

基于高分辨质谱和网络药理学的 可可茶多酚降血糖活性研究

Studying on the hypoglycemic activity of green tea polyphenols from
Camellia ptilophylla Chang using high-resolution
mass spectrometry and network pharmacology

黄秋颜 李 斌 林晓蓉

HUANG Qiuayan LI Bin LIN Xiaorong

鲁 森 陈忠正 张媛媛

LU Sen CHEN Zhongzheng ZHANG Yuanyuan

(华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

摘要:目的:探究可可茶茶多酚的组成特性及功能活性。

方法:以可可茶多酚粗提物为研究材料,采用高分辨质谱分析并鉴定其组分;基于网络药理学预测其潜在功能。

结果:经酶抑制试验证实可可茶具有显著抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性的体外降血糖活性;通过 GO 功能分析和 KEGG 通路富集预测其作用机制,涉及 GAPDH、AKT 等 6 个关键靶点和 PI3K-AKT 等多条通路,通过构建“组分—靶点—通路”网络,结合各组分与淀粉水解酶结合的分子对接筛选出杨梅素、花青素等 10 种核心降血糖活性组分。**结论:**可可茶多酚粗提物通过多组分、多靶点、多通路可以共同发挥降血糖功效。

关键词:可可茶;茶多酚;降血糖;高分辨质谱;网络药理学

Abstract: Objective: This study aimed to explore the composition and the functional bioactivity of tea polyphenols from cocoa tea.

Methods: Chemical components of crude green tea polyphenol extracts from cocoa tea were analyzed and identified using high resolution mass spectrometry. Additionally, their potential functional effects were predicted by network pharmacological

analysis. **Results:** The *in vitro* hyperglycemic potential of crude green tea polyphenol from cocoa tea was preliminarily confirmed based on their strong inhibition on α -glucosidase and α -amylase. Six key targets including GAPDH and AKT and multiple pathways such as PI3K-AKT were predicted to be involved in the underlying mechanisms behind the hyperglycemic effects of crude green tea polyphenol from cocoa tea through the GO enrichment and KEGG enrichment analysis. Ten polyphenol components including myricetin, anthocyanin, etc. were suggested to play a key role in the hyperglycemic activities of crude green tea polyphenol from cocoa tea via the construction of a “component-target-pathway” network combined with the molecular docking between these components and starch hydrolase. **Conclusion:** Crude green tea polyphenols from cocoa tea exerted a high hypoglycemic effect by regulating multi-targets through multi-pathways via multi-components.

Keywords: cocoa tea; tea polyphenols; hypoglycemia; high-resolution mass spectrometry; network pharmacology

基金项目:广东省自然科学基金青年提升项目(编号:2023A1515030190);广东省自然科学基金面上项目(编号:2022A1515011080);国家农业科技创新能力条件建设项目(编号:2020-440100-012846)

作者简介:黄秋颜,女,华南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:李斌(1960—),女,华南农业大学教授,博士。

E-mail: bli@scau.edu.cn

林晓蓉(1986—),女,华南农业大学讲师,博士。

E-mail: xiaoronglin@scau.edu.cn

收稿日期:2023-02-27 **改回日期:**2023-08-06

可可茶(*Camellia ptilophylla* Chang),又称“南昆山毛叶茶”,是生长在广东省惠州市南昆山的珍稀茶树^[1],该茶树不含或仅含不到 0.1% 的咖啡碱,可可碱含量高达 3%~7%。研究证实,可可茶比传统茶树[*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]具有更突出的抗氧化^[2-3]、抗炎^[4]、抗癌^[5]等功效。进一步理化分析发现,可可茶不仅具有高可可碱、低咖啡碱的生物碱组成,还具有高茶多酚、高反式/低顺式儿茶素、高花青素、含有多种特殊多酚

等理化特性^[6-7]。茶多酚是可可茶最重要的一类功能性组分,但国内外原以高效液相色谱结合常规茶多酚单体标准品的分析方法,难以更全面、系统揭示可可茶的特殊多酚组成,制约了其功能特性的广泛研究。

超高效液相色谱—高分辨质谱联用技术(Ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry, UPLC-HRMS)具有高分离效能、高灵敏度和高分辨率等优势,能够快速、全面展示天然多组分复杂体系的理化组成特性,已被用于分析普安茶^[8]、黄金芽^[9]等特色茶树的理化组成特性。网络药理学是近年发展起来的一种药物功能预测手段,主要基于质谱、核磁等技术解析的药物化学结构信息,借助计算机和数据库,通过对现有基因、靶点蛋白、疾病和药物等信息的分析处理和模拟预测,构建药物、靶点和疾病的关系网络,进而利用算法分析和预测药物功效及活性组分、作用机制^[10],目前已成功用于预测绿茶^[11]、藤茶^[12]、苦丁茶^[13]等植物的神经治疗和抗癌等功能特性。这些技术进展为系统揭示可可茶的特殊多酚组成,并在此基础上快速探究其健康功效,提供了新的平台和路径。

基于此,研究拟以可可茶的多酚粗提物为主要研究材料,采用 UPLC-HRMS 技术鉴定其组成,根据各组分的化学结构,采用网络药理学手段预测其功能活性;根据预测结果选择排名第三的降血糖活性,以云南大叶种绿茶多酚粗提物为对照,利用 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶初步验证其体外降血糖活性;通过 GO 功能富集和 KEGG 通路富集预测其降血糖作用机制,通过构建“组分—疾病—通路”网络筛选核心降血糖活性组分,并利用分子对接技术验证各组分与两种淀粉水解酶的结合能力,探讨可可茶多酚组分的降血糖活性及作用机制,为进一步分析可可茶的独特理化组成、深入揭示这一珍稀茶树资源的功能特性提供理论研究依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

