 Caffeic acid	0.06	穿心莲溪黄草
43	穿心莲黄酮 Andrographin	0.06	穿心莲
44	5-Hydroxy-7,8-dimethoxydihydroflavone	0.06	穿心莲

### 3 讨论

#### 3.1 XLP 治疗胆管炎的活性成分预测

本研究采用 UPLC-LTQ-Orbitrap-MS/MS 技术对 XLP 中的化学成分进行了快速分析,正负离子模式下共鉴别出化学成分 89 个,其中生物碱类 28 个,黄酮类 27 个,内酯类 17 个,酚酸类 5 个,其他类 12 个,并对其中 7 种代表性成分的裂解规律进行了描述。在鉴别出来的化学成分中,穿心莲中主要为内酯类和黄酮类,苦木中主要为生物碱类,溪黄草中主要为黄酮类和酚酸类。通过构建“成分-靶点-通路”网络,发现除去 3 个穿心莲和溪黄草共有潜在活性成分后,穿心莲中潜在活性成分有 13 个,苦木中潜在活性成分有 24 个,溪黄草中潜在活性成分 4 个。通过查阅相关文献,发现穿心莲内酯可通过抑制

p38 MAPKs 活化,抑制 COX2 和 iNOS 的活性,从而抑制 LPS 诱导下的炎症因子,同时可以下调 ICAM-1、p-JAK2、p-STAT3、NLRP3、TLR4、NF- $\kappa$ B 基因的表达,阻断其对炎症反应的促进作用,还可以抑制肝星状细胞(HSC)活化<sup>[19-22]</sup>。新穿心莲内酯可抑制人血液中 LPS 诱导的 COX2 活性<sup>[21]</sup>。脱水穿心莲内酯可降低 IL-6、TNF- $\alpha$  水平,抑制纤维化相关因子表达,减少胶原纤维沉积<sup>[23,24]</sup>。4-甲氧基-5-羟基铁屎米酮对结肠炎具有治疗效果,可以减轻 MPO、TNF- $\alpha$  水平<sup>[25]</sup>。苦木总生物碱可以降低 IL-6、TNF- $\alpha$  含量,改善关节炎<sup>[26]</sup>。 $\beta$ -咔巴啉生物碱能阻断 NF- $\kappa$ B 通路活化,铁屎米酮生物碱可抑制 NF- $\kappa$ B 通路和 MAPK 通路,其中活性成分铁屎米酮通过抑制 iNOS、COX2 的表达,减少 NO、IL-6、TNF- $\alpha$  的释放<sup>[27]</sup>。

迷迭香酸可以抑制 TGF- $\beta$ 1、CTGF 的表达,抑制 HSC 增值分化,缓解肝纤维化的生成;同时可以抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-6、HMGB-1、NLRP3 等,调节 NF- $\kappa$ B、MAPK、ERK 通路发挥抗炎作用<sup>[28]</sup>。木犀草素可以抑制炎性细胞因子、炎症介质的表达,影响 NF- $\kappa$ B、MAPK、AP-1、JAK、STAT 信号通路<sup>[29]</sup>。以上结果提示,XLP 中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯、迷迭香酸、木犀草素等成分是药效物质。

### 3.2 XLP 治疗胆管炎的潜在作用靶点和分子机制

本研究根据 XLP 治疗靶点的 PPI 网络筛选得到了 16 个核心基因 (STAT3、IL6、EGFR、CXCL8、ALB、AKT1、TLR4、GAPDH、ICAM1、PIK3R1、PTGS2、JAK3、ERBB2、PIK3CD、SYK、PPARG)。JAKs 激酶是控制细胞增殖、分化、凋亡的各种信号转导途径的关键成分,磷酸化的 JAK3 激活 STAT3,影响 JAK-STAT 信号通路,在抗炎和修复损伤组织中起重要作用<sup>[30]</sup>。除了激活 STAT 外,JAKs 激酶还可激活 MAPK 和 PI3k-Akt 信号通路<sup>[31]</sup>。MAPK 信号通路参与了细胞增殖、分化、迁移,可以调控 COX2 (又称 PTGS2) 和 iNOS 活性;也是所有 ErBB 受体 (比如 EGFR、ERBB2) 下游的共同靶标;还可被 NOD1 介导的 NOD 受体信号通路驱动<sup>[19,32]</sup>。NOD1 可检测到细菌肽聚糖片段,从而驱动 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路的激活,影响细胞因子的产生和凋亡<sup>[32]</sup>。PI3k-Akt 信号通路中 PI3k 激活后,使 akt1 磷酸化,产生 p-akt1,然后 p-akt1 激活 NF- $\kappa$ B 信号通路。同时通过细胞膜上的 TLR4 识别病原体也可以激活 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[19]</sup>。NF- $\kappa$ B 信号通路可调控 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  等细胞因子的炎症反应,产生免疫、炎症、应激反应<sup>[19]</sup>。文献表明胆管炎模型的 CD4<sup>+</sup>T 细胞、IL-6、IL-8 表达水平高于无胆管炎组,IL8 (又称 CXCL8) 作用于 CXCR1 和 CXCR2 受体,在上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞等都有表达,除了在炎症条件下发挥重要作用,也与组织损伤、纤维化等疾病有关<sup>[33,34]</sup>。消炎利胆片可能可以作用在 PI3CD、PI3R1、AKT1、TLR4 靶点,影响 PI3k-Akt 信号通路和 Toll 样受体信号通路,抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活,发挥药效。胆管上皮细胞表达 IL-17R,可诱导分泌炎症因子及趋化因子,促进炎性细胞的迁移,加重慢性胆管炎及胆管损伤<sup>[35]</sup>。KEGG 通路分析结果也显示消炎利胆片对 IL-17 信号通路具有调节作用。胆汁淤积可进一步导致炎性因子浸润。四氯化碳可致肝损伤大鼠中 CYP450 酶 (比如 CYP2C6、

