

基于UPLC-Q/TOF-MS/MS和生物信息学探讨铁棍山药皮中化学成分的药用和营养价值

安莉, 汪红, 马婧玮, 袁永亮, 翟南南, 郑鹭飞, 吴绪金

Medicinal and Nutritional Value of the Chemical Compositions of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun Peel Based on UPLC-Q/TOF-MS/MS and Bioinformatics

AN Li, WANG Hong, MA Jingwei, YUAN Yongliang, ZHAI Nannan, ZHENG Lufei, and WU Xujin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021100320>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于UPLC-Q-TOF-MS技术分析黄刺玫果的化学成分

Characterization of Chemical Constituents from Fruits of *Rosa xanthina* by UPLC-Q-TOF-MS

食品工业科技. 2021, 42(23): 251-258 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021020115>

基于生物信息学技术的生物活性肽研究进展

Research Development of the Bioactive Peptides Based on Bioinformatics

食品工业科技. 2019, 40(12): 335-340 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.12.054>

嗜酸乳杆菌zrx02的plnD基因克隆及生物信息学分析

PlnD gene clone of *Lactobacillus acidophilus* zrx02 and bioinformatic analysis

食品工业科技. 2017(24): 137-141 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.24.027>

软水蓼不同目数超微粉体溶出物的化学成分分析

Analysis of Chemical Constituents of the Extractives from *Polygonum hydropiper* L. with Different Number of Ultra-fine Powder

食品工业科技. 2020, 41(16): 220-226 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.035>

块菌属真菌的化学成分及生物活性研究进展

Research Advances on Chemical Constituents and Bioactivities of Truffle fungus

食品工业科技. 2018, 39(17): 315-318 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.17.053>

亲水色谱蒸发光散射检测器电喷雾四级杆飞行时间串联质谱法测定低聚麦芽糖化学成分

Determination of Multiple Components in Maltooligosaccharide by HILIC-ELSD-ESI-Q-TOF/MS

食品工业科技. 2021, 42(6): 265-270,309 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060030>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

安莉,汪红,马婧玮,等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS/MS 和生物信息学探讨铁棍山药皮中化学成分的药用和营养价值 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(2): 1-9. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100320

AN Li, WANG Hong, MA Jingwei, et al. Medicinal and Nutritional Value of the Chemical Compositions of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun Peel Based on UPLC-Q/TOF-MS/MS and Bioinformatics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(2): 1-9. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100320

· 未来食品 ·

基于 UPLC-Q/TOF-MS/MS 和生物信息学探讨铁棍山药皮中化学成分的药用和营养价值

安莉¹,汪红¹,马婧玮¹,袁永亮²,翟南南³,郑鹭飞⁴,吴绪金^{1,*}

(1.河南省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,河南郑州 450002;

2.郑州大学第一附属医院药学部,河南郑州 450052;

3.SCIEX 中国,北京 100015;

4.中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,北京 100081)

摘要:目的: 系统分析并识别出铁棍山药皮中的化学成分, 探讨其药用和营养价值。方法: 采用超高效液相色谱-飞行时间串联质谱技术 (UPLC-Q/TOF-MS/MS) 对铁棍山药皮中的化学成分进行分析, 根据化合物一级、二级质谱信息, 与参考文献和数据库进行比对, 确认所含化合物。利用生物信息学方法, 对潜在活性成分进行靶点预测、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 发挥重要作用的靶点筛选以及其作用机制的探讨。结果: 从铁棍山药皮中共鉴别出 33 种化合物, 其中芹菜素、金合欢素、甘草素、山药素 I 等化合物为铁棍山药皮中潜在的发挥功效的重要化合物, 通路富集分析表明铁棍山药皮主要作用于细胞信号通路、癌症和代谢类等疾病相关通路。结论: 本研究基于 UPLC-Q/TOF-MS/MS 结合生物信息学方法, 为铁棍山药皮的成分识别、活性物质筛选、潜在药用和营养价值及进一步的开发利用提供了重要参考。

关键词:铁棍山药皮, 超高效液相色谱-飞行时间串联质谱, 化学成分, 生物信息学, 作用机制

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)02-0001-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100320



本文网刊:

Medicinal and Nutritional Value of the Chemical Compositions of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun Peel Based on UPLC-Q/TOF-MS/MS and Bioinformatics

AN Li¹, WANG Hong¹, MA Jingwei¹, YUAN Yongliang², ZHAI Nannan³, ZHENG Lufei⁴, WU Xujin^{1,*}

(1. Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;

2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China;

3. SCIEX China, Beijing 100015, China;

4. Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Objective: Systematic analysis and identification of chemical constituents of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel, and exploration of its medicinal and nutritional value. Methods: Ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-Q/TOF-MS/MS) was used to analyze the chemical composition of Tiegun peel, and the potential active components were predicted by bioinformatics methods. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis was used to explore the important target points and their mechanisms of action. Results: A total of 33 compounds were identified from Tiegun peel, among which芹菜素, 金合欢素, 甘草素, 山药素 I, etc. were identified as important compounds with potential efficacy. Pathway enrichment analysis showed that Tiegun peel mainly acts on cell signaling pathways, cancer, and metabolism-related pathways. Conclusion: This study based on UPLC-Q/TOF-MS/MS combined with bioinformatics methods, provided an important reference for the identification of chemical components, active substance selection, potential medicinal and nutritional value, and further development and utilization of Tiegun peel.

收稿日期: 2021-11-01

基金项目: 河南省自然科学基金项目 (202300410528); 河南省高等学校重点科研计划项目 (20B360018); 河南省农业科学院科技创新创意项目 (2020CX21); 河南省农业科学院科技创新团队 (2022TD20); 河南省农业科学院自主创新项目 (2022ZC55)。

作者简介: 安莉 (1985-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 农产品质量安全与营养品质, E-mail: cpulian@126.com。

* 通信作者: 吴绪金 (1981-), 男, 硕士, 研究员, 研究方向: 农产品质量安全与营养品质, E-mail: xujinwu2005@126.com。

graphy coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q/TOF-MS/MS) was performed to analyze the chemical compositions of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel. The compounds were identified based on their primary and secondary mass spectrometry information and compared with the related references and databases. Further, bioinformatics was applied to predict the targets of potential active ingredients, enrich Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways, screen out the important targets, and explore its potential mechanism. Results: 33 compounds were identified such as apigenin, acacetin, liquiritigenin, batatasin I, which were considered to be the potentially vital compounds. Pathway enrichment analysis indicated that *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel exerted medicinal effects by regulating cell signaling pathways, cancer, metabolic and other disease-related pathways. Conclusion: In this study, UPLC-Q/TOF-MS/MS combined with bioinformatics were used, which would provide an important reference for the identification of ingredients, selection of active compounds, discovery of potential medicinal nutritional value, as well as further development and utilization of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel.