可可茶:1芽2~3叶,采自广东省惠州市龙门县南昆山,鲜叶经微波杀青、干燥加工成干茶;

云南大叶种绿茶:一级,广东省华海糖业发展有限公司。

1.1.2 试剂

α -葡萄糖苷酶(酵母,比活力 100 U/mg)、 α -淀粉酶(猪胰腺,比活力 14 U/mg)、4-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, PNPG);上海源叶生物科技有限公司;

氯化钠、可溶性淀粉、硫酸、苯酚、氢氧化钠、酒石酸钾钠、3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)

均为国产分析纯。

1.2 仪器

纯水机: Milli-Q Integral 3 型,德国 Merck-Millipore 公司;

电子分析天平: AL204 型,梅特勒托利多仪器有限公司;

冷冻干燥机: Alpha 1-2 LD plus 型,德国 Martin Christ 公司;

酶标仪: VersaMax 型,美国 Molecular Devices 公司;

电热恒温水浴锅: HWS-24 型,上海一恒科学仪器有限公司;

冷冻高速离心机: Centrifuge 5804R 型,德国 Eppendorf 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 两品种绿茶多酚的提取制备 参考旷小珊等^[14]的方法,以可可茶和云南大叶种绿茶为原料,采用乙醇提取、乙酸乙酯萃取制备茶多酚粗提物。

1.3.2 可可茶多酚的组成分析 以可可茶多酚粗提物为研究材料,称取 2 mg 可可茶冻干粉,采用 1 mL 甲醇溶解,利用 Agilent 654UHD Q-TOF 超高压液相色谱/四极杆串联飞行时间质谱联用仪结合 Agilent SB-Aq C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.8 μ m),以 0.1% 甲酸—水(A)和 0.1% 甲酸—乙腈(B)为流动相,流速 0.4 mL/min,柱温 50 $^{\circ}$ C,进样量 3 μ L。线性梯度洗脱程序为: 0 min, 5% B; 0.5 min, 5% B; 18 min, 40% B; 20 min, 90% B; 20.9 min, 90% B; 21 min, 5% B; 25 min, 5% B。分别采用正、负离子模式扫描,扫描范围为 70~1 000(*m/z*)。利用 Amdis 软件处理原始数据,将得到的一级、二级质谱数据分别与茶叶自建数据库、NIST、mzCloud 和 HMDB 数据库中的化合物进行匹配确认。

1.3.3 可可茶多酚的功能预测 参考肖梦君等^[15]的方法,先鉴定可可茶多酚组分的化学结构,再通过 PubChem、SIWSS 数据库和 Metascape 平台预测其功能活性。

1.3.4 可可茶多酚的降血糖活性预测 根据 1.3.3 的预测结果,以 2 型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)为关键词,参考梁林盼等^[16]的方法,通过 GeneCards 人类基因数据库、OMIM 孟德尔遗传代谢数据库、DisGeNET 数据库和 TTD 数据库收集 T2DM 的相关靶点,通过绘制韦恩图筛选可可茶多酚组分的潜在降血糖靶点,并通过 STRING 数据库结合 Cytoscape 3.8.0、Prism 等软件对潜在的降血糖靶点进行蛋白质相互作用(Protein-protein interaction, PPI)分析、GO 功能富集和 KEGG 通路富集。同时,参考王腾飞等^[17]的方法,建立可可茶多酚降血糖的“组分—靶点—通路”网络,根据拓扑参数、度值、介数中

位数、紧密度等指标,筛选可可茶的核心降血糖多酚组分。

1.3.5 两品种绿茶多酚的体外降血糖活性评价

(1) α -葡萄糖苷酶活性抑制率:参考 Deng 等^[18]的方法,稍作修改。采用 pH 6.8、0.1 mol/L 的磷酸缓冲液(PBS)分别配制底物 PNPG 溶液(2.5 mmol/L)和 α -葡萄糖苷酶溶液(0.2 U/mL),将可可茶和云南大叶种绿茶的茶多酚粗提物用一级水溶解并稀释配成 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 $\mu\text{g/mL}$ 系列浓度的样液,分别吸取 50 μL 不同浓度待测液于 96 孔板中,再加入 50 μL α -葡萄糖苷酶溶液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min,加入 50 μL 的 PNPG 溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min,再加入 50 μL 0.2 mmol/L 的 Na_2CO_3 终止反应,于酶标仪 405 nm 处测定其吸光度(A_1)。以阿卡波糖代替绿茶多酚作为阳性对照,以等体积 PBS 代替绿茶提取物作为空白对照(其吸光度记为 A_0),加入绿茶多酚并以等体积 PBS 取代 α -葡萄糖苷酶溶液作为样品空白(其吸光度记为 A_2)。根据式(1)计算两品种绿茶多酚和阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制率。

$$R = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R ——抑制率, %;

A_0 ——以 PBS 代替待测样品的吸光值;

A_1 ——经过待测样品处理的吸光值;

A_2 ——以 PBS 代替 α -淀粉酶溶液的吸光值。

(2) α -淀粉酶活性抑制率:参照 Deng 等^[18]的方法并略作修改。采用 pH 6.8、0.1 mol/L 的 PBS 分别配制 1% 淀粉溶液与 α -淀粉酶溶液(2 U/mL),绿茶多酚粗提物用一级水溶解并稀释配成不同浓度(0.125、0.250、0.500、1.000、2.000 mg/mL)的样液,DNS 试剂参考赵凯等^[19]的方法配制。取 5 mL 试管,分别加入待测样液 300 μL 和 α -淀粉酶溶液 400 μL ,混匀后,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min 后,加入 1% 可溶性淀粉溶液 300 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 15 min。最后,加入 2 mL DNS 试剂显色,立即煮沸 10 min 终止反应,冷却后于酶标仪 540 nm 处测定其吸光度(A_1)。以阿卡波糖为阳性对照,以 PBS 为空白对照(其吸光度记为 A_0),

