卓越医见：中药药理学与疾病 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003855

基于UPLC-Q-TOF/MS、网络药理学和分子对接模拟探讨黄连解毒汤治疗痛风性关节炎的药效物质及作用机制

王文婷[1]，冯锦辉[1]，杨 珂[1]，李 莎[2]，王 斌[1]，刘继平[1]，卫 昊[1]，史永恒[1]，王 川[1]，王国全[1]
（1.陕西中医药大学药学院药理教研室，咸阳 712046；2.陕西中医药大学第二附属医院护理部，咸阳 712099）

【摘 要】目的：利用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱（ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry，UPLC-Q-TOF-MS）技术对黄连解毒汤（Huanglian Jiedu Decoction，HLJDD）的主要成分进行鉴定。并结合网络药理学和分子对接验证对HLJDD治疗痛风性关节炎（gouty arthritis，GA）中的潜在作用机制进行探讨。**方法：**通过UPLC-Q-TOF-MS技术在采集正、负离子模式下的数据，并结合对照品、相关文献及数据库检索，分析HLJDD的化学成分。利用网络药理学分析HLJDD治疗GA的潜在机制，筛选活性成分和GA的交集靶点，进一步富集分析和建立可视化网络，分子对接验证活性成分和交集靶点的结合能力。**结果：**通过UPLC-Q-TOF/MS方法鉴定出47个成分，采用网络药理学方法筛选得到HLJDD治疗GA的关键成分54个，交集靶点37个，PPI分析得到其中度值前10的关键靶点。GO功能富集分析得到20种生物过程、7种细胞组分、8种分子功能。KEGG通路富集分析得到96条干预GA相关通路，发现其治疗GA相关的通路主要涉及IL-17、TNF等炎症信号通路。分子对接进一步验证了HLJDD的关键成分与核心靶点结合能力良好。**结论：**已鉴定的HLJDD中的关键成分如黄柏碱、黄连碱、汉黄芩素、β-谷甾醇等可能通过调节IL-17、TNF通路中的多个核心靶点如PTSG2等来缓解GA，这为下一步深入研究作用机制提供了理论依据。

【关键词】黄连解毒汤；化学成分；超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱；网络药理学；分子对接
【中图分类号】R285.5 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2025-02-27

Pharmacodynamic substances and mechanism of action of Huanglian Jiedu Decoction in the treatment of gouty arthritis:a study based on UPLC-Q-TOF/MS，network pharmacology，and molecular docking simulation

Wang Wenting[1]，*Feng Jinhui*[1]，*Yang Ke*[1]，*Li Sha*[2]，*Wang Bin*[1]，*Liu Jiping*[1]，*Wei Hao*[1]，*Shi Yongheng*[1]，*Wang Chuan*[1]，*Wang Guoquan*[1]
（*1. Pharmacology Laboratory，School of Pharmacy，Shaanxi University of Chinese Medicine；2. Nursing Department，The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine*）

【Abstract】*Objective*：To identify the main components of Huanglian Jiedu Decoction（HLJDD）using ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry（UPLC-Q-TOF-MS），and to explore the potential mechanism of action of HLJDD in the treatment of gouty arthritis（GA）using network pharmacology and molecular docking methods. ***Methods*：**We identified the chemical components of HLJDD by combining UPLC-Q-TOF-MS data acquired in both positive and negative ion modes with reference standards，relevant literature，and database searches. We analyzed the potential therapeutic mechanism of HLJDD for GA by using network pharmacology to determine the intersection targets between the active ingredients of HLJDD and GA for further enrichment analysis and visual network mapping. The binding affinity of the active ingredients with the intersection targets was validated through molecular docking. ***Results*：**A total of 47 components were identified by UPLC-Q-TOF-MS；54 key components of HLJDD for GA treatment and 37 intersection targets were determined by network pharmacology；and the top 10 key targets by Degree value were obtained by protein-protein interaction analysis. The Gene Ontology functional enrichment analysis revealed 20 biological pro-

作者介绍：王文婷，Email：wangwenting0509@163.com，研究方向：抗感染中草药治疗临床感染性疾病的开发与应用。
通信作者：王国全，Email：wgq@163.com。
基金项目：陕西省科技厅面上资助项目（编号：2021JM-470）；陕西省教育厅重点资助项目（编号：24JR051）；秦创原中医药产业创新聚集区资助项目（编号：L2024-QCY-ZYYJJQ）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250513.1426.002（2025-05-14）

cesses, 7 cellular components, and 8 molecular functions. The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis demonstrated 96 GA-related intervention pathways, in which inflammatory signaling pathways such as interleukin-17 (IL-17) and tumor necrosis factor (TNF) were involved. Molecular docking verified that the key components of HLJDD had high binding affinity with the core targets. ***Conclusion***: The identified key components in HLJDD, such as phellodendrine, coptisine, wogonin, and β-sitosterol, may alleviate GA by regulating multiple core targets in the IL-17 and TNF pathways, such as PTSG2, which provides a theoretical basis for future investigation into the mechanism of action of HLJDD.

【Key words】 Huanglian Jiedu Decoction; chemical component; ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry; network pharmacology; molecular docking

痛风性关节炎（gouty arthritis, GA）是一种常见的代谢性风湿类疾病和慢性系统性炎症疾病，因长期发作严重影响患者的生活质量，因此对其研究具有重要价值。现有研究指出，其病理过程可能为嘌呤代谢失衡或尿酸排泄功能受损，导致血尿酸浓度异常增高，进而促使尿酸钠（monosodium urate, MSU）晶体在关节腔及周围软组织内逐渐沉积，最终诱发了GA[1]。从疾病发展规律来看，痛风的自然病程可以被划分成4个阶段：无症状高尿酸血症期、急性发作期、发作间歇期及慢性痛风石病变急性期[2-3]，其中以突发性关节红肿热痛及功能障碍为典型临床表现。流行病学研究表明，全球GA的患病率为0.1%~10%，我国最新研究证实其总体发病率已达2.86%，且呈现两大明显特征——年增长率持续走高，发病年龄向年轻人群体迁移[4]。现在治疗体系降低尿酸的方式为通过秋水仙碱、非甾体类消炎药（nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAID）、糖皮质激素等药物快速控制炎症反应，但长期使用这些药物易引发肝肾功能损伤及胃肠道并发症，更难以解决疾病复发等核心问题[5]。在此背景下，中医药在GA全程管理中的独特优势逐渐凸显，其通过多靶点调控改善患者预后的特点，为突破现有治疗瓶颈提供了新思路[6]。

黄连解毒汤（Huanglian Jiedu Decoction, HLJDD）作为清热解毒药方，出自《肘后备急方》，由黄连、黄芩、黄柏、栀子按3∶2∶2∶3配伍而成。现有药理学实验证据表明，HLJDD可通过多靶点交互作用发挥广泛的生物效应，包括调控炎症反应、抑制病原微生物增殖、改善脂质代谢稳态（如降低血清胆固醇水平），以及调节血管张力平衡（如稳定血压波动）、抗肿瘤增殖、氧化应激抑制、神经保护及免疫稳态调节等[7]。另一方面，现代研究表明HLJDD是以多靶点、多通路协同来发挥作用，例如不但能通过抑制核因子κB（nuclear factor kappa-B, NK-κB）、丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）等炎症通路发挥抗炎作用，而且可通过抑制NOD样受体热蛋白结构域蛋白3（NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3）炎症小体的异常激活、重构肠道微生物群落动态平衡，在代谢紊乱相关疾病的干预中体现多靶点协同增效作用。此外，临床观察证实该方可显著缓解GA患者关节症状并降低复发率，但其具体作用靶点及机制网络尚未完全阐明[8]。