Key words: *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel; UPLC-Q/TOF-MS/MS; chemical composition; bioinformatics; mechanism

铁棍山药(*Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun)为薯蓣科植物薯蓣的块茎,分布于河南省武陟县、温县等地的山药品种,其性平味甘,健脾止泻、补肺益肾,具有“补虚羸、除寒邪热、补中益气力、长肌肉、久服耳目聪明、轻身不饥、延年”等功效,属山药中的极品^[1]。铁棍山药富含多糖、蛋白、脂类、黄酮、多酚等多种活性成分,具有调节脾胃、增强免疫、抗氧化、抗肿瘤、抗衰老等作用,兼有食用价值和药用价值^[2-3]。

除了铁棍山药的药用饮片外,目前市场上也不断涌现出以铁棍山药为原料制成的零食或保健品,如铁棍山药薯片、铁棍山药饼干、铁棍山药粉等。然而,无论是在直接食用或加工铁棍山药过程中,铁棍山药皮一般都直接削除丢弃,造成了极大的资源浪费。目前,关于铁棍山药皮的报道尚少,仅见对其所含部分成分的研究,如多糖^[4]、黄酮类化合物的提取^[5]以及多酚化合物的体外抗氧化作用^[6]。这些研究仅关注单类化合物,对其所含化学成分的认识不够全面,无法反映其整体的化学成分特征。此外,铁棍山药皮药用和营养价值尚不明确,这也严重阻碍了其再利用。因此,全面、系统识别铁棍山药皮所含的化学成分,并挖掘其相应的分子机制,对于铁棍山药皮活性功能物质的开发应用具有重要的指导意义。

超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(UPLC-Q/TOF-MS/MS)具有速度快、灵敏度高、分辨率高等特点^[7],根据化合物质谱信息,结合相关数据库,能够对中草药、复方制剂、天然产物等中的化学成分进行快速分离和鉴定。生物信息学是综合运用系统生物学、计算机科学、信息技术和数学理论等技术方法的交叉学科^[8],能够从中草药、复方制剂、天然产物机制研究、复杂疾病治疗等生命科学的海量数据中,发现、挖掘、阐述其中所包含生物学意义^[9]。

联合 UPLC-Q/TOF-MS/MS 和生物信息学的方法越来越多地应用于多成分多靶点多通路的机制研究^[10-11]。本研究拟采用 UPLC-Q/TOF-MS/MS 技术结合质谱数据库对铁棍山药皮中的化学成分进行定

性识别,并在此基础上,利用生物信息学对其潜在的靶点进行预测和功能分析,探讨铁棍山药皮化合物成分的药用和营养价值,为铁棍山药皮的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

山药皮 河南省温县铁棍山药的山药皮;甲醇、乙腈 色谱级,美国 EMD Millipore 公司;甲酸 色谱级,美国 Sigma 公司。

Exion 20AD 型超高效液相色谱仪、X500R Q-TOF 型高分辨质谱仪(SCIEX OS 软件) 美国 SCIEX 公司;ME204E 电子分析天平 瑞士梅特勒-托利多公司;Milli-Q Synthesis 超纯水系统 美国 Millipore 公司;DW-HL398S 超低温冷藏冰箱 中科美菱低温科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 将铁棍山药流水清洗干净,晾干,削皮后即刻将皮置于-80℃环境中过夜冷冻,取出后迅速于冷冻干燥机内-90℃真空低温冷冻干燥,待完全干燥后制成铁棍山药皮冻干粉,过8号筛。称取1.0g,加入5mL甲醇:水=1:1(v/v)超声提取30min,在10000r/min的条件下离心10min,吸取上清液进样^[12]。

1.2.2 色谱条件 Waters HSS T3 色谱柱(100×3.0mm, 1.8μm);流动相:0.05%甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱程序为:0~1.0min,3%B;1.0~10min,3%~30%B;10~20min,30%~99%B;20~26min,99%B;26~26.1min,99%~3%B;26.1~30min,3%B。进样盘温度:15℃;流速:0.40mL/min;柱温:40℃。

1.2.3 质谱条件 质谱采用电喷雾离子源 ESI 检测,在正、负离子模式下进行样品采集,开启动态背景以扣除干扰。相关参数设置为:气帘气流(CUR)25psi;雾化气流速(GS1)50psi;辅助气流速(GS2)50psi;离子源电压(ISVF)5500/-4500V;离子源温度(TEM)500℃;捕获电压(DP)80V;碰撞电压(CE)35±15V。一级质谱 m/z 扫描范围设为 50~1300 Da,扫

描累计时间 0.25 s, 选择响应最高的碎片进行二级扫描, m/z 扫描范围设为 50~1000 Da, 扫描累计时间 0.1 s。

1.2.4 化合物鉴定 采用 SCIEX OS 软件进行质谱原始数据的采集和处理, 通过质量准确度、同位素丰度、二级谱库确认及保留时间等, 根据 SCIEX 自建天然产物数据库 SCIEX TCM Library 自动进行峰提取和筛查, 进一步根据获得的质谱信息结合参考文献、有机小分子生物活性数据库(PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)^[13]、人类代谢组数据库(HMDB: <https://hmdb.ca/>)^[14]和植物活性分子数据库(Collective Molecular Activities of Useful Plants: CMAUP)^[15]进行铁棍山药皮中化合物的鉴定识别。

1.2.5 活性成分筛选 通过中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)将所鉴别的化合物成分进行口服生物利用度(oral bioavailability, OB)和药物相似度(drug-likeness, DL)的查找。根据 TCMSP 数据库分析平台筛选标准^[16]OB $\geq 20\%$ 和 DL ≥ 0.1 筛选出潜在活性成分。