CYP2B1、CYP2B2) 上调,有报道称可以通过抑制胆汁酸合成酶 (比如 CYP7A1、CYP8B1、CYP27A1) 来减少胆汁淤积<sup>[36,37]</sup>。XLP 可能可以作用在 CYP3A4、CYP1A2 靶点上,来减少胆汁淤积。同时胆汁酸相关转运体 (CFTR、ABCB1、SLC10A2、NR1H4、SLCO1B1) 的正常表达也有利于疾病的发展与治疗。

综上所述,本研究发现 XLP 治疗胆管炎可能与抗炎、减少胆汁淤积、抗肝纤维化有关,初步揭示了其潜在药效物质基础、靶点和通路,后期将进一步进行实验验证。特别是,网络药理学分析和文献调研表明,消炎利胆片中穿心莲的内酯类成分,苦木的生物碱类成分,溪黄草的迷迭香酸及共有成分木犀草素与治疗胆管炎药效关系密切,为其质量控制提升、药效作用机制阐明提供了重要依据。

### 参考文献

- 1 Wang J, Chen WD, Liu XZ, et al. Lidantang attenuates severe acute cholangitis induced hepatic injury [J]. *J Clin Pathological Res (临床与病理杂志)*, 2017, 37: 353-358.
- 2 Tan WM. The study of the association between IL-17 gene polymorphisms and the susceptibility of primary biliary cholangitis in a Chinese population [D]. Nanchang: Nanchang University (南昌大学), 2021.
- 3 Guo CC, Shi YQ, Shang YL, et al. Guidelines on the diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis (2021) [J]. *J Clin Hepatology (临床肝胆病杂志)*, 2022, 38: 50-61.
- 4 Wang TL, Wu G. Progress in diagnosis and treatment of IgG4 associated sclerosing cholangitis [J]. *Chin J Gerontol (中国老年学杂志)*, 2021, 41: 3145-3148.
- 5 Du L, Cen M, Zheng X, et al. Timing of performing endoscopic retrograde cholangiopancreatography and inpatient mortality in acute cholangitis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2020, 11: e00158.
- 6 Liu FL, Lin ZZ, Zhao W, et al. Intervention of Xiaoyan Lidan Pian on ANIT induced intrahepatic cholestasis in rats [J]. *J Chin Med Mater (中药材)*, 2016, 39: 898-901.
- 7 Tang HM. Research on separation and purification, quality evaluation and antitumor activity of water-soluble constituents from *Isodon lophanthoides* [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2015.
- 8 Jaskolla TW, Onischke K, Schiller J. 2, 5-dihydroxybenzoic acid salts for matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric lipid analysis: simplified spectra interpretation and insights into gas-phase fragmentation [J].