本研究整合现代分析手段与生物信息学预测方法，首先采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术确定HLJDD化学成分，继而通过网络药理学筛选HLJDD治疗GA的关键靶点，构建“成分-靶点-通路”多维互作网络，分子对接验证了关键成分与关键靶基因之间的结合能力。这种系统研究策略不仅有助于揭示HLJDD治疗GA的潜在分子机制，更为经典方剂的现代化研究提供创新方法学参考。

1 材料与方法

1.1 试剂

黄连饮片（批号：S20240701，产地重庆）、栀子饮片（批号：240701，产地江西）、黄芩饮片（批号：S20221201，产地山西）、黄柏饮片（批号：20240712，产地四川），上述饮片均由北京同仁堂咸阳药店有限责任公司提供，均符合《中国药典》2020年版有关规定。色谱级甲醇购自天津市科密欧化学试剂有限公司，色谱级乙腈购自美国Sigma公司，质谱级甲酸来自赛默飞世尔科技（中国）有限公司。

1.2 仪器

Waters公司（美国）提供的ACQUITY UPLC H-Class超高效液相色谱系统与Xevo G2-XS Q-Tof高分辨质谱联用平台；昆山超声仪器有限公司生产的超声处理装置；赛多利斯集团（北京）研发的精密分析天平；以及理化器械株式会社（东京）制造的FDU-2100型真空冷冻干燥系统。

1.3 方法

1.3.1 HLJDD的成分分析

1.3.1.1 溶液的配制 ①供试品溶液。按处方称取4味药材饮片（黄连9 g、栀子9 g、黄芩6 g、黄柏6 g），浸泡30 min，药材按10倍与8倍纯化水分2次煎煮，各30 min。趁热过滤后合并2次的滤液，用旋转蒸发仪浓缩至微黏稠状态。-80 ℃预冻后冷冻干燥机干燥24 h，超微粉碎得到冻干粉。精确称取100 mg冻干粉，溶解于5 mL色谱甲醇中，12 000 r/min离心10 min得到上清液，上清液经0.22 μm滤膜过滤后避光保存待测。②对照品溶液。精密测定黄柏碱、巴马汀、汉汉黄芩素、黄连碱、栀子苷、黄芩苷、栀子苷酸及汉黄芩素对照品适量，分别以色谱级甲醇为溶剂配制成单一组分浓度为100 μg/mL的对照品溶液，上清液经0.22 μm滤膜过滤后避光保存待测。

1.3.1.2 测定条件 ①色谱条件。色谱柱：Waters ACQUITYUPLCBEHC18（2.1 mm×100.0 mm，1.7 μm），流动相：乙腈（A）-0.1%甲酸水溶液（B），洗脱梯度（0~1 min，5%A；1~5 min，5%~26%A；5~9 min，26%~28%A；9~12 min，28%~98%A；12~15 min，95%~95%A），进样量1 μL，柱温35 ℃，流速0.3 mL/min。②质谱条件。离子化方式：电喷雾离子源（electrospray ionization，ESI），采用正负离子分析模式检测；采集方法：Fast DDA；一级质谱扫描范围（m/z）：100~1 200；二级质谱扫描范围（m/z）：50~1 000；采集二级离子碎片；毛细管电压：3.0 kV；锥孔电压：50 V；源温度：100 ℃；去溶剂气温度：400 ℃；去溶剂气流速：800 L/h，锥孔气流速：50 L/h；正负离子碰撞能：低质量端能量设置为6 eV，高质量端能量设置为10~50 eV。

1.3.2 网络药理学探讨HLJDD治疗GA的作用机制

1.3.2.1 活性成分及靶点的筛选 根据中药系统药理学分析平台（TCMSP，http://tcmspw.com/TCMSP.php）的标准（OB≥30%和DL≥0.18），初步筛选HLJDD的化学成分。根据化学成分的鉴定结果，建立HLJDD的潜在活性成分数据库，并利用Uniprot蛋白质数据库（https://www.uniprot.org/）将化合物的蛋白质靶点标准化为相应的基因符号（Gene Symbol）作为药物活性靶点。在Genecards（https://www.genecards.org）、Disgenet（https://disgenet.com/）数据库中以“gouty arthritis”为关键词检索疾病靶点，采用中位数原则筛选后得到GA的潜在靶点。对药物活性靶点与疾病靶点的可视化交集分析在Venny在线分析平台（https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/）进行，通过韦恩图展示二者共有的核心作用靶点。

1.3.2.2 蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction network，PPI）网络构建 将共有的核心作用靶点上传至STRING蛋白互作网络分析平台（https://cn.string-db.org/），构建靶点间潜在相互作用关系图谱。随后，使用Cytoscape 3.10.1软件中CytoHubba插件根据节点的度值（degree）筛选出从PPI网络中前10个关键核心靶点。

1.3.2.3 KEGG通路分析与基因本体（gene ontology，GO）富集分析 对关键核心靶点在DAVID功能注释数据库（https://david.ncifcrf.gov/）进行GO注释及KEGG通路的富集分析，设定显著性阈值（P<0.05），筛选排名前15的显著性条目可视化。

1.3.3 分子对接 将筛选的10个核心成分作为分子对接中的配体，从PubChem数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）下载配体的SDF格式文件，转换为mol2格式文件用chem 3D软件；将Top 10核心靶点作为分子对接中的受体，从PDB数据库（https://www.rcsb.org/）下载PDB格式文件。将准备好的配体和受体文件使用Auto Dock Tools 1.5.6软件进行加氢、去水、计算电荷等处理，然后保存为pdbqt格式以用来分子对接。运用Autodock vina对活性成分和核心靶点分子对接以计算结合能，使用origin软件用热图表示对接结果，最后采用PyMOL软件对结合能最低的进行可视化。

2 结 果

2.1 基于UPLC-Q-TOF-MS的HLJDD化学成分鉴定

在上述色谱和质谱条件下对HLJDD供试品进样分析，得到样品正、负离子扫描模式下的总离子流图，见图1。采用一级质谱全扫描和提取离子峰的方法，确定了HLJDD 63个色谱峰，确定了47个化合物（表1）。经过与对照品的保留时间、精准相对分子质量比较，准确鉴定出8个化合物（黄柏碱、巴马汀、汉汉黄芩素、黄连碱、栀子苷、黄芩苷、栀子苷酸、汉黄芩素）；通过与文献提供的保留时间、相对分子质量、结构式、离子碎片对比，推测了其他35个化合物结构。47个化合物包括黄酮、有机酸、生物碱等多种化合物，其中黄酮类14个，生物碱类13个。

2.1.1 黄酮类成分质谱解析 本研究通过质谱分析从HLJDD中成功表征出14种黄酮类成分，选取其中编号36的化合物作为典型代表探讨其质谱裂解特征。在正离子扫描模式下，该化合物检测到准分子离子峰m/z 447.166 4（$[M+H]^+$），经精确质量数计算推导其分子式为C21H20O11。二级质谱分析显示特征碎片离子包括m/z 287.125 4（$[M+H-Glu]^+$）、269.112 7（$[M+H-Glu-H_2O]^+$）及241.115 3（$[M+H-Glu-H_2O-CO]^+$），据此推断其可能为黄芩苷或其结构类似物。碎片离子m/z 287的形成源于前体离子脱去一分子葡萄糖基团，后续脱水反应生成m/z 269碎片，而m/z 241则对应进一步丢失一氧化碳分子产生的特征峰。通过对照品保留时间比对及文献数据[9]，确定化合物36为黄芩苷。