1.2.6 铁棍山药皮-化合物-靶点网络构建 将筛选出的活性成分利用 PubChem 数据库找到相应的 SMILES 信息, 通过 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 设定物种“Homo sapiens”进行检索, 选择 Probability 值大于 0 的值, 获取其潜在的作用靶标^[17], 利用 Cytoscape 3.8.2 分析软件构建铁棍山药皮-化合物-靶点相互关系网络。

1.2.7 潜在作用靶点功能富集分析 将 1.2.6 项下获得的作用靶点, 通过 R 软件中的 ClusterProfiler 软件包进行相关靶点的 KEGG 通路分析^[18], 以 $P < 0.05$ 为筛选条件, 获得铁棍山药皮中目标化合物富集的相关通路, 进而分析其药理和营养作用机理。

2 结果与分析

2.1 基于 UPLC-Q/TOF-MS/MS 平台的铁棍山药皮中化学成分识别

采用上述色谱和质谱条件对铁棍山药皮提取物中的化学成分进行检测, 其正、负离子模式扫描下质谱基峰离子流图如图 1 所示。利用 SCIEX OS 软件拟合计算可能的分子式, 结合本地 SCIEX TCM Library

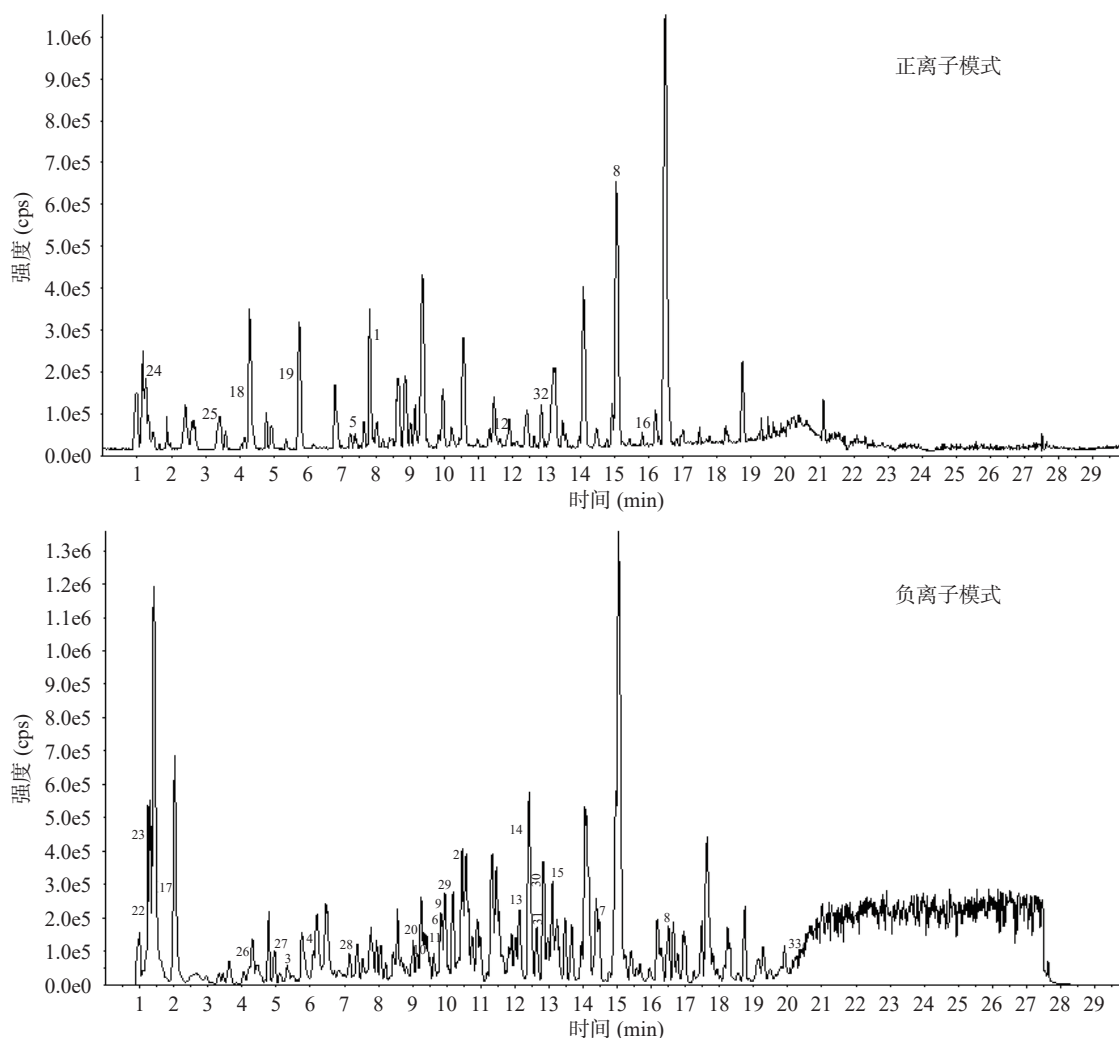


图 1 铁棍山药皮提取物在正离子模式和负离子模式下的基峰离子流图

Fig.1 Base peak intensity chromatograms of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel in positive and negative modes

数据库对铁棍山药皮质谱离子流图匹配出的化合物进行前期推测,再根据参考文献、CMAUP、PubChem、HMDB 等数据库提供的一级、二级离子信息等进行进一步确定,最终鉴别出 33 种化合物,其中酚酸类 9 种,黄酮类 7 种,氨基酸有机酸类 5 种,糖类 2 种及其他类 10 种,以上成分相关归属及鉴定信息见表 1。

2.2 活性成分筛选

将铁棍山药皮中鉴别所获得的化合物成分,根据 TCMS 数据库分析平台筛选标准 $OB \geq 20\%$ 和 $DL \geq 0.1$ 筛选出潜在活性成分 10 个,见表 2。

2.3 潜在作用靶点预测和网络构建

进一步通过 SwissTargetPrediction 数据库对获

得的 10 个化合物靶点进行预测,去掉重复基因名称,共获得 348 个潜在作用靶点。利用 Cytoscape 3.8.2 软件构建出铁棍山药皮-化合物-靶点网络,见图 2。