以等体积 PBS 代替 α -淀粉酶溶液分析样液作为样品空白(其吸光度记为 A_2)。根据式(1)计算两品种绿茶多酚和阿卡波糖对 α -淀粉酶的体外抑制率。

1.3.6 可可茶多酚的核心降血糖组分验证 参考沈荷玉等^[20]的方法,采用分子对接技术结合 Pymol 软件分析

1.3.4 预测的可可茶核心降血糖多酚组分与 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶的相互作用。

1.4 数据处理

使用 SPSS 20.0 进行差异显著性分析和相关性分析,小写字母不同表示组间差异显著($P < 0.05$),图表数据以平均值士标准偏差表示。采用 Origin 9.0 计算各组分对两种淀粉水解酶的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})及绘图。

2 结果与分析

2.1 可可茶多酚组分鉴定

采用 UPLC-HRMS 技术分别在正、负离子模式下分析可可茶的多酚粗提物的组成,其总离子流图见图 1。通过对比各数据库中的一级、二级质谱数据,共鉴定出 130 个组分,包括 GCG、EGCG、CG、ECG、GC、EGC、C、EC 等 8 种儿茶素单体,槲皮素、芦丁、香豆素、杨梅素等黄酮及黄酮苷类,原花青素 A_1 、 A_2 、 B_2 等花青素和花白素类,没食子酸、咖啡酸、绿原酸等酚酸和缩酚酸类,以及传统茶树不含或含量极少的儿茶素-3,5-二没食子酸酯和 1,2,4,6-四没食子酰葡萄糖等多酚组分。与传统高效液相色谱法受限标准品等仅能检测 8 种儿茶素单体、没食子酸等组分相比,高分辨质谱技术从可可茶的多酚粗提物中鉴定出了更丰富的多酚组成,为进一步挖掘可可茶及其多酚组分的功能特性提供了物质基础。

2.2 可可茶多酚组分功能活性预测

在利用高分辨质谱系统鉴定可可茶多酚组分化学结构的基础上,研究采用基因注释工具 Metascape 对 130 种组分的潜在作用靶点做 DisGeNET 分析,计算靶点聚集在每个疾病条目中的数目和显著性,以 $-\log P$ 值作热图分析,排名前 20 的疾病类型如图 2 所示。其中排名前 3 的疾病类型为神经性疾病、记忆障碍和糖尿病。目前,糖

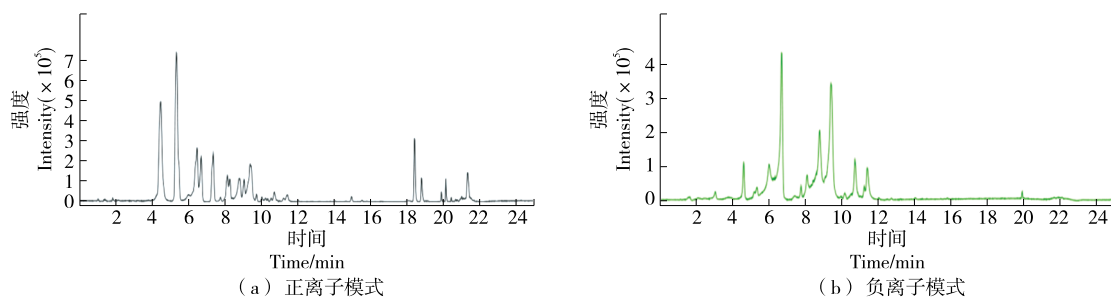


图 1 可可茶多酚粗提物的总离子流图

Figure 1 Total ion flow diagram of crude tea polyphenols of green tea from cocoa tea

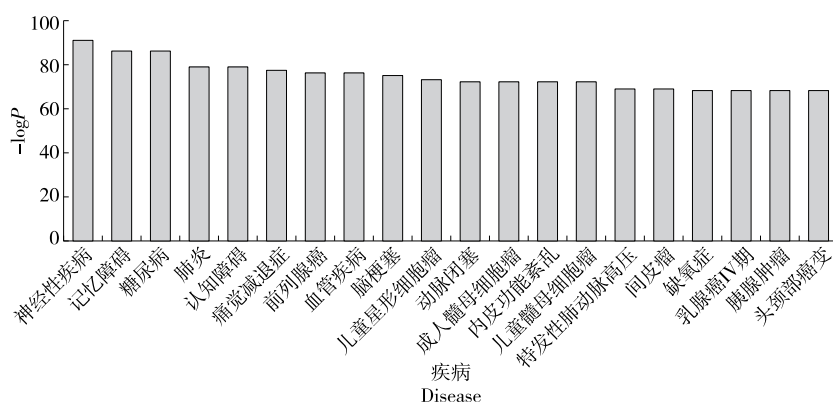


图2 可可茶多酚组分的疾病富集分析

Figure 2 Disease enrichment analysis of green tea polyphenols from cocoa tea

尿病已成为继癌症、心血管疾病之后的第三大非传染性疾病,传统茶树的提取物及其茶多酚、茶多糖等已被证实能够有效抑制淀粉水解酶、改善机体胰岛素抵抗^[21],具有较强的降血糖活性,但目前尚未系统、深入探究可可茶多酚的降血糖活性。