2.1.2 生物碱类化合物 从HLJDD质谱结果中表征出13种生物碱类化合物。选编号15的化合物作为典型代表探讨其质谱裂解特征。在正离子扫描模式下，其分子离子峰为m/z342.244 7$[M]^+$，经精确质量数计算推测其分子式为$C_{20}H_{24}NO_4$。二级质谱分析显示特征碎片离子包括

m/z192.164 4[M+H−Glu]$^+$、177.138 5[M+H−Glu−CH_3]$^+$、148.133 9[M+H−Glu−CH_3−CHO]$^+$碎片离子，初步推测该成分为黄柏碱或其异构体。其中 m/z 192 是由前体离子断裂 1 分子葡萄糖所致，再进一步脱去 1 分子甲基形成 m/z 177，m/z 148 则为前体离子依次脱去 1 分子 CHO 离子后生成。通过对照品保留时间比对及文献数据[10]，确定化合物 15 为黄柏碱。

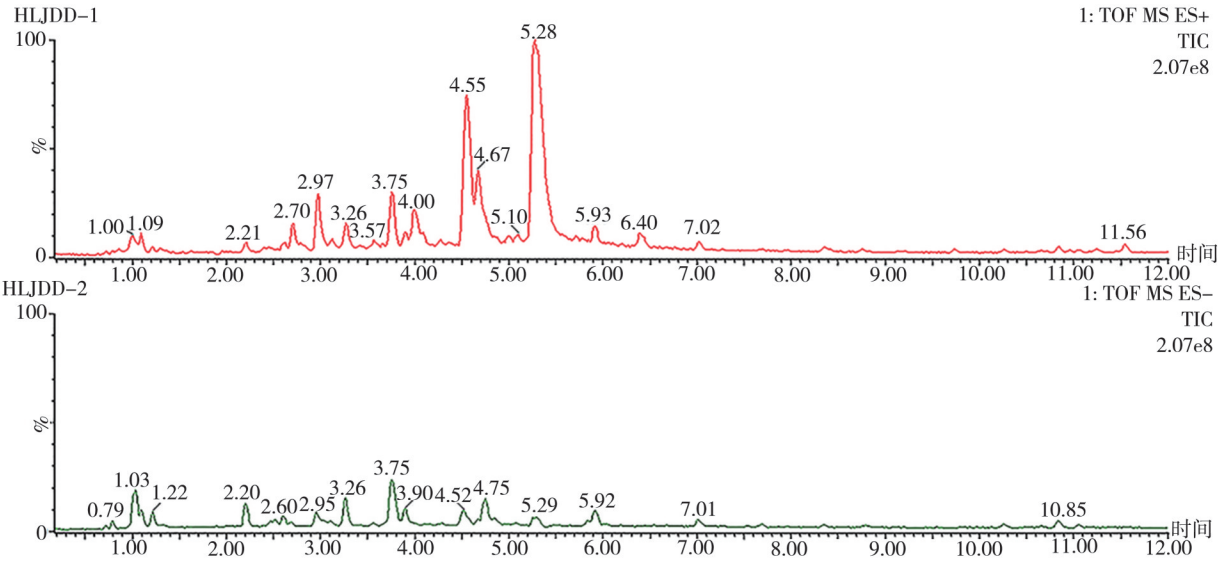


图 1　HLJDD 供试品在正、负离子模式下的总离子流图

表 1　HLJDD 方中已鉴定成分的质谱信息

序号	tR（min）	化合物	化学式	电离模式	信号强度	MS_1（m/z）	碎片离子	归属药材	分类
1	0.69	2−乙基−2−己烯醛	$C_8H_{14}O$	[M−H]$^-$	31 505	128.973	116.938，145.946，296.910	栀子	其他
2	0.87	Methyl−β−orsellinate	$C_9H_{10}O_4$	[M−H]$^-$	263 191	181.087	132.043，293.128，343.159	黄柏	酚类
3	0.89	京尼平	$C_{11}H_{14}O_5$	[M+HCO_2]$^+$	2 714 138	180.203	121.124，296.088，418.144	栀子	单萜类
4	0.95	9，12−十八碳二烯酸	$C_{18}H_{28}O_2$	[M+H]$^+$	119 744	276.062	97.016，178.151，276.062	栀子	有机酸类
5	0.96	反橙花叔醇	$C_{15}H_{26}O$	[M+HCO_2]$^+$	200 410	178.151	97.016，129.009，276.062	栀子	倍半萜类
6	0.99	降氧化北美黄莲次碱	$C_{10}H_9NO_3$	[M−H]$^-$	2 818 212	191.075	165.049，192.079，195.069	黄柏	生物碱类
7	1.00	11−十八碳烯酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	[M−H]$^-$	6 755	297.114	291.015，294.109，303.164	栀子	有机酸类
8	1.20	γ−崖椒碱	$C_{13}H_{11}NO_3$	[M+HCO_2]$^+$	12 081	185.982	170.956，187.959，191.075	黄柏	生物碱类
9	1.72	毛柳苷	$C_{14}H_{20}O_7$	[M+H]$^+$	87 589	300.227	97.016，129.009，142.018	黄芩	酚类
10	1.73	咖啡酸乙酯	$C_{11}H_{12}O_4$	[M+HCO_2]$^-$	2 988	207.955	162.906，171.024，191.075	黄柏	酚类
11	1.89	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	[M+H]$^-$	10 564	193.067	179.070，186.095，191.075	黄连 黄柏	酚类
12	2.15	β−谷甾醇（谷甾醇）	$C_{29}H_{50}O$	[M+H]$^+$	1 116 141	414.091	135.100，199.122，378.208	黄芩 黄连	四环三萜类
13	2.31	黄芩新素Ⅰ	$C_{17}H_{14}O_6$	[M+H]$^+$	142 125	314.247	129.009，142.018，492.294	黄芩	黄酮
14	2.36	栀子苷酸	$C_{16}H_{22}O_{10}$	[M−H]$^-$	71 933	373.151	116.938，145.946，296.910	栀子	环烯醚萜类
15	2.63	黄柏碱	$C_{20}H_{24}NO_4$	[M+H]$^+$	5 158 920	342.245	148.134，177.139，192.164	黄柏	生物碱类
16	3.05	千层纸素 A	$C_{16}H_{12}O_5$	[M+H]$^+$	2 914	283.159	282.157，342.234，504.253	黄芩	黄酮
17	3.30	槲皮素−3−O−β−D−吡喃葡萄糖苷	$C_{21}H_{20}O_{12}$	[M−H]$^-$	16 008	463.223	315.156，357.155，523.219	黄柏	黄酮类