网络中连接度值表明此化合物或靶点的重要程度,化合物的连接度分析发现,10 个化合物中芹菜素、金合欢素、甘草素、山药素 I、原花青素 B1、腺苷、双去甲基姜黄素和丁香酸葡萄糖苷这 8 个化合物的连接度值均在 60 以上,其中芹菜素、金合欢素和甘草素的连接度值均大于 100(图 3A),上述化合物可能为铁棍山药皮中潜在发挥功效的重要化合物;碳酸酐酶 2(CA2)、丝/苏氨酸蛋白激酶 Pim-1

表 1 铁棍山药皮提取物中化学成分的鉴定

Table 1 Identification of chemical composition of *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel

分类	编号	中文名称	英文名称	分子式	相对分子质量	保留时间 (min)	MS	MS/MS	模式	偏差 (ppm)	参考文献
酚酸类	1	儿茶素	Catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.079	7.959	291.087	139.0294, 123.0358, 147.0340	P	0.3	[13-14, 19-21]
	2	表儿茶素	Epicatechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.079	10.446	289.0711	243.0695, 175.0788, 159.0472	N	0.1	[13-14, 19-21]
	3	葡萄糖基丁香酸	Glucosyringic Acid	C ₁₅ H ₂₀ O ₁₀	360.1056	5.383	359.0974	197.0474, 138.0349, 182.0246	N	0.1	[13-14,22]
	4	原花青素 B1	Procyanidin B1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578.1424	6.174	577.1345	407.0840, 289.0754, 125.0266	N	-1	[13-14,19]
	5	原花青素 B2	Procyanidin B2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578.1424	7.361	579.1506	127.0303, 287.0348, 409.0628, 427.0724	P	0.5	[13,19]
	6	丁香酸	Syringic acid	C ₉ H ₁₀ O ₅	198.0528	9.777	197.0448	182.0239, 167.0005, 123.0100	N	-0.5	[13-14, 22-23]
	7	山药素 III	Batatasin III	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	244.1099	14.516	243.102	228.0780, 183.0840	N	-2	[13-15, 20-21]
	8	山药素 I	Batatasin I	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	284.1049	16.531	283.0969	253.0540, 267.0703, 197.0627	N	-1	[13-15]
	9	阿魏酸	Ferulic acid	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.0579	9.896	193.0491	178.0302, 134.0393	N	-5	[13-14,24]
黄酮类	10	芦丁	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.1534	9.337	609.1449	301.0409, 300.0331, 189.0054	N	-1	[13-14,23]
	11	异槲皮素	Isoquercetin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.0955	9.684	463.0873	463.0958, 301.0393, 271.0283, 255.0328	N	-0.6	[13-14,21]
	12	芹菜素	Apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.0528	11.649	270.0528	228.0265, 243.0496, 187.0264	P	0.7	[13-15,21]
	13	异落叶松脂素	Isolariciresinol	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	360.1573	12.387	359.1482	313.1318, 165.0574	N	-0.3	[13-15]
	14	甘草素	Liquiritigenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256.0736	12.459	255.0654	240.0450, 183.0469, 211.0423, 241.0489	N	1	[13-14,21,25]
	15	金合欢素	Acacetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.0685	13.183	283.0604	183.0473, 211.0429, 240.0455	N	-0.7	[13,15]
氨基酸有机酸类	16	去二甲氧基姜黄素	Bisdemethoxycurcumin	C ₁₉ H ₁₆ O ₄	308.1049	15.747	309.1129	147.0338, 225.0705,	P	0.3	[13-14,26]
	17	柠檬酸	Citric Acid	C ₆ H ₈ O ₇	192.027	1.948	191.0188	111.0116, 129.0208	N	0.1	[13-14,22]
	18	L-苯丙氨酸	L-Phenylalanine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	165.079	4.273	166.0866	120.0721, 103.0470, 91.0484	P	0.6	[13-14,22]
	19	L-色氨酸	L-Tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.0899	5.742	205.0975	118.0570, 146.0497, 143.0629	P	-1	[13-15]
	20	N-乙酰基-L-苯丙氨酸	N-Acetyl-L-phenylalanine	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	207.0895	9.112	206.0815	164.0742, 147.0473, 91.0591, 206.0847	N	0.5	[13-14,22]
	21	L-亮氨酸	L-Leucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	131.0946	27.852	132.1016	72.9332, 55.9323, 90.8991	P	-2	[13-15]
糖类	22	果糖	D-Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.0634	1.169	179.0556	59.0200, 71.0180, 89.0268, 113.0268, 101.0279	N	0.6	[13-14,22]
	23	D-蔗糖	D-Sucrose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.1162	1.268	341.1081	179.0577, 119.0372, 89.0276	N	-0.6	[13-14,22]

续表 1

分类	编号	中文名称	英文名称	分子式	相对分子质量	保留时间 (min)	MS	MS/MS	模式	偏差 (ppm)	参考文献
其他类	24	尿囊素	Allantoin	C ₄ H ₆ N ₄ O ₃	158.044	1.227	159.0517	61.0374, 99.0127, 73.0356	P	1	[13-14,21-22]
	25	腺苷	Adenosine	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	267.0968	3.391	268.1048	136.0523, 119.0273	P	0.7	[13-14,21-22]
	26	1-没食子酸 酰葡萄糖	1-Galloylglucose	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	332.07435	4.287	331.0664	168.0083, 125.0265	N	-0.3	[13,27]
	27	D-泛酸	D-Pantothenic Acid	C ₉ H ₁₇ NO ₅	219.1107	4.968	218.1025	146.0838, 88.0435	N	0.1	[13-14,22]
	28	杜仲酸	Eucomic acid	C ₁₁ H ₁₂ O ₆	240.0634	7.164	239.0553	179.0369, 177.0580, 149.0630	N	0.4	[13,15]
	29	葛根内酯A	Kuzubutenolide A	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₀	460.1369	9.977	459.1294	233.0488, 339.0930, 205.0534	N	3	[13,27]
	30	汉诺醇	Hannokinol	C ₁₉ H ₂₄ O ₄	316.1675	12.599	315.1591	149.0629, 147.0479	N	2	[13,15]
	31	苦木内酯I	Nigakilactone I	C ₂₁ H ₂₈ O ₆	376.1886	12.813	375.1806	135.0475, 179.0737	N	-0.5	[13,15]
	32	迷迭香双醛	Rosmadial	C ₂₀ H ₂₄ O ₅	344.1624	12.898	345.1705	177.0788, 137.0505	P	0.6	[13-15]
	33	香草酸	Vanillic acid	C ₈ H ₈ O ₄	168.0423	20.371	167.0344	123.0104, 69.0001	N	3.6	[13-14,28]