2.3 可可茶多酚体外降血糖活性评价

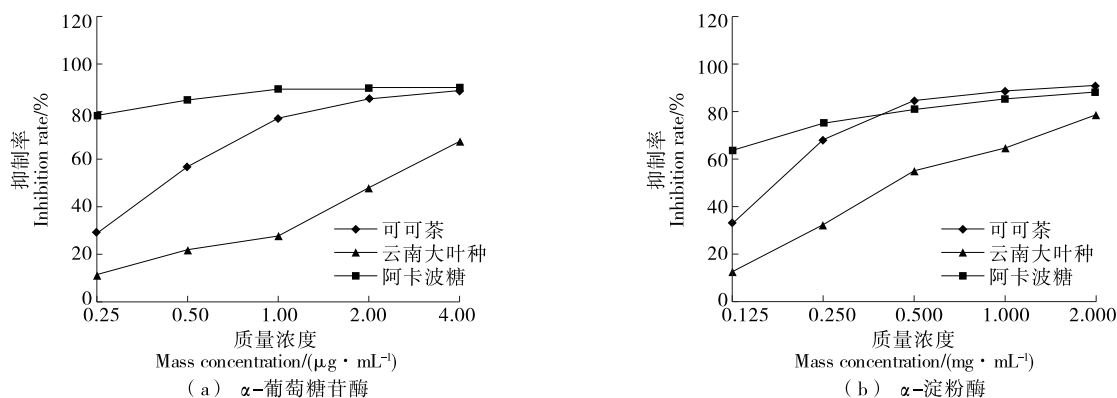
在利用网络药理学预测可可茶多酚的降血糖活性基础上,以可可茶和云南大叶种绿茶的多酚粗提物为研究材料,比较分析两品种绿茶多酚对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率及 IC_{50} ,结果如图3所示。由图3可知,两种绿茶多酚对两种淀粉水解酶的活性均有显著抑制作用,随其质量浓度增大,抑制率升高,且对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用强于 α -淀粉酶;其中,可可茶多酚对两种淀粉水解酶活性的抑制作用显著强于云南大叶种,当质量浓度达 $4 \mu\text{g/mL}$ 时,其对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用与阳性药物阿卡波糖相当,当质量浓度为 $0.5 \sim 2.0 \text{ mg/mL}$ 时,其对 α -淀粉酶的抑制活性均强于阿卡波糖。这一结果表明,可可茶多酚比云南大叶种绿茶多酚具有更强的体外降血糖作用,但其核心活性组分和作用

机制尚不明确。

2.4 可可茶多酚降血糖作用机制预测

为进一步探索可可茶多酚发挥降血糖活性的分子机制,利用 GeneCards、OMIM、DisGeNET 和 TTD 数据库筛选获得 4 820 个 T2DM 的候选靶点,采用 Venny 分析潜在作用靶点与糖尿病相关作用靶点的交集,获得了 367 个可可茶多酚的潜在降血糖靶点,见图 4(a)。利用 String 平台生成这些靶点的 PPI 网络,该网络图含有 367 个节点、13 758 条边,平均每个节点有 37 条边,靶点之间有较强的关联性,见图 4(b)。通过比较紧密度、度值和平均最短路径,筛选出 GAPDH、AKT1、TP53、ALB、IL6、TNF 6 个可可茶多酚的降血糖关键作用靶点(表 1)。

进一步对可可茶多酚的 367 个潜在降血糖靶点进行 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析。GO 分析共富集了 3 836 个条目,其中 3 287 个与生物过程相关,190 个与细胞成分相关,359 个与分子功能相关。根据 P 值 < 0.01 ,选取生物过程(BP)、细胞成分(CC)、分子功能(MF)富集结果排名前 10 的条目进行可视化处理,结果如图 5 所示。由图 5 可知,可可茶多酚的降血糖靶点主要参与

图3 两种绿茶多酚对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的抑制率及半抑制浓度 IC_{50} Figure 3 Inhibition rate and IC_{50} of green tea polyphenols from cocoa tea and *C. sinensis* on α -glucosidase and α -amylase

丝裂原活化蛋白激酶和氧化应激反应等生物过程,存在于膜筏、膜微区、囊泡腔等细胞成分,行使蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、磷酸酶结合活性、丝氨酸水解酶活性等分子功能。KEGG 分析共富集了 119 个信号通路,主要涉及 PI3K-AKT、刺激神经组织的交互通路、癌症的蛋白聚糖通路、脂质和动脉硬化等途径。其中,

PI3K/AKT 信号通路富集得分最高,作为经典的胰岛素信号通路,其在调节糖原合成和糖异生中起关键作用^[22],同时也是多酚类化合物或富含多酚的植物提取物发挥降血糖功效的关键通路^[23-25]。

上述研究结果表明:可可茶多酚可能通过作用于 GAPDH、AKT1、TP53、ALB、IL6、TNF 等多个靶点发挥

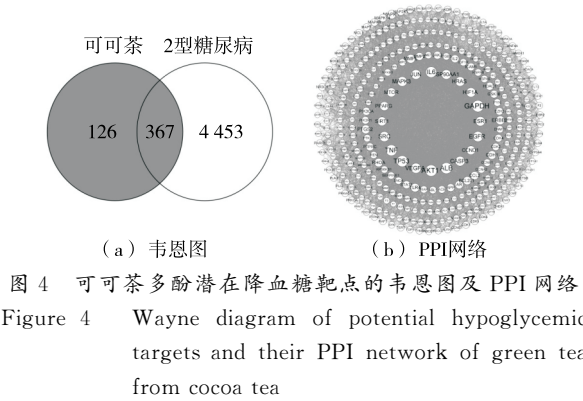


表 1 可可茶多酚关键降血糖靶点的拓扑学参数

Table 1 Topological parameters of key hypoglycemic targets of green tea polyphenols from cocoa tea