续表1

序号	tR（min）	化合物	化学式	电离模式	信号强度	MS_1（m/z）	碎片离子	归属药材	分类
18	3.40	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M+H]^+$	169 890	356.255	129.009,372.254,504.292	栀子 黄连	苯丙素类
19	3.61	粘毛汉黄芩素Ⅲ	$C_{17}H_{14}O_8$	$[M+H]^+$	234 406	344.259	97.016,142.018,710.333	黄芩	黄酮
20	3.64	栀子苷	$C_{17}H_{24}O_{10}$	$[M+HCO_2]^-$	5 231 216	433.184	225.099,387.172,435.187	栀子	单萜类
21	3.78	豆甾醇	$C_{29}H_{48}O$	$[M+HCO_3]^-$	3 813 074	367.141	193.073,368.146,735.285	黄柏	甾体类
22	3.85	木兰花碱(木兰碱)	$C_{20}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	456 991	470.216	177.115,322.176,372.254	黄连	生物碱类
23	4.20	Anhydroberberillic acid	$C_{20}H_{17}NO_8$	$[M+HCO_2]^+$	105 594	354.238	72.987,97.016,368.221	黄柏	生物碱类
24	4.35	小檗碱	$C_{20}H_{17}NO_4$	$[M+H]^+$	233 952	336.197	97.016.177.121,220.120	黄连 黄柏	生物碱类
25	4.61	黄连碱	$C_{19}H_{13}NO_4$	$[M+H]^+$	1 589 114	320.165	191.137,231.368,307.159	黄连	生物碱类
26	4.76	Berbithine	$C_{19}H_{17}NO_5$	$[M+H]^+$	968 288	338.210	145.088,177.121,450.228	黄柏	生物碱类
27	5.01	氧化小檗碱	$C_{20}H_{17}NO_5$	$[M+H]^+$	649 114	350.215	219.170,320.165,322.176	黄柏	生物碱类
28	5.06	甲基黄连碱	$C_{20}H_{16}NO_4$	$[M+H]^+$	1 345 890	334.183	207.135,322.176,702.280	黄连	生物碱类
29	5.21	(+)-5,5′-二甲氧基落叶松脂素	$C_{22}H_{28}O_8$	$[M-H]^-$	5 480 240	442.197	116.947,235.951,823.361	黄柏	木脂素
30	5.28	巴马汀	$C_{21}H_{22}NO_4+$	$[M+H]^+$	7 621 614	352.236	191.137,231.368,307.159	黄连 黄柏	生物碱类
31	5.31	黄柏苷	$C_{26}H_{30}O_{11}$	$[M-H]^-$	18 332	519.239	100.942,145.946,235.951	黄柏	黄酮类
32	5.38	Gardenin A	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	6298	417.203	347.218,359.189,384.023	栀子	黄酮
33	5.46	菜油甾醇	$C_{28}H_{48}O$	$[M-H]^-$	22 542	399.170	352.891,367.141,368.146	黄芩	甾体
34	6.10	防己碱	$C_{19}H_{23}NO_4$	$[M+HCO_2]^+$	463 732	663.388	97.016,178.151,36.197	黄连 黄柏	生物碱类
35	6.90	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M-H]^-$	384 022	267.060	175.042,269.078,445.123	黄柏	苷类
36	7.01	黄芩苷	$C_{21}H_{18}O_{11}$	$[M+H]^+$	549 810	447.166	241.115,269.113,287.125	黄芩	黄酮类
37	7.01	双氢山柰酚	$C_{15}H_{12}O_6$	$[M+H]^+$	127 892	287.125	278.148,288.133,320.165	黄柏	黄酮类
38	7.09	61 014-三甲基-2-十五酮	$C_{18}H_{36}O$	$[M-H]^-$	2 971	267.053	116.943,235.951,841.513	栀子	倍半萜
39	7.40	白杨黄素	$C_{15}H_{10}O_4$	$[M+H]^+$	167 503 754	254.504	253.265,326.706,237.055	黄芩	黄酮
40	7.83	汉黄芩苷	$C_{22}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	275 924	459.142	116.943,145.946,235.951	黄芩	黄酮类
41	9.85	汉黄芩素	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	354	269.931	264.873,265.896,267.918	黄芩	黄酮
42	9.86	藏红花酸	$C_{20}H_{24}O_4$	$[M-H]-$	34 226	329.268	99.935,243.923,477.235	栀子	二萜及二倍半萜类
43	10.84	黄柏内酯	$C_{26}H_{30}O_8$	$[M-H]^-$	1 826	469.223	99.935,145.936,243.923	黄柏	二萜及二倍半萜
44	11.24	粘毛汉黄芩素Ⅰ	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M+H]^+$	24 605	302.379	288.353,336.189,350.329	黄芩	黄酮类
45	11.41	汉汉黄芩素	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	28 166	283.095	116.943,311.256,467.219	黄芩	黄酮
46	11.47	Rugosinone	$C_{19}H_{15}NO_6$	$[M+H]^+$	682 574	352.187	114.019,294.145,469.260	黄柏	生物碱类
47	11.48	黄芩新素Ⅱ	$C_{19}H_{18}O_8$	$[M-H]^-$	31 160	373.134	207.950,235.951,283.050	黄芩	黄酮

2.2 HLJDD 治疗 GA 的关键成分和靶点分析

通过相关数据库结合质谱分析结果，最终筛选出 54 个活性成分，主要活性成分前 10 见表 2，得到 250 个 HLJDD 成分相关靶点。此外，得到 484 个 GA 相关潜在靶点。通过韦恩图取交集，最终获得共同靶点 37 个。

表 2 主要活性成分的化学信息

MOL ID	化合物	OB%	DL	度值	归属药材
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28	155	黄连、黄柏
MOL000359	β-谷甾醇	36.91	0.87	64	黄芩、黄连
MOL001458	黄连碱	30.67	0.86	39	黄连
MOL002714	汉黄芩素	33.52	0.21	38	黄芩
MOL000785	巴马汀	64.60	0.65	37	黄连、黄柏
MOL004557	栀子苷	53.83	0.44	33	栀子
MOL002935	黄芩苷	29.53	0.77	32	黄芩
MOL002901	黄柏碱	43.83	0.58	32	黄柏
MOL001454	小檗碱	36.86	0.78	31	黄连、黄柏
MOL001668	栀子苷酸	59.26	0.41	29	栀子

2.3 PPI 网络

从 String 数据库导出生成的原始 PPI 网络图（图 2），下载 TSV 文件。将该文件导入 Cytoscape 3.10.1 软件构建 PPI 网络图（图 3），节点的颜色深浅代表度值的大小，度值越大，表示该节点与其他蛋白质的相互作用越强。数据结果显示，该网络包含 37 个节点和 686 条边，通过度中心性、介数中心性、接近中心性指标筛选，得出前 10 个核心蛋白（表 3）。