注: P为正离子模式; N为负离子模式。

表 2 铁棍山药皮中通过 OB 和 DL 预测的 10 个活性成分

Table 2 Ten active ingredients predicted by OB and DL in *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegun peel

分子ID	中文名称	OB(%)	DL
MOL000004	原花青素B1	67.87	0.66
MOL000008	芹菜素	23.06	0.21
MOL000073	表儿茶素	48.96	0.24
MOL000096	儿茶素	49.68	0.24
MOL000940	去二甲氧基姜黄素	77.38	0.26
MOL001689	金合欢素	34.97	0.24
MOL001792	甘草素	32.76	0.18
MOL002323	腺苷	19.85	0.16
MOL005443	山药素I	23.7	0.27
MOL007925	葡萄糖基丁香酸	24.29	0.30

(PIMI)、二肽基肽酶 4(DPP4)、环加氧酶 1(PTGS1)、碳酸酐酶 9(CA9)、碳酸酐酶 1(CAI)、雌激素受体 α (ESR1)、环加氧酶 2(PTGS2)、糖原合成酶激酶 3 β (GSK3B)和蛋白质酪氨酸磷酸 1(PTPNI)为连接度排名前 10 的作用靶点(图 3B),其可能为铁棍山药皮作用的主要靶点。

2.4 潜在作用靶点 KEGG 功能富集分析

将获得的潜在作用靶基因通过 R 软件中的 ClusterProfiler 软件包进行 KEGG 功能富集分析,其中富集程度最高且排名前 10 条重要代谢通路分别为:PI3K-Akt 信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)、脂质和动脉粥样硬化通路(Lipid and atherosclerosis)、癌症蛋白多糖信号通路(Proteoglycans in cancer)、HIF-1 信号通路(HIF-1 signaling pathway)、前列腺癌(Prostate cancer)、内分泌抵抗(Endocrine resistance)、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性(EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、非小细胞肺癌通路(Non-small cell lung cancer)和胰腺癌通路(Pancreatic cancer),见图 4。

KEGG 通路富集分析显示,铁棍山药皮活性成

分对应的通路主要集中在细胞信号通路、癌症和代谢类疾病治疗等方面。其中,在细胞信号通路上,分别有 48 和 34 个基因富集在 PI3K-Akt 信号通路和 HIF-1 信号通路;抗癌症方面,分别有 38、32、25、24 和 23 个基因富集在癌症蛋白多糖信号通路、前列腺癌通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药通路、非小细胞肺癌通路和胰腺癌通路等通路上面;调节代谢系统方面,分别 41、25 和 29 个基因富集在脂质和动脉粥样硬化通路、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用信号通路和内分泌抵抗通路。图 5 展示了这些 KEGG 通路与靶基因之间的相互关系。

3 讨论与结论

针对铁棍山药中化合物成分及其药理活性的研究较多,相对而言,铁棍山药皮的相关研究报道较少^[4-6]。本文利用 UPLC-Q/TOF-MS/MS 平台,分析并鉴别出了铁棍山药皮中的 33 种化合物,为其成分的识别和潜在价值奠定了前期基础;通过生物信息学分析方法,找出铁棍山药皮中发挥功效的关键化学成分,其中芹菜素、金合欢素、甘草素、去二甲氧基姜黄素、山药素 I 等物质具有良好的生物活性。如芹菜素具有抗炎、抗肿瘤侵袭和转移、保护肝功能、抗动脉硬化和脑血栓、降压和镇静抗焦虑等功效^[29],金