靶点	度值	平均最短路径	介值
GAPDH	201	1.449 315	0.069 701
AKT1	196	1.465 753	0.054 167
TP53	186	1.493 151	0.046 461
ALB	184	1.501 370	0.055 324
TNF	181	1.509 589	0.048 619
IL6	177	1.517 808	0.043 997

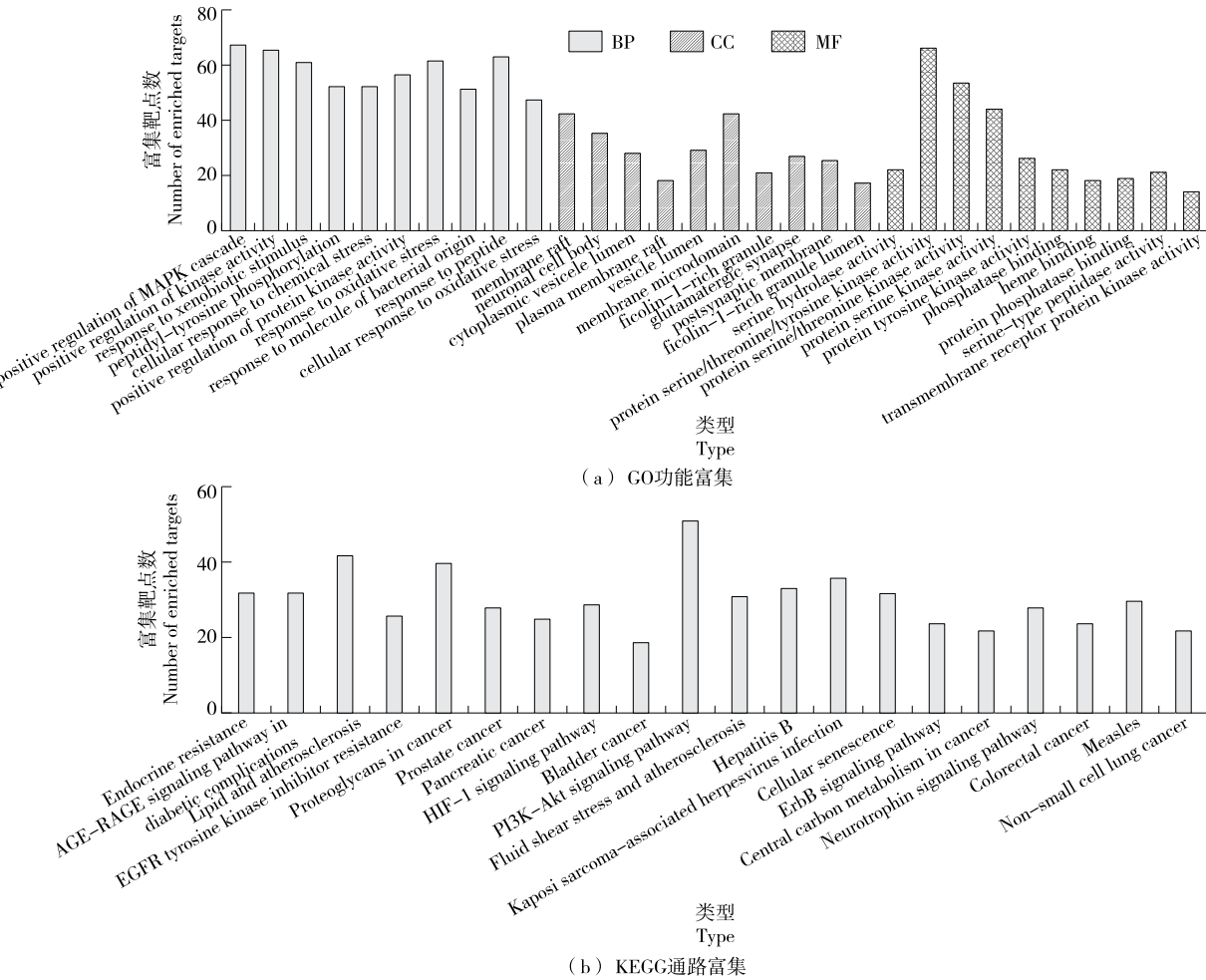


图 5 可可茶多酚潜在降血糖靶点的 GO 功能富集和 KEGG 通路富集

Figure 5 GO functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis of the potential hypoglycemic targets of green tea polyphenols from cocoa tea

降血糖活性,涉及丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶等多种生物功能及胰岛素抵抗、炎症、癌症等多条信号通路,具有多靶点、多通路的作用特点。

2.5 可可茶多酚核心降血糖组分预测与验证

为进一步筛选可可茶多酚粗提物的核心降血糖活性组分,研究将上述可可茶多酚组分、潜在降血糖靶点及KEGG富集分析中前20条通路导入Cytoscape软件,构建可可茶多酚的“组分—T2DM—通路”网络图(图6),并以度值、平均最短路径、介值等拓扑学参数综合评价节点的关键程度,结果如表2所示。由表2可知:排名前10的金合欢素、草质素、山核桃素、花青素、木犀草素、杨梅素、山萘酚、柚皮素、山药素Ⅲ和山奈素可能是可可茶多酚的核心降血糖组分。其中,花青素、柚皮素、木犀草素、杨梅素和山萘酚等已被证实能够减轻糖尿病小鼠中胰岛B细胞的损伤,促进肝糖原和胰岛素的合成、抑制体外淀粉消化酶活性,调控机体内的血糖水平^[26-27]。