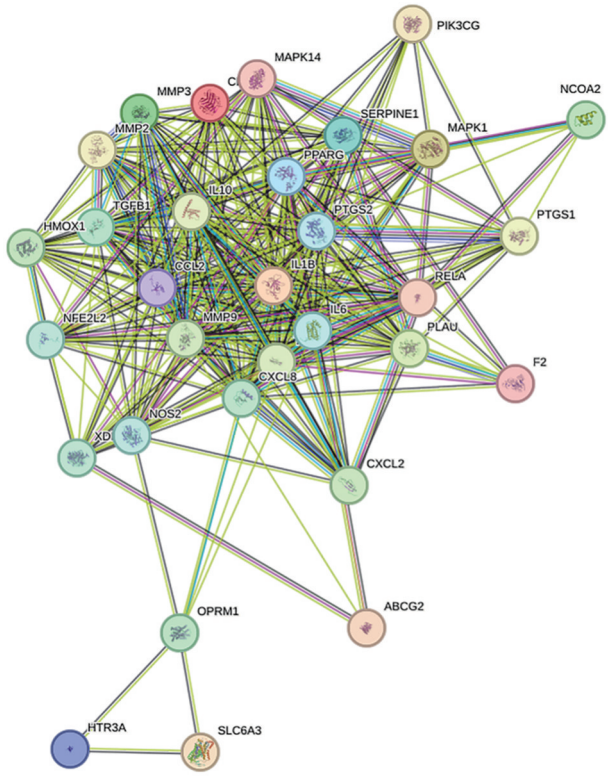


图 2 交集靶点原始 PPI 网络

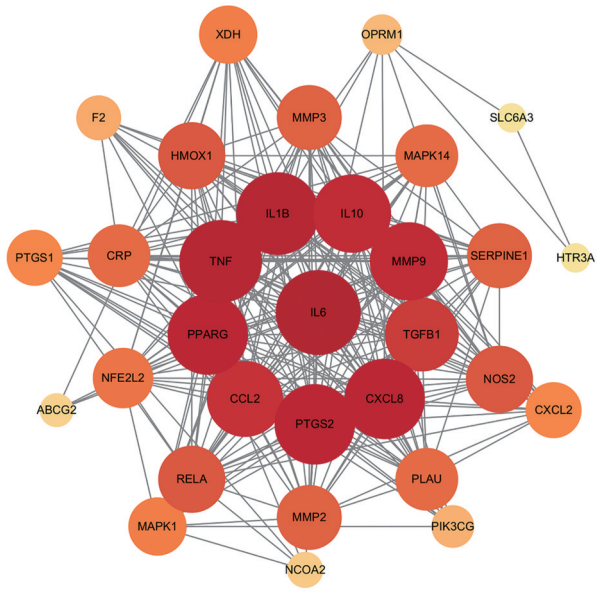


图 3 交集靶点 PPI 网络

表 3 10 个核心靶点具体信息

序号	靶点	度中心性	介数中心性	接近中心性
1	IL6	32	78.975 139	0.025 000
2	PPARG	31	102.150 502	0.023 810
3	IL1B	31	55.975 139	0.024 390
4	TNF	31	55.975 139	0.024 390
5	MMP9	29	35.033 149	0.022 727
6	PTGS2	29	25.948 301	0.022 727
7	CXCL8	28	37.049 741	0.022 727
8	IL10	28	23.737 192	0.021 739
9	TGFB1	27	32.952 897	0.021 739
10	RELA	23	34.737 941	0.020 000

2.4 富集分析结果

GO 富集得到 35 个 GO 条目（图 4），其中生物学过程（bio-progress，BP）条目 20 个，包括炎症反应、基因表达的正调控、生物刺激反应、细胞凋亡过程的正调控、细胞老化、IL-8、IL-6 的正调控、活性氧代谢的正调控等方面；7 个细胞组分（cell components，CC）条目，包括膜筏、细胞外基质、质膜、内质网腔、神经元投射等；分子功能（molicular function，MF）条目 8 个，包括丝氨酸型内肽酶活性、细胞因子活性、酶结合、相同蛋白质结合、血红素结合、生长因子活性、趋化因子活性和前列腺素内过氧化物合成酶活性。京都基因和基因组数据库（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）富集得到 16 条通路，主要包括 NOD 样受体通路、TOLL 样受体通路、晚期糖基化终末产物（advanced glycation end product，AGE）-AGE 受体（RAGE）信号通路、白细胞介素-1（interleukin-1，IL-1）信号通路、TNF 信号通路及 NF-κB 信号通路等，取前 15 条信号通路进行可视化分析（图 5）。

2.5 “药物-活性成分-疾病-靶基因-通路”网络图

将 54 个药物活性成分、37 个交集靶基因、前 15 条信号通路导入 Cytoscape 3.10.1 软件，构建“药物-活性成分-疾病靶基因-通路”网络，进行可视化分析，见图 6。分析网络图，