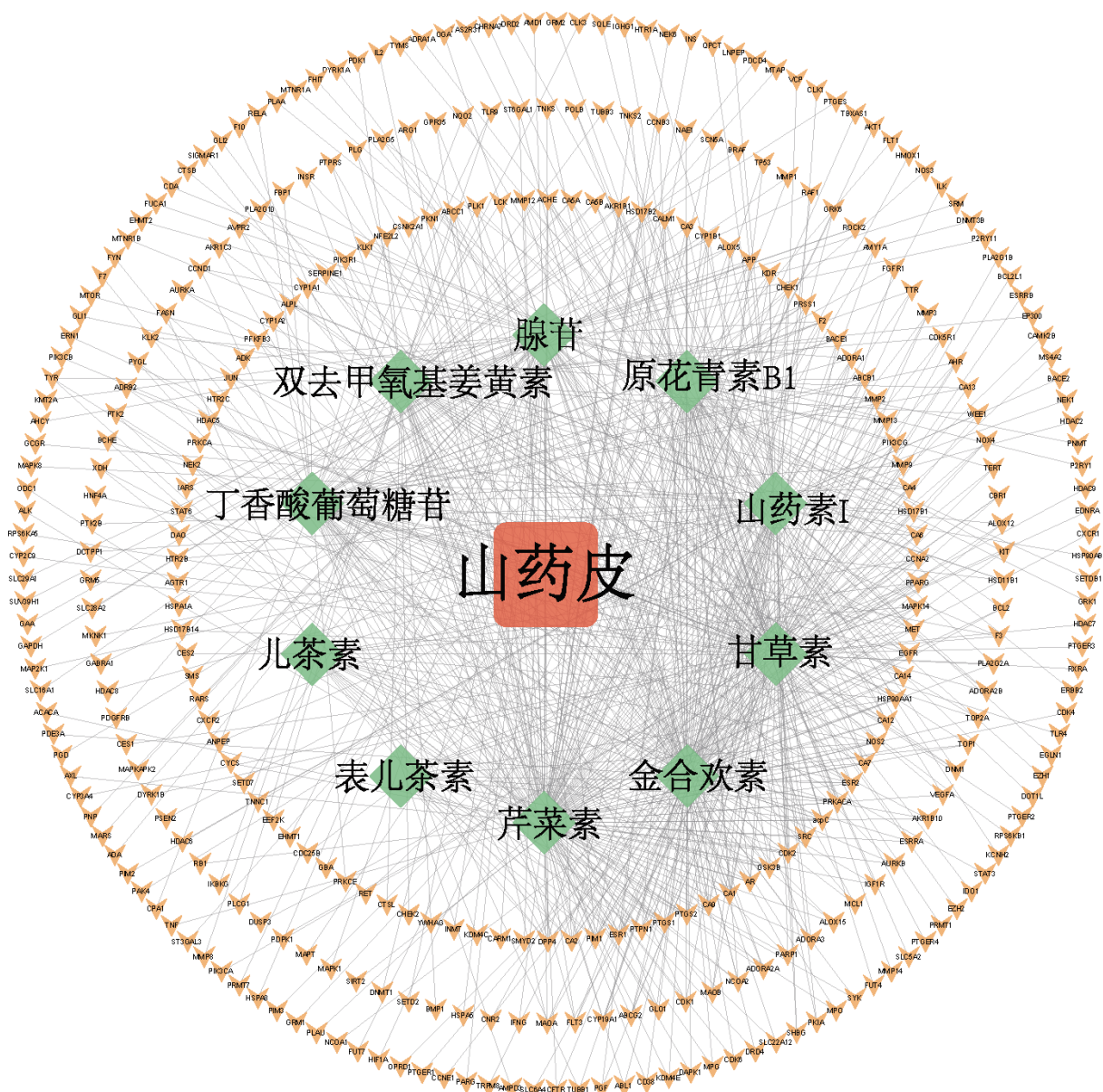


图2 铁棍山药皮-化合物-靶点网络

Fig.2 Network of *Dioscorea opposita* Thumb peel-compound-target network

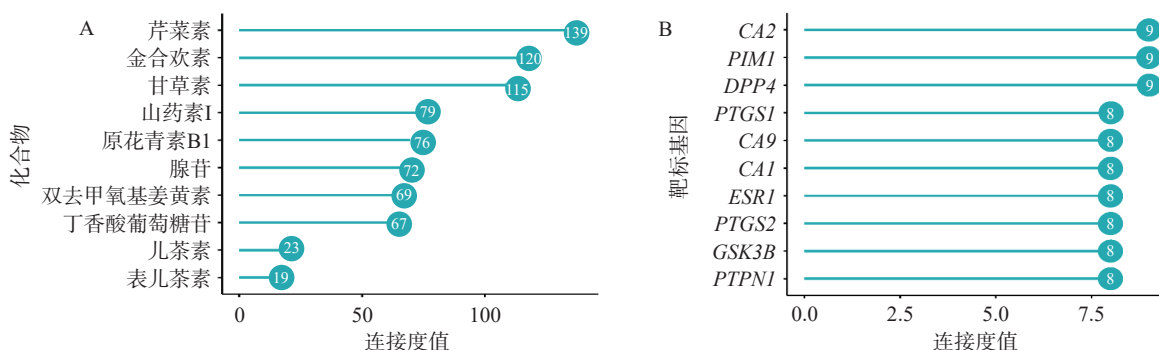


图3 网络中重要化合物靶点数和作用的主要靶点

Fig.3 Top ten important compounds and primary targets of the network

合欢素具有抗肿瘤、免疫调节、保护心脏和神经系统等多种药理活性^[30], 甘草素具有良好的抗癌活性和抗肿瘤作用^[31], 去二甲氧基姜黄素具有抗细胞凋亡、抗氧化和抗炎作用^[32], 山药素 I 具有良好的抗炎作用^[33], 由此可见, 铁棍山药皮可能通过多成分共同发

挥其药用和营养价值。同时, 这些功能成分的鉴别对于铁棍山药皮中营养与药用功能物质的开发和利用也有着重要的参考意义。

铁棍山药皮-化合物-靶点网络研究发现, 铁棍山药皮具有多个作用靶点, 其中重要潜在靶点包括癌症

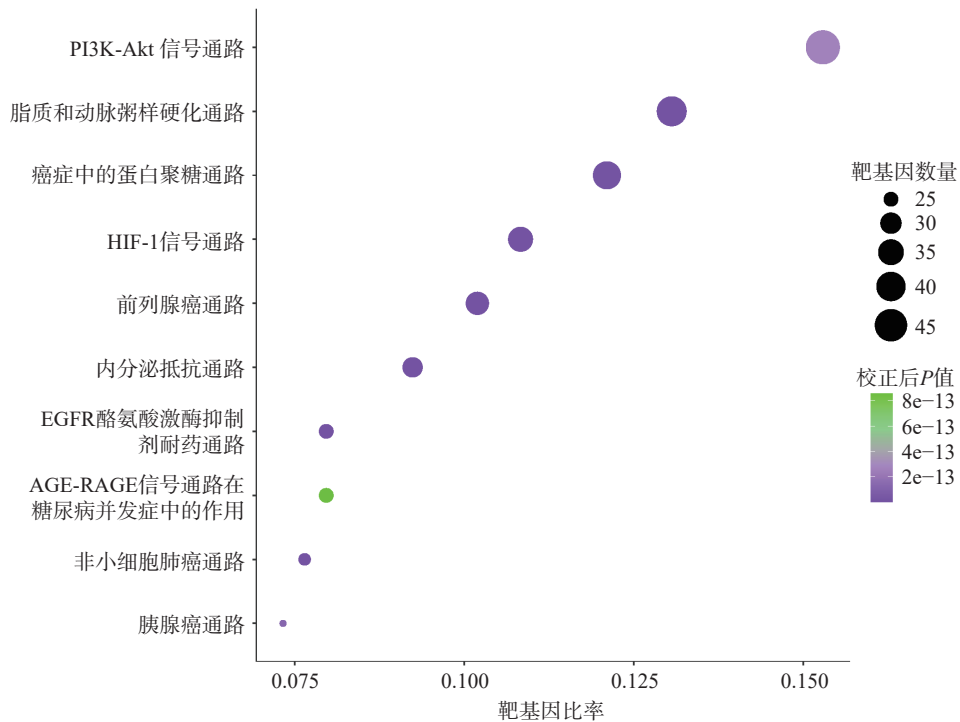


图 4 化合物靶点的 KEGG 通路分析(Top10)

Fig.4 KEGG pathway analysis of compound targets (Top10)