- Rapid Commun Mass Spectrom,2014,28:1353-63.
- 9 Lai ZQ. Studies on chemical constituents and quality of *Picrasma quassioides* [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2011.
  - 10 Lu ZH, Yuan Y, Liu FL, et al. Mechanism study of Liandan Xiaoyan Prescription on attenuating ulcerative colitis based on the components into the blood analysis [J]. J Chin Med Mater (中草药), 2021, 44: 863-872.
  - 11 Hawas UW, Abou El-Kassem LT, Al-Farawati R, et al. Halophenolic metabolites and their in vitro antioxidant and cytotoxic activities from the Red Sea alga *Avrainvillea amadelpha* [J]. Z Naturforsch C J Biosci, 2021, 76: 213-218.
  - 12 Wong LL, Liang ZT, Chen HB, et al. Rapid differentiation of Xihuangcao from the three *Isodon* species by UPLC-ESI-QTOF-MS/MS and chemometrics analysis [J]. Chin Med, 2016, 11: 48.
  - 13 Zhou KL. Studies on chemical constituents of *Andrographis paniculata* Nees. and *Apium graveolens* L. [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学), 2008.
  - 14 Song YX, Liu SP, Jin Z, et al. Qualitative and quantitative analysis of *Andrographis paniculata* by rapid resolution liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. Molecules, 2013, 18: 12192-207.
  - 15 Xu QQ, Bao BH, Zhang L, et al. UPLC-QTOF-MS analysis and multicomponent quantitative analysis of *Cayratia japonica* [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med (南京中医药大学学报), 2020, 36: 517-524.
  - 16 Wang YQ, Jiao JJ, Yang YZ, et al. Screening and identification for immunological active components from *Andrographis Herba* using macrophage biospecific extraction coupled with UPLC/Q-TOF-MS [J]. Molecules, 2018, 23: 1047.
  - 17 Li WK, Xu XD, Zhang HJ, et al. Secondary metabolites from *Andrographis aniculata* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2007, 55: 455-458.
  - 18 Bhaskar Reddy MV, Kishore PH, Rao CV, et al. New 2'-oxygenated flavonoids from *Andrographis affinis* [J]. J Nat Prod, 2003, 66: 295-7.
  - 19 Tong J, Ge ZY, Jiang L. Research progress in the distribution and anti-inflammatory mechanism of andrographolide and its derivatives *in vivo* [J]. J Clin Ration Drug Use (临床合理用药杂志), 2020, 13: 180-181.
  - 20 Shi H, Zeng YG, Niu YT, et al. Anti-inflammatory effect of andrographolide on adjuvant-induced inflammatory paw swelling in mice via the JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. J Guangxi Med Univ (广西医科大学学报), 2020, 37: 172-176.
  - 21 Meng CH, Ma J. Research progress on anti-inflammatory mechanism of andrographolide [J]. J Guangxi Univ Chin Med (广西中医药大学学报), 2019, 22: 61-64.
  - 22 Khamphaya T, Chansela P, Piyachaturawat P, et al. Effects of andrographolide on intrahepatic cholestasis induced by alpha-naphthylisothiocyanate in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 789: 254-264.
  - 23 Xie J. The inhibitory effect and mechanism of dehydroandrographolide on liver fibrosis induced by bile duct ligation in mice [D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University (锦州医科大学), 2019.
  - 24 Huang CC, Lin KJ, Cheng YW, et al. Hepatoprotective effect and mechanistic insights of deoxyelephantopin, a phyto-sesquiterpene lactone, against fulminant hepatitis [J]. J Nutr Biochem, 2013, 24: 516-530.
  - 25 Liu JF, Shao M, Zhai DW, et al. Protective effect of 4-methoxy-5-hydroxycanthin-6-one, a natural alkaloid, on dextran sulfate sodium-induced rat colitis [J]. Planta Med, 2009, 75: 142-145.
  - 26 Liu BW, Liu FL, Wang RY, et al. Chemical constituents of total alkaloids from *Picrasma quassioides* and its effects on collagen induced arthritis in rats [J]. J Chin Pharm Univ (中国药科大学学报), 2019, 50: 585-592.
  - 27 Liu P. Regulation of  $\beta$ -carboline and cathinone alkaloids on inflammatory signaling pathways [D]. Yantai: Yantai University (烟台大学), 2019.
  - 28 Cao W, Zhang WJ, Pan JF, et al. Advances in pharmacological effects of rosmarinic acid [J]. Guangxi J Tradit Chin Med (广西中医药), 2019, 42: 54-58.
  - 29 Yu Q, Wu GZ. Research progress on anti-inflammatory mechanism of luteolin [J]. J Pharm Res (药学研究), 2019, 38: 108-111.
  - 30 Zhao J, Qi YF, Yu YR. STAT3: A key regulator in liver fibrosis [J]. Ann Hepatol, 2021, 21: 100224.
  - 31 Rane SG, Reddy EP. Janus kinases: components of multiple signaling pathways [J]. Oncogene, 2000, 19: 5662-5679.
  - 32 Caruso R, Warner N, Inohara N, et al. NOD1 and NOD2: signaling, host defense, and inflammatory disease [J]. Immunity, 2014, 41: 898-908.
  - 33 Chen YT. Study on the infiltration levels of CD4<sup>+</sup>T cells, IL-6, IL-8, IL-33 in liver with biliary atresia and postoperative cholangitis and clearance of total bilirubin [D]. Zunyi: Zunyi Medical University (遵义医科大学), 2021.
  - 34 Russo RC, Garcia CC, Teixeira MM, et al. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases [J]. Expert Rev Clin Immunol, 2014, 10: 593-619.