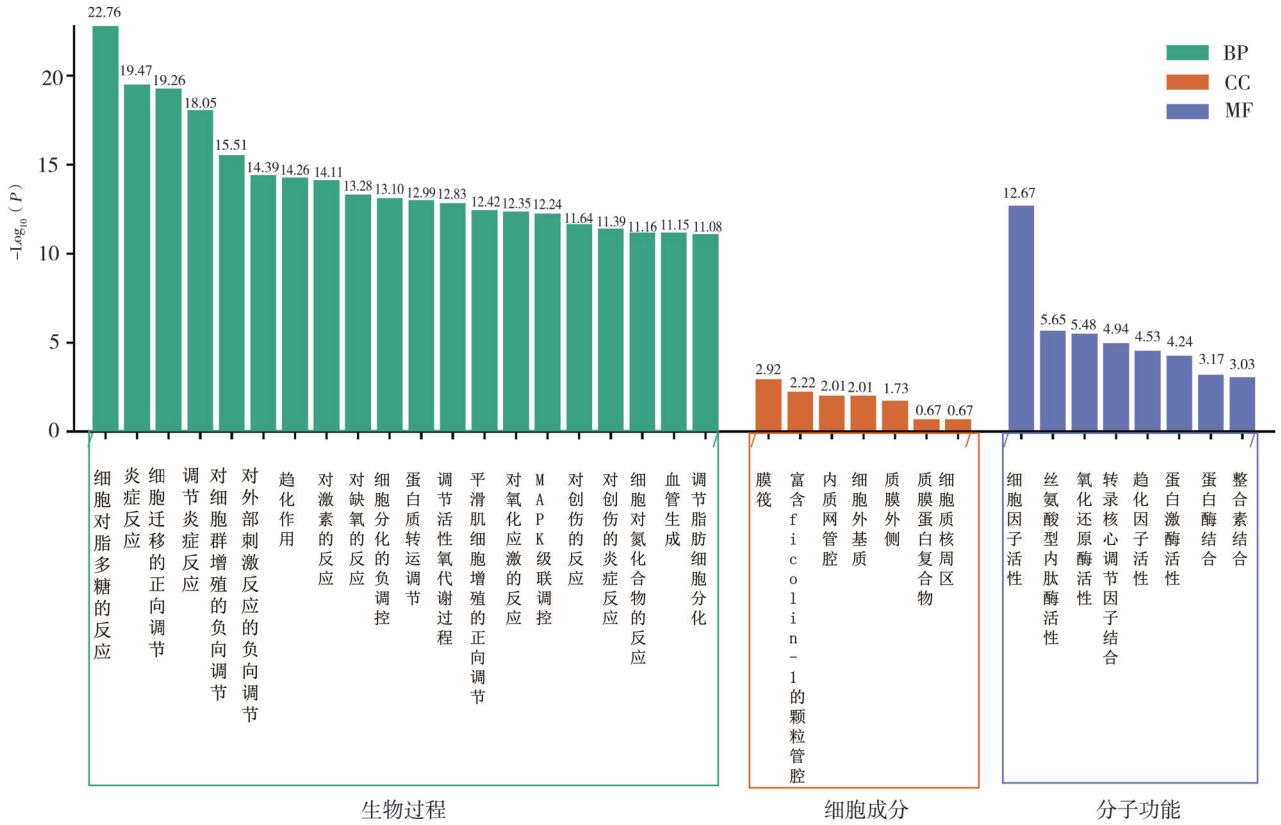


图4　GO 富集分析结果

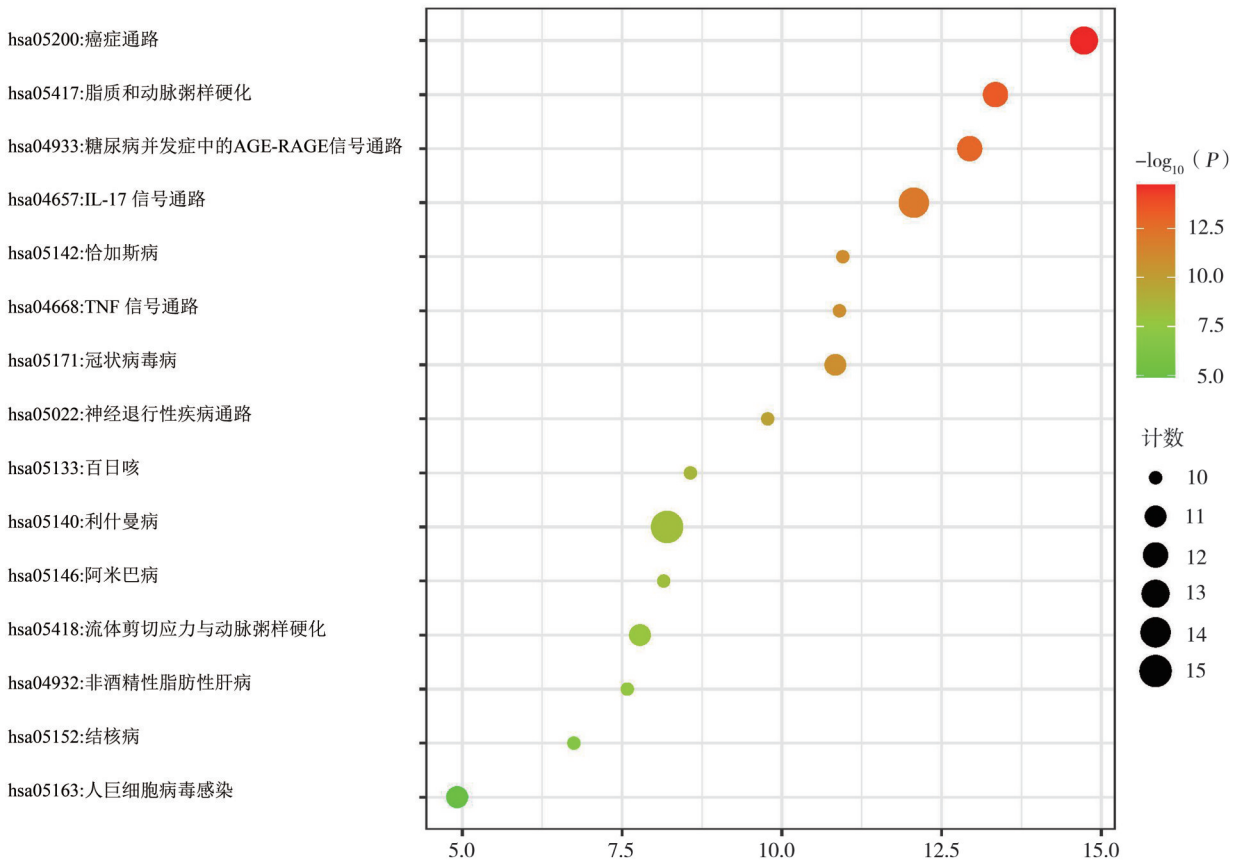
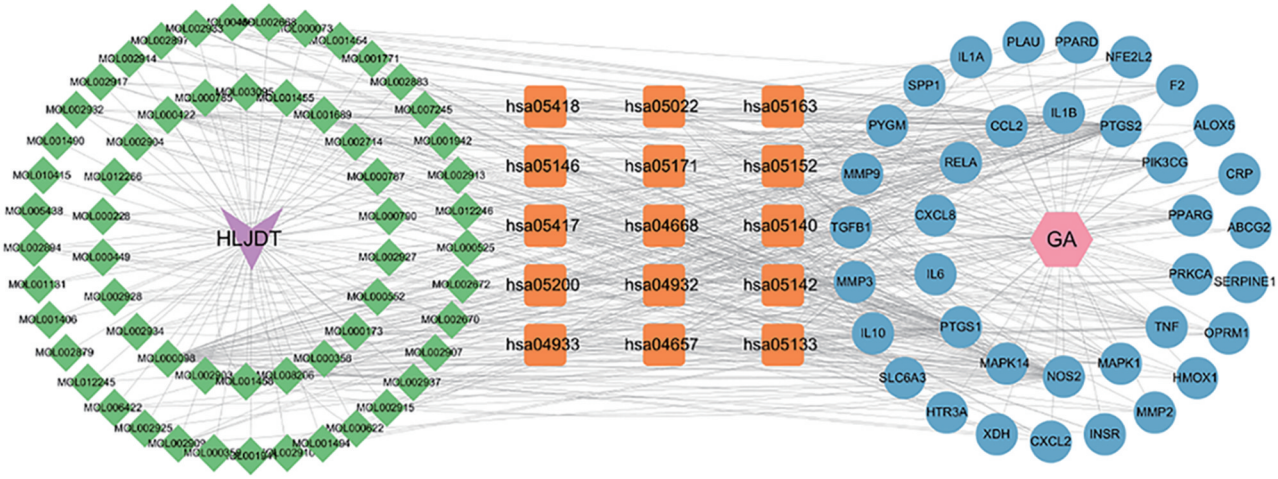


图 5　KEGG 通路富集分析结果

共有328个节点，1 331条边。

2.6 分子对接验证结果

将前10的核心靶点（IL6、PPARG、IL1B、TNF、MMP9、PTGS2、CXCL8、IL10、TGFB1、RELA）与前10的活性成分（槲皮素、β-谷甾醇、黄连碱、汉汉黄芩素、巴马汀、栀子苷、黄芩苷、黄柏碱、小檗碱、栀子苷酸）进行分子对接，得出的分子对接结合能结果的热图（图7）。结果显示HLJDD治疗GA的关键活性成分和核心靶点结合能均<-5.0 kCal/moL，对接情况良好。利用PyMol软件可视化结合能相对较低的成分与靶点的组合，见图8。