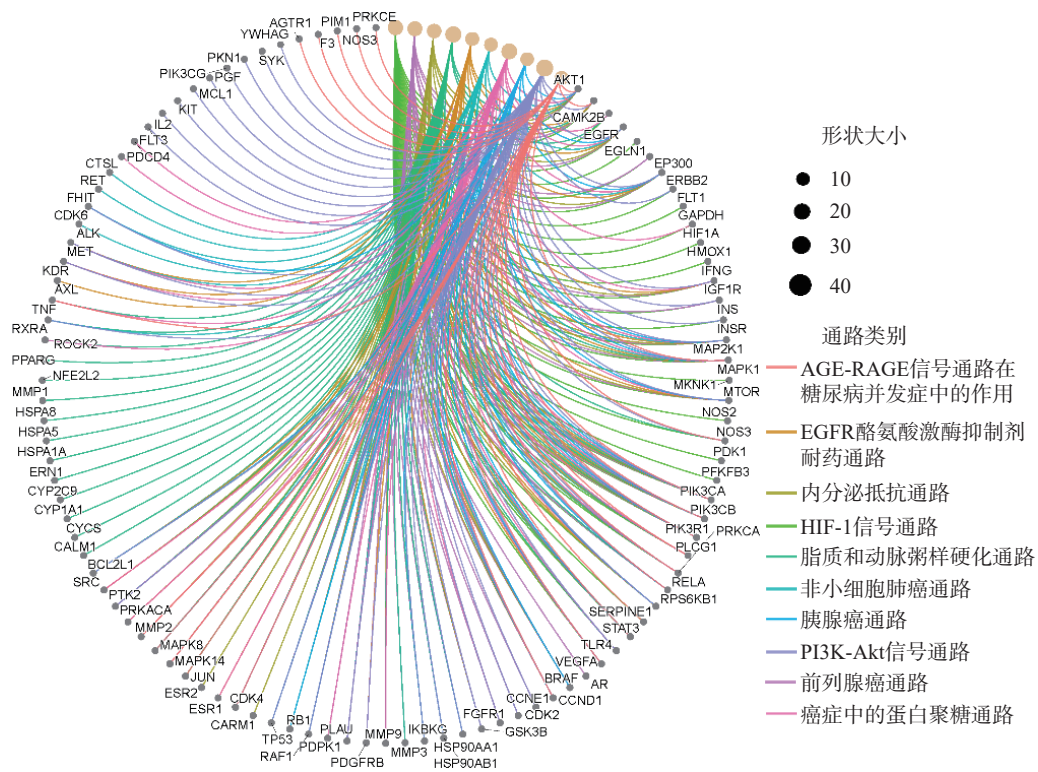


图 5 KEGG 通路与靶基因相互关系网络

Fig.5 KEGG pathway and target gene correlation network

肿瘤相关基因(*PIM1*)、治疗糖尿病代谢相关基因(*GSK3B*、*PTPN1*、*DPP4*)、雌激素受体(*ESR1*)、环加氧酶(*PTGS1*、*PTGS2*)和多种碳酸酐酶(*CA2*、*CA9*、*CA1*)等,这些基因与癌症肿瘤、糖尿病、细胞内信号传导、细胞生长和增殖调控及代谢等密切相关,体现了铁棍山药皮多成分-多靶点系统调节的作

用机制。研究将成分对应的靶基因进行 KEGG 富集分析,明确了铁棍山药皮成分靶点对应的疾病主要集中在肿瘤癌症、细胞信号传导、糖尿病及代谢等相关途径,这一发现也为药物的进一步研发提供了科学依据。

本研究采用 UPLC-Q/TOF-MS/MS 分析技术进

行了铁棍山药皮中化学成分的鉴别,通过生物信息学预测了潜在活性化合物具有的多种药理活性,初步明确了铁棍山药皮具有的药用和营养价值,但铁棍山药皮尚需进一步深入挖掘和研究。首先,对铁棍山药皮中化合物成分的提取工艺、定性和定量分析研究十分必要;其次,本文通过生物信息学技术建立的山药皮-化合物-靶点网络中,所涉及的重要化合物和重要靶点需深入研究;最后,铁棍山药皮的再利用过程,需要建立规范化流程,进而可以形成产品,有望作为保健品或者中医药产品应用于人类疾病的预防和治疗。由此可见,本研究为铁棍山药皮资源的有效利用提供了物质基础和开发依据,也为进一步延长铁棍山药的产业链、提高其附加值提供了理论数据。