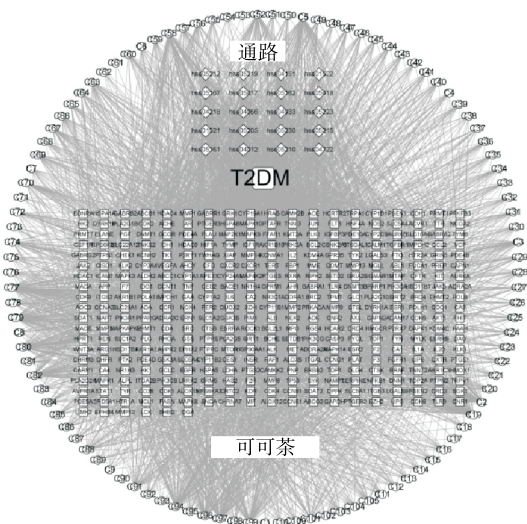


图6 可可茶多酚的“组分—T2DM—通路”网络

Figure 6 Components-T2DM-pathway network for green tea polyphenols from cocoa tea

研究以阿卡波糖为阳性对照,将上述筛选的10种多酚组分与 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶进行分子对接,以验证10种多酚组分的降血糖活性,结果如图7所示。10种可可茶核心降血糖多酚组分与 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶的对接结合能均小于-21 kJ/mol,说明各组分与两种淀粉水解酶具有较强的结合能力。进而,利用PyMol软件对山核桃素、花青素、杨梅素等8组对接结合能较低的分子对接结果进行可视化(图8),发现8种多酚组分均能通过氢键与两种淀粉水解酶分子中不同位置的氨基酸残基结合。这些结果提示,山核桃素、花青素、杨梅素等10种多酚组分,可能是可可茶多酚中发挥降血糖活性的核心组分。

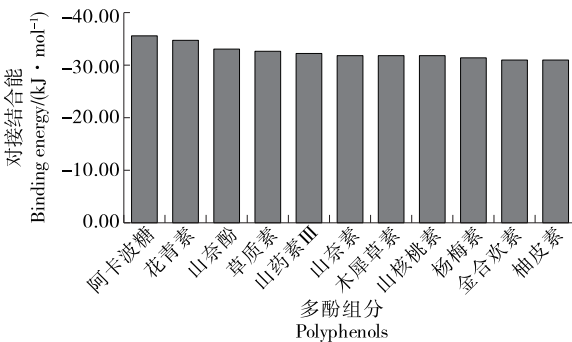
3 结论

研究利用UPLC-HRMS技术,从可可茶多酚粗提物中鉴定出130种组分;采用网络药理学预测结合体外 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶抑制实验验证,发现可可茶比云南大

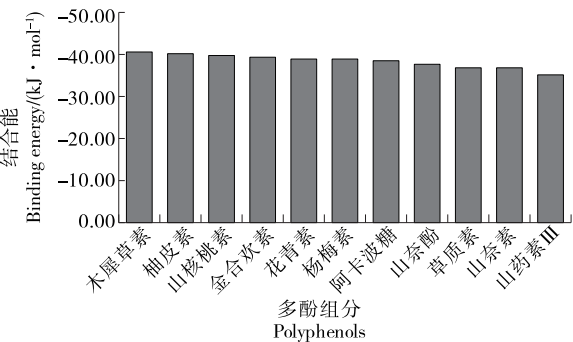
表2 可可茶多酚排名前10的降血糖活性组分的拓扑学参数

Table 2 Topological parameters of major hypoglycemic components of green tea polyphenols from cocoa tea

名称	序号	度值	平均最短路径	介值
金合欢素	C2	86	2.402 834 008	0.014 279 460
草质素	C19	83	2.414 979 757	0.009 667 871
山核桃素	C58	83	2.414 979 757	0.009 941 638
花青素	C94	83	2.507 736 000	0.012 063 730
木犀草素	C77	82	2.414 979 757	0.010 160 447
杨梅素	C79	82	2.414 979 757	0.009 663 024
山萘酚	C99	82	2.414 979 757	0.009 797 260
柚皮素	C80	81	2.419 028 340	0.017 361 157
山药素Ⅲ	C5	80	2.431 174 089	0.019 359 446
山奈素	C97	78	2.431 174 089	0.008 957 319



(a) 与 α -淀粉酶的结合能



(b) 与 α -葡萄糖苷酶的结合能

图7 可可茶核心降血糖多酚组分与 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的结合能

Figure 7 Binding energy of key green tea polyphenol components from cocoa tea on α -amylase and α -glucosidase