注：V形，药物；菱形，活性成分；六边形，疾病；圆圈，靶基因；圆矩形，通路

图6 “药物-活性成分-疾病-靶基因-通路”网络图

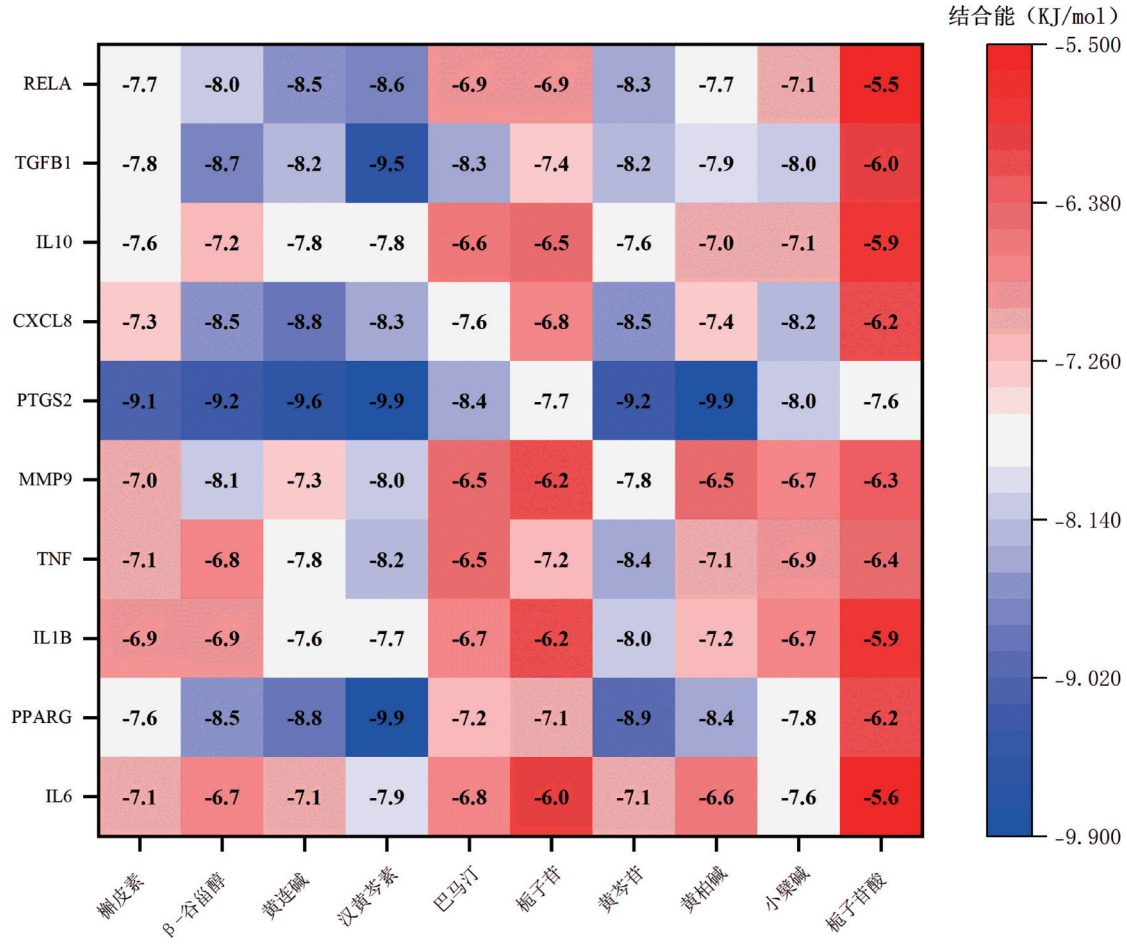


图7 分子对接结合能

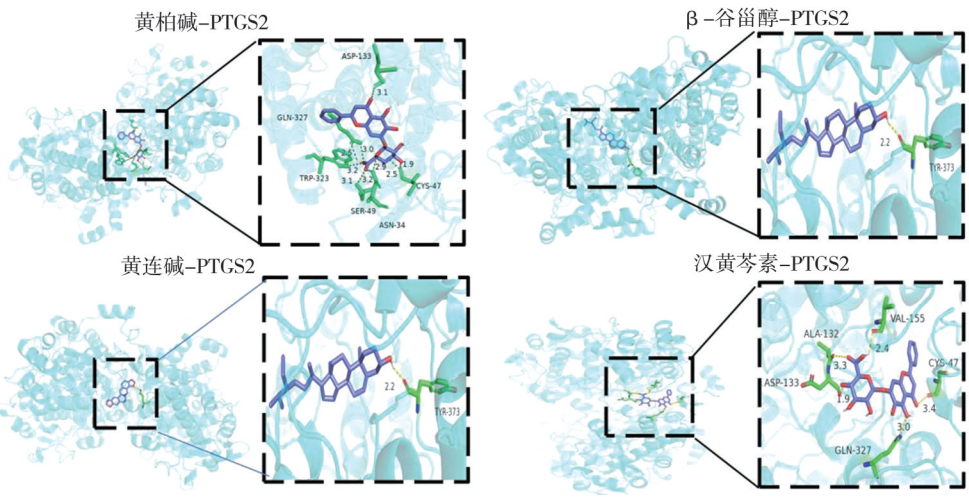


图8　分子对接结合能可视化

3　讨　论

HLJDD作为中医经典方剂，在临床实践中一直发挥重要作用，具有明显的泻火解毒效果，用于三焦火毒证。随着现代医学研究的深入，HLJDD在临床应用中的适应证范围得到了进一步拓展，如脑缺血、肿瘤等[11]。HLJDD包含黄连、黄芩、黄柏和栀子多味药材，其化学成分复杂，包含生物碱、黄酮类、酚类等多种活性成分，然而传统的HPLC或低分辨质谱方法，分析效率和分辨率都较低，不能满足化学物质基础及作用机制研究的精确需求[12-13]。而UPLC-Q-TOF-MS有高分辨率、高灵敏度和强大结构解析能力的优点，已成为复杂体系中化合物表征、定性和定量分析的重要工具，并成功用于药物分析领域。本实验利用UPLC-Q-TOF-MS对HLJDD的化学成分进行分析，通过对照品、保留时间、碎片信息、文献分析多种方法综合识别了HLJDD水提物的化学成分，结果共鉴定出63个色谱峰，47种化合物。其中包括14种酮类化合物，13种生物碱类化合物，其他化合物20种。并在结果中选出与HLJDD治疗GA相关的主要活性成分为槲皮素、β-谷甾醇、黄连碱、汉黄芩素、巴马汀、栀子苷、黄芩苷、黄柏碱、小檗碱、栀子苷酸。对筛选出的活性成分进行相关的文献研究，发现上述成分可以通过多通路来缓解GA。有文献报道表明槲皮素可以通过抑制NLRP3炎症小体的激活来减轻炎症反应，从而能显著降低尿酸水平，以缓解GA[14]。黄连碱缓解GA时，发挥抗炎作用的机制与TLR4炎症信号转导通路和NF-κB炎症信号通路有关[15]。巴马汀通过调节NF-κB/NLRP3和Nrf2通路预防MU诱发的GA[16]。黄芩苷可通过下调mTEN/PI3K/AKT/mTOR信号通路的激活，来缓解GA[17]。其他成分缓解GA的作用机制尚未查到相关文献报道，需要进一步研究。

本研究网络药理学部分筛选出37个交集靶点，其中度值前10的依次为IL6、PPARG、IL1B、TNF、MMP9、PTGS2、CXCL8、IL10、TGFB1、RELA，这些可能是HLJDD治疗GA的关键靶点。IL6、IL1B、TNF、CXCL8、MMP9、PTGS2、RELA为常见的促炎细胞因子，促进炎症因子分泌、中性粒细胞聚集以及组织破坏。HLJDD在GA急性发作时通过下调这些蛋白的表达，来对GA局部组织发挥抗炎作用[18]。PPARG、IL10、TGFB1为抗炎与修复靶点，参与炎症后期的调控和平衡，减轻炎症反应并促进组织修复，可能作为GA潜在的治疗靶点[19]。富集结果发现HLJDD对GA发挥保护作用涉及炎症反应、细胞迁移的正调控、细胞分化的负调控、调节活性氧代谢过程等生物过程，相关通路为IL-17、TNF等炎症信号通路。已有研究认为通过抑制IL-17通路相关蛋白的表达，可抑制炎症级联反应的扩大，缓解GA[20]。TNF作为经典抗炎通路，其上下游通路如TLRs、NF-κB信号转导通路都是抑制GA相关蛋白表达的常见通路[21]。此外，研究还发现每个化合物、通路对应的靶标蛋白有所重合，这说明HLJDD通过多成分、多靶点、多通路协同途径对GA的炎症反应进行调控从而发挥治疗作用。分子对接进一步验证了网络药理学分析的结果。关键成分都与核心靶基因的对接得分较高，展现出较强的靶点结合能力，这表明具有明显的生物学活性，其中PTGS2与多个关键成分都结合良好，可能是HLJDD治疗GA的主要潜在靶点。

综上所述，本研究鉴定出HLJDD的有效成分，分析HLJDD质谱中各类化合物的裂解规律。此外，通过网络药理学筛选HLJDD治疗GA的核心成分、

核心靶点和相关通路，以预测HLJDD治疗GA的可能作用机制。最后，通过分子对接验证了核心成分和核心靶点之间的结合能力良好，为HLJDD的质量控制，HLJDD治疗GA的功效及作用机制验证提供了理论基础和科学依据。

参 考 文 献

[1] Dalbeth N, Gosling AL, Gaffo A, et al. Gout[J]. Lancet, 2021, 397(10287): 1843-1855.