参考文献

- [1] 苏敬. 新修本草[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1981: 150. [SU J. Newly revised materia medica[M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1981: 150.]
- [2] CHENG Z, HU M, TAO J, et al. The protective effects of Chinese yam polysaccharide against obesity-induced insulin resistance [J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 55: 238–247.
- [3] 陈佳希. 铁棍山药有效成分提取分离及其活性研究[D]. 西安: 西北大学, 2011. [CHEN X J. Extract of effective components and bioactivity research in *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegung [D]. Xi'an: Northwest University, 2011.]
- [4] 吴金松, 王晓芳, 王建玲, 等. 超声波辅助提取铁棍山药皮水溶性多糖的工艺优化[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(7): 110–114. [WU J S, WANG X F, WANG J L, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from Chinese yam bark [J]. *Cereals & Oils*, 2021, 34(7): 110–114.]
- [5] 赵立庭, 赵华, 刘阳, 等. 铁棍山药皮中黄酮化合物提取工艺条件优化[J]. *粮油食品科技*, 2016, 24(4): 59–63. [HAO L T, ZHAO H, LIU Y, et al. Optimization of extract process conditions for flavonoids in the peel of Henan tiegung yam [J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2016, 24(4): 59–63.]
- [6] 孟月丽, 张庆岭. 铁棍山药皮中多酚类化合物体外抗氧化作用研究[J]. *中医学报*, 2016, 31(5): 707–710. [MENG Y L, ZHANG Q L. Anti-oxidation effect of polyphenolic compounds in Chinese yam peel *in vitro* [J]. *China Journal of Chinese Medicine*, 2016, 31(5): 707–710.]
- [7] ALI, JAVED, KHAN, et al. UHPLC/Q-TOF-MS technique: Introduction and applications[J]. *Letters in Organic Chemistry*, 2015(12): 371–378.
- [8] 王可鉴, 贺林, 杨仑. 生物信息学在药物研究和开发中的应用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2014, 28(1): 118–125. [WANG K J, HE L, YANG L. Application of bioinformatics in pharmaceutical research and development [J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2014, 28(1): 118–125.]
- [9] 王程成, 封亮, 刘丹, 等. 结合生物信息学的中药组分结构研究思路[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(22): 4514–4519. [WANG C L, FENG L, LIU D, et al. Research thoughts on structural components of Chinese medicine combined with bioinformatics [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, 40(22): 4514–4519.]
- [10] DENG Y L, REN H M, YE X W, et al. Integrated phytochemical analysis based on UPLC-Q-TOF-MS/MS, network pharmacology, and experiment verification to explore the potential mechanism of *Platycodon grandiflorum* for chronic bronchitis [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 564131.
- [11] XIE Y T, LIU Y, ZHENG P, et al. Based on UPLC-Q-TOF-MS/MS, systematic network pharmacology, and molecular docking to explore the potential mechanism of *Fructus aurantii* for major depression disorder [J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 2021: 6486287.
- [12] AN L, YUAN Y L, MA J W, et al. NMR-based metabolomics approach to investigate the distribution characteristics of metabolites in *Dioscorea opposita* Thunb. cv. Tiegung [J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 125063.
- [13] SUNGHWAN K, THIESSEN P A, BOLTON E E, et al. PubChem substance and compound databases [J]. *Nucleic Acids Research*, 2016(D1): D1202–D1213.
- [14] WISHART D S, GUO A C, OLER E, et al. HMDB 5.0: The human metabolome database for 2022 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 50(D1): D622–D631.
- [15] ZENG X, ZHANG P, WANG Y L, et al. CMAUP: A database of collective molecular activities of useful plants [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1): D1118–D1127.
- [16] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *Journal of Cheminformatics*, 2014, 16(6): 13.
- [17] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W357–W364.
- [18] WU T, HU E, XU S, et al. ClusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data [J]. *Innovation (N Y)*, 2021, 2(3): 100141.
- [19] HSU F, NONAKA G, NISHIOKA I. Tannins and related compounds. XXXIII. Isolation and characterization of procyanidins in *Dioscorea cirrhosa* Lour [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 33(8): 3293–3298.
- [20] HAI L, TSIM K, CHOU G X, et al. Phenolic compounds from the rhizomes of *Dioscorea bulbifera* [J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2011, 8(11): 2110–2121.
- [21] 曾涌, 罗建军, 何文生, 等. 薯蓣属植物化学成分及药理活性的研究进展 [J]. *中国药房*, 2016, 27(31): 4454–4459. [ZENG Y, LUO J J, HE S W, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Dioscorea* [J]. *China Pharmacy*, 2016, 27(31): 4454–4459.]
- [22] ZENG X, LIU D, HUANG L. Metabolome profiling of eight Chinese yam (*Dioscorea polystachya* Turcz.) varieties reveals metabolite diversity and variety specific uses [J]. *Life*, 2021, 11: 687.
- [23] 周丽. 山药叶中迷迭香酸和黄酮苷元的提取分离与抗氧化活性研究 [D]. 北京: 中国矿业大学, 2016. [ZHOU L. Study on separation, purification and antioxidant activities of rosmarinic acid and flavonoid aglycones from yam leaves [D]. Beijing: China University of Mining and Technology, 2016.]

- [24] 涂宝军, 马利华, 秦卫东, 等. 超声波辅助提取山药皮多酚工艺及酚类的鉴别研究[J]. *中国食品添加剂*, 2014(1): 120–126. [TU B J, MA L H, QIN W D, et al. Studies on ultrasound-assisted extraction of yam peel polyphenol and its compositions[J]. *China Food Additives*, 2014(1): 120–126.]
- [25] WOO K W, KWON O W, KIM S Y, et al. Phenolic derivatives from the rhizomes of *Dioscorea nipponica* and their anti-neuroinflammatory and neuroprotective activities[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 155(2): 1164–1170.
- [26] SHUANG G A, YUE M B, YW B, et al. Effects of storage temperature on bisdemethoxycurcumin formation in fresh-cut yam (*Dioscorea opposita*)[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2021, 103: 104106.
- [27] YG, GUO X Y, LI X Y, et al. Organ- and age-specific differences of *Dioscorea polystachya* compounds measured by UPLC-QTOF/MS[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2021, 18(2): e2000856.
- [28] 刘永录, 李自刚. 复合微生物制剂对怀山药连作障碍的修复机制研究[J]. *河南农业科学*, 2010(11): 90–93. [LIU Y L, LI Z G. Study on the repair mechanism of complex micro-biological additives to continuous cropping obstacle of *Dioscorea opposita* Thunb.[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2010(11): 90–93.]
- [29] 黄佳颖, 杨悦, 李玉荣, 等. 芹菜素的研究进展[J]. *江苏科技信息*, 2015(4): 57–58. [HUANG J Y, YANG Y, LI Y R, et al. Research progress of apigenin[J]. *Jiangsu Science & Technology Information*, 2015(4): 57–58.]
- [30] 马纳, 李亚静, 范吉平. 金合欢素药理研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(10): 1591–1595. [MA N, LI Y J, FAN J P. Research progress on pharmacological action of acacetin[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2018, 35(10): 1591–1595.]
- [31] 胡昆, 杨泽华, 刘显华, 等. 甘草素的合成及其抗癌活性[J]. *合成化学*, 2010, 18(4): 513–516. [HU K, YANG Z H, LIU X H, et al. Synthesis and antitumor activities of liquiritigenin[J]. *Chinese Journal of Synthetic Chemistry*, 2010, 18(4): 513–516.]
- [32] JIN F, CHEN X, YAN H, et al. Bisdemethoxycurcumin attenuates cisplatin-induced renal injury through anti-apoptosis, antioxidant and anti-inflammatory[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 874: 173026.
- [33] LU Y, JIN M, PARK S J, et al. Batatasin I, a naturally occurring phenanthrene derivative, isolated from tuberous roots of *Dioscorea batatas* suppresses eicosanoids generation and degranulation in bone marrow derived-mast cells[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2011, 34(7): 1021–1025.