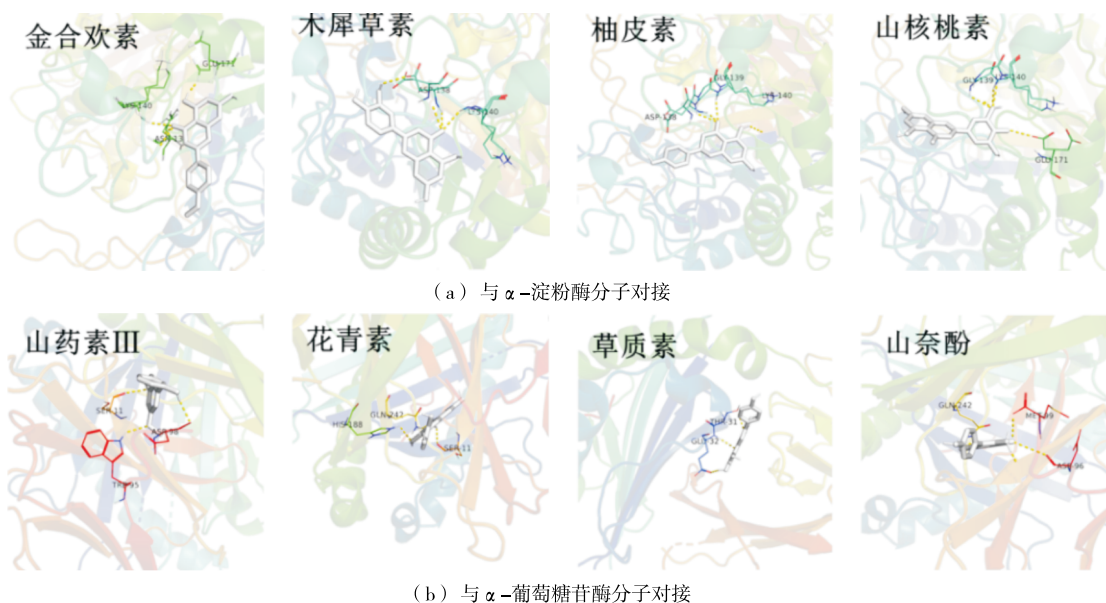


图 8 可可茶核心降血糖多酚组分与 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶分子对接可视化图

Figure 8 Visualization of molecular docking of active components of cocoa tea on α -amylase and α -glucosidase

叶种绿茶多酚具有更强的降血糖活性;经 GO 功能富集和 KEGG 通路富集,预测其通过 GAPDH、AKT1、TP53、ALB、IL6、TNF 6 个关键作用靶点和 PI3K-AKT1 等主要信号通路发挥降血糖活性;通过构建“组分—靶点—通路”网络,结合各组分与 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的分子对接模拟,筛选出山核桃素、花青素等 10 种核心降血糖组分。研究表明,可可茶多酚粗提物通过多组分、多靶点、多通路共同发挥降血糖功效,这为未来进一步利用细胞、动物等模型靶向深入研究可可茶的降血糖活性及作用机制提供了相关的研究路线。

参考文献

- [1] 张宏达, 叶创兴, 张润梅, 等. 中国发现新的茶叶资源——可可茶[J]. 中山大学学报(自然科学版), 1988(3): 131-133.
ZHANG H D, YE C X, ZHANG R M, et al. A discovery of a new tea resource—cocoa tea tree containing theobromine from China[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 1988(3): 131-133.
- [2] LI K K, SHI X G, YANG X R, et al. Antioxidative activities and the chemical constituents of two Chinese teas, *Camellia kucha* and *C. ptilophylla*[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2012, 47(5): 1 063-1 071.
- [3] 刘诗好, 陈忠正, 林晓蓉, 等. 南昆山毛叶茶对 tBHP 诱导损伤 NIH3T3 细胞的保护效果[J]. 食品工业科技, 2021, 42(2): 90-98.
LIU S Y, CHEN Z Z, LIN X R, et al. Protective effect of *Camellia ptilophylla* Chang on the tBHP-induced NIH3T3 cells[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(2): 90-98.
- [4] LIN X R, CHEN Z Z, ZHANG Y Y, et al. Interactions among chemical components of cocoa tea (*Camellia ptilophylla* Chang), a naturally low caffeine-containing tea species[J]. Food & Function, 2014, 5(6): 1 175-1 185.
- [5] GAO X, LI X, HE C T, et al. Cocoa tea (*Camellia ptilophylla*) induces mitochondria-dependent apoptosis in HCT116 cells via ROS generation and PI3K/Akt signaling pathway[J]. Food Research International, 2020, 129: 108854.
- [6] GAO X, LIN X R, LI X F, et al. Cellular antioxidant, methylglyoxal trapping, and anti-inflammatory activities of cocoa tea (*Camellia ptilophylla* Chang) [J]. Food & Function, 2017, 8(8): 2 836-2 846.
- [7] PENG J M, JIA Y, HU T Y, et al. GC-(4 $\rightarrow$ 8)-GCG, A proanthocyanidin dimer from *Camellia ptilophylla*, modulates obesity and adipose tissue inflammation in high-fat diet induced obese mice [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2019, 63(11): 1900082.
- [8] LI Y F, QIU S H, CHANG Y Q, et al. A comparative analysis of chemical compositions in *Camellia sinensis* var. *puanensis* Kurihara, a novel Chinese tea, by HPLC and UFLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2017, 216: 282-288.
- [9] ZHOU J, FANG T T, LI W, et al. Widely targeted metabolomics using UPLC-QTRAP-MS/MS reveals chemical changes during the processing of black tea from the cultivar *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze cv. Huangjinya [J]. Food Research International, 2022, 162: 112169.
- [10] 解静, 高杉, 李琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. 中草药, 2019, 50(10): 2 257-2 265.
XIE J, GAO S, LI L, et al. Research progress and application strategy on network pharmacology in Chinese materia medica[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(10): 2 257-2 265.
- [11] 董海玉, 梁建庆, 何建成, 等. 基于网络药理学探讨石菖蒲—绿茶药对治疗帕金森病的分子机制[J]. 中医药通报, 2022, 21