[2] 徐 东，朱小霞，曾学军，等. 痛风诊疗规范 [J]. 中华内科杂志，2020，59(6)：421-426.
Xu D, Zhu XX, Zeng XJ, et al. Gout diagnosis and treatment standard [J]. Chin J Intern Med, 2020, 59(6): 421-426.

[3] Cheng JJ, Ma XD, Ai GX, et al. Palmatine protects against MSU-induced gouty arthritis *via* regulating the NF-κB/NLRP3 and Nrf2 pathways[J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 2119-2132.

[4] Pan Z, Huang MK, Fang M, et al. Socioeconomic differences in hyperuricemia and gout: a systematic review and meta-analysis[J]. Endocrine, 2020, 69(2): 286-293.

[5] Drug and Therapeutics Bulletin. Latest guidance on the management of gout[J]. BMJ, 2018, 362: k2893.

[6] 刘 维. 痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南[J]. 中医杂志，2023，64(1)：98-106.
Liu W. Guideline for diagnosis and treatment of gout and hyperuricemia with integrated traditional Chinese and Western medicine[J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(1): 98-106.

[7] 赵 莹，黄晓巍，唐秋竹，等. 黄连解毒汤研究进展[J]. 人参研究，2022，34(4)：40-44.
Zhao Y, Huang XW, Tang QZ, et al. Research progress of Huanglian Jiedu decoction[J]. Ginseng Res, 2022, 34(4): 40-44.

[8] 刘建鑫，揭珊珊，薛 欣，等. 黄连解毒汤“异病同治”类风湿关节炎和急性痛风性关节炎的机制探讨[J]. 中国中医基础医学杂志，2023，29(5)：742-746.
Liu JX, Jie SS, Xue X, et al. Discussion on mechanism of “treating different diseases in same way” of Huanglian Jiedu decoction on rheumatoid arthritis and acute gouty arthritis[J]. J Basic Chin Med, 2023, 29(5): 742-746.

[9] 侯玉洁，张新军，苏 酩，等. UPLC-MS/MS法同时测定达原饮中28种成分[J]. 中成药，2024，46(11)：3545-3552.
Hou YJ, Zhang XJ, Su M, et al. Simultaneou determination of twenty-eight constituents in Dayuan drink by UPLC-MS/MS[J]. Chin Tradit Pat Med, 2024, 46(11): 3545-3552.

[10] 冯 昕，赵文军，侯 婷，等. UPLC-MS/MS测定二妙散提取物中14种成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志，2017，23(21)：79-85.
Feng X, Zhao WJ, Hou T, et al. Simultaneous determination of 14 compounds in ermiaosan extracts by UPLC-MS/MS[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2017, 23(21): 79-85.

[11] 冯宇博，陈 好，张相安. 黄连解毒汤现代临床应用和作用机制研究进展[J/OL]. 辽宁中医药大学学报. https://link.cnki.net/urlid/21.1543.R.20241119.1406.010.
Feng YB, Chen H, Zhang XA, Research progress of modern clinical application and mechanisms of action of Huang Lian Jie Du Tang[J/OL]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med. https://link.cnki.net/urlid/21.1543.R.20241119.1406.010.

[12] 杨丽宏. 黄连解毒汤中13种活性成分的HPLC检测及其有效部位筛选与物质组方安全性评价[D]. 兰州：甘肃农业大学，2020.
Yang LH. Determination of 13 active components in Huanglian Jiedu decoction by HPLC, screening of effective fractions and safety evaluation of substance composition[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2020.

[13] 黄涛阳，王 晖，翁燕君，等. 电喷雾电离-串联质谱快速分析黄连解毒汤的化学成分[J]. 中药材，2017，40(1)：119-121.
Huang TY, Wang H, Weng YJ, et al. Rapid analysis of the chemical components in Huanglian-Jiedu decoction by electrospray ionization mass spectrometry[J]. J Chin Med Mater, 2017, 40(1): 119-121.

[14] 唐 芳，何 姗，欧 琴. 槲皮素防治高尿酸血症的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床，2024，39(9):2453-2456.
Tang F, He S, Ou Q. Research progress on pharmacological effects of quercetin in preventing and treating hyperuricemia [J]. Drugs & Clinic, 2024, 39(9):2453-2456.

[15] 潘晓丽，向 晖，谢运飞，等. 黄连碱基于NF-κB信号通道的体外抗炎实验研究[J]. 中国抗生素杂志，2013，38(12)：951-954，959.
Pan XL, Xiang H, Xie YF, et al. The anti-inflammatory mechanism of coptisine basing on the signal path of NF-κB *in vitro*[J]. Chin J Antibiot, 2013, 38(12): 951-954, 959.

[16] 吴嘉思. 黄连碱体外抑制caspase-1剪切活性及其基于TLR-4炎症信号转导通路抗炎机制研究[D]. 成都：成都中医药大学，2017.
Wu JS. Inhibitory effect of coptisine on caspase-1 shear activity in vitro and its anti-inflammatory mechanism based on TLR-4 inflammatory signal transduction pathway[D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2017.

[17] 张先恒，刘 健，孙艳秋，等. 黄芩苷通过miR-23a-3p/PTEN/PI3K/AKT/mTOR抑制痛风性关节炎成纤维样滑膜细胞炎症反应机制探究 [J]. 山西中医药大学学报，2023，24(10)：1151-1160.
Zhang XH, Liu J, Sun YQ, et al. Mechanism exploration of baicalin's inhibition of inflammation in fibroblast-like synovial cells of gouty arthritis by miR-23a-3p/PTEN/PI3K/AKT/mTOR[J]. J Shanxi Univ Tradit Chin Med, 2023, 24(10): 1151-1160.

[18] 尤 卓. 蠲痹历节清方对痛风性关节炎大鼠关节滑膜中TNF-α、IL-1β、IL-6蛋白表达的影响[D]. 长沙：湖南中医药大学，2017.
You Z. Effect of Juanbi Lijie Qingfang on the expression of TNF-α, IL-1β and IL-6 protein in synovium of rats with gouty arthritis[D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2017.

[19] 李宇琴，张 惠，王 丹，等. PPAR信号通路相关基因在急性痛风性关节炎中的作用探讨[J]. 中国免疫学杂志，2025，41(1)：163-168.
Li YQ, Zhang H, Wang D, et al. The Role of PPAR signaling pathway related genes in acute gouty arthritis [J]. Chin J Immunol, 2025, 41(1): 163-168.

[20] 李 洪. 消痛汤调控IL-17信号通路治疗急性痛风性关节炎的作用机制研究[D]. 南昌：江西中医药大学，2023.
Li H. Study on the mechanism of action of decoction in regulating IL-17 signaling in the treatment of acute gouty arthritis[D]. Nanchang: Jiangxi University of Chinese Medicine, 2023.

[21] 白冬雪，李 靖，马利锋. TLR2/TLR4-NF-κB信号通路在痛风中的研究进展[J]. 中国临床新医学，2023，16(10)：1096-1099.
Bai DX, Li J, Ma LF. Research progress of TLR2/TLR4-NF-κB signaling pathway in gout[J]. Chin Clin N Med, 2023, 16(10): 1096-1099.

（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：
王文婷，冯锦辉，杨 珂，等. 基于UPLC-Q-TOF/MS、网络药理学和分子对接模拟探讨黄连解毒汤治疗痛风性关节炎的药效物质及作用机制[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(7)：860-869.