- (11): 46-51.
- DONG H Y, LIANG J Q, HE J C, et al. Study on molecular mechanism of *Acorus Tatarinowii* and green tea in treating Parkinson's disease based on network pharmacology[J]. *Traditional Chinese Medicine Journal*, 2022, 21(11): 46-51.
- [12] 宋琴, 李佳川, 李思颖, 等. 基于多元网络的藤茶总黄酮部位抗高尿酸血症认知障碍机制研究[J]. *西南民族大学学报(自然科学版)*, 2022, 48(4): 400-409.
- SONG Q, LI J C, LI S Y, et al. Study on the mechanism of action of total flavonoids in vine tea against hyperuricemia dementia based on multi-organism network [J]. *Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 2022, 48(4): 400-409.
- [13] 赵鑫铖, 张红. 基于网络药理学方法分析苦丁茶治疗结肠癌的分子机制[J]. *海南大学学报(自然科学版)*, 2022, 40(2): 142-150.
- ZHAO X C, ZHANG H. Molecular mechanisms analysis of *Ilex Kudingcha* in the treatment of colon cancer based on Network Pharmacology[J]. *Natural Science Journal of Hainan University*, 2022, 40(2): 142-150.
- [14] 旷小珊, 高雄, 林晓蓉, 等. 南昆山毛叶茶三种多酚的分离纯化及抗氧化研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(5): 31-39.
- KUANG X S, GAO X, LIN X R, et al. Isolation, purification and antioxidant activities of three kinds of polyphenol monomers from *Camellia ptilophylla* Chang[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(5): 31-39.
- [15] 肖梦君, 高志晖, 王灿红, 等. 基于网络药理学的 2-(2-苯乙基)色酮类成分潜在作用靶点及作用机制预测[J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2021, 23(7): 2170-2180.
- XIAO M J, GAO Z H, WANG C H, et al. Prediction of the potential targets and possible intervention diseases M\ mechanism of 2-(2-phenylethyl) chromones based on Network Pharmacology [J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica: World Science and Technology*, 2021, 23(7): 2170-2180.
- [16] 梁林盼, 凌雪, 方姣, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨瑶山甜茶治疗 2 型糖尿病的作用机制[J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2023, 41(1): 143-154.
- LIANG L P, LING X, FANG J, et al. Mechanism of *Rubus suavissimus* S. Lee in intervention of Type 2 diabetes mellitus based on Network Pharmacology and molecular docking method [J]. *Journal of Guangxi Normal University (Natural Science Edition)*, 2023, 41(1): 143-154.
- [17] 王腾飞, 段瑞斌, 杨佳丽, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨毛建茶干预高血脂血症的作用机制[J]. *食品科学*, 2023, 44(9): 7-14.
- WANG T F, DUAN R B, YANG J L, et al. Exploring the mechanism of *Dracocephalum rupestre* hance tea interfering with hyperlipidemia based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Food Science*, 2023, 44(9): 7-14.
- [18] DENG Y J, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Novel polysaccharide from *Chaenomeles speciosa* seeds: Structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity evaluation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 153: 755-766.
- [19] 赵凯, 许鹏举, 谷广辉. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(8): 534-536.
- ZHAO K, XU P Q, GU G Y. Study on determination of reducing sugar content using 3, 5-dinitrosalicylic acid [J]. *Food Science*, 2008, 29(8): 534-536.
- [20] 沈荷玉, 李梦阳, 敖婧芳, 等. 没食子酸对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制作用及机理 [J/OL]. *食品科学*. (2023-03-17) [2023-05-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230316.1230.018.html>.
- SHEN H Y, LI M Y, AO J F, et al. Inhibition effects and mechanisms of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase[J/OL]. *Food Science*. (2023-03-17) [2023-05-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230316.1230.018.html>.
- [21] 陆鹏, 王校常, 汪瑛琦. 茶叶在抵抗 II 型糖尿病中的作用[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2016, 42(3): 358-367.
- LU P, WANG X H, WANG Y Q. Overview of tea constituents against type 2 diabetes [J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 2016, 42(3): 358-367.
- [22] LIU Y H, QIU Y, CHEN Q G, et al. Puerarin suppresses the hepatic gluconeogenesis via activation of PI3K/Akt signaling pathway in diabetic rats and HepG2 cells [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 137: 111325.
- [23] CHEN L, TENG H, CAO H. Chlorogenic acid and caffeic acid from *Sonchus oleraceus* Linn synergistically attenuate insulin resistance and modulate glucose uptake in HepG2 cells[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2019, 127: 182-187.
- [24] XIA T D, ZHANG W Z. Polyphenol-rich extract of Zhenjiang aromatic vinegar ameliorates high glucose-induced insulin resistance by regulating JNK-IRS-1 and PI3K/Akt signaling pathways[J]. *Food Chemistry*, 2021, 335: 127513.
- [25] WU Z M, YU W X, NI W J, et al. Improvement of obesity by Liupao tea is through the IRS-1/PI3K/AKT/GLUT4 signaling pathway according to network pharmacology and experimental verification[J]. *Phytomedicine*, 2023, 110: 154633.
- [26] 逯红林, 赵亚芸, 沈海涛, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定天山茶藨茎 14 个酚类成分及其降血糖活性[J]. *药物分析杂志*, 2021(10): 1697-1706.
- LU H L, ZHAO Y Y, SHEN H T, et al. Simultaneous determination of 14 phenols from *Ribes meyeri* stem by UPLC-MS/MS and their antidiabetic activity [J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2021(10): 1697-1706.
- [27] 逯凤肖, 王恩花, 秦滢, 等. 二氢杨梅素对糖尿病小鼠降糖作用研究[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(3): 45-48.
- LU F X, WANG E H, QIN T, et al. Hypoglycemic effect of dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata* on diabetic mice [J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2016, 32(3): 45-48.