

- Hypertension, 2010, 56(5): 879-884.
- [33] Joseph E K, Levine J D. Caspase signalling in neuropathic and inflammatory pain in the rat [J]. Eur J Neurosci, 2004, 20 (11): 2896-2902.
- [34] Hamet P, Richard L, Dam T V, et al. Apoptosis in target organs of hypertension [J]. Hypertension, 1995, 26 (4): 642-648.
- [35] Wang Q L, Cui Y H, Lin N, et al. Correlation of cardiomyocyte apoptosis with duration of hypertension, severity of hypertension and caspase-3 expression in hypertensive rats [J]. Exp Ther Med, 2019, 17(4): 2741-2745.
- [36] Forrester S J, Kawai T, O'Brien S, et al. Epidermal growth factor receptor transactivation: Mechanisms, pathophysiology, and potential therapies in the cardiovascular system [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2016, 56: 627-653.
- [37] Oliveira-Paula G H, Lacchini R, Fontana V, et al. Polymorphisms in VEGFA gene affect the antihypertensive responses to enalapril [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2015, 71 (8): 949-957.
- [38] Pavlov T S, Levchenko V, O'Connor P M, et al. Deficiency of renal cortical EGF increases ENaC activity and contributes to salt-sensitive hypertension [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24 (7): 1053-1062.
- [39] 邹连玉, 郑丽维. PI3K/Akt 信号通路在高血压疾病防治中的研究进展[J]. 中国医学创新, 2021, 18(34): 176-179.
- [40] 李赛赛, 李平, 康楠, 等. PI3K/Akt 信号通路与心血管疾病关系的研究进展[J]. 北京医学, 2021, 43(1): 66-69; 72.

基于网络药理学和细胞实验探究天参胶囊的抗炎机制

马进财¹, 赵陇和², 李睿², 石玉琪², 王欣^{2*}, 杨兰^{1,3*}

(1. 兰州大学口腔医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学药学院, 甘肃兰州 730000; 3. 兰州大学第二医院口腔科, 甘肃兰州 730030)

摘要: 目的 通过网络药理学预测天参胶囊可能发挥抗炎作用的机制, 并进行实验验证。方法 基于TCMSP等数据库查找筛选天参胶囊的活性成分并预测其作用靶点。使用PPI、GO、KEGG分析天参胶囊的“活性成分-靶点-通路”网络, Discovery Studio对关键化合物和核心靶点进行分子对接。通过细胞实验证关键靶点。结果 天参胶囊有效成分共147种, 对应560个靶点。PPI分析显示, 天参胶囊主要作用于STAT3、TP53、JUN、Akt1、SRC、MAKP1等靶点。GO分析显示, 它们主要作用于DNA结合转录因子、RNA聚合酶II特异性DNA结合转录因子、泛素样蛋白连接酶等。KEGG分析表明, 它们可能通过PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、Toll受体信号通路、JAK/STAT信号通路等起到抗炎作用。分子对接显示, 4种关键成分与核心蛋白均有很好的结合力。体外细胞实验证明, 天参胶囊水提物可降低NO、TNF-α、IL-6水平, 并抑制JAK2/STAT3信号通路。结论 天参胶囊可能通过调控JAK2/STAT3信号通路发挥抗炎作用, 具有多成分-多靶点-多途径的特点。

关键词: 天参胶囊; 炎症; 网络药理学; JAK2/STAT3信号通路

中图分类号: R966; R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1352-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.056

天参胶囊由沙棘、枸杞子、三七、丹参、红景天、川木香、小檗皮7味中药组成, 具有益气行滞、化瘀止痛的作用, 临幊上主要用于治疗气滞血瘀所致的冠心病。研究表明, 部分治疗心血管疾病的药物可能通过抗炎作用对心血管事件起到一级和二级预防作用^[1]。然而, 天参胶囊作为治疗冠心病的临幊药物是否具有抗炎作用及其具体机制均不明确。

中药普遍具有成分复杂、靶点众多等特点, 网络药理学基于系统生物学, 探究生物-药物-疾病之间的关系, 近年来被广泛应用于研究中药药理作用机制, 推动了中药的现代化研究和开发^[2]。本研究采用网络药理学分析天参胶囊所含化学成分-靶点-通路之间的关系, 预测天参胶囊的抗炎机制并通过体外实验进行验证。

1 材料与方法

收稿日期: 2022-02-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(81403145); 甘肃省自然科学基金资助项目(20JR10RA602); 兰州大学中央高校基金项目(lzujbky-2018-136)

作者简介: 马进财(1994—), 男(回族), 硕士生, 研究方向为口腔颌面外科学。Tel: 18893840676, E-mail: majc19@lzu.edu.cn

*通信作者: 王欣(1984—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为生物制药。Tel: (0931) 8915686, E-mail: wx@lzu.edu.cn

杨兰(1959—), 女, 博士, 教授, 研究方向为口腔颌面外科学。Tel: 13609303257, E-mail: ylan2005@163.com

1.1 网络药理学研究

1.1.1 化学成分查询 从TCMSP (<http://tcmsp.com/index.php>)、TCMID (<http://119.3.41.228:8000/tcmid/>)、ETCM (<http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/>)、Chemistry Database (<http://202.127.145.134/scdb/default.asp>) 数据库和相关文献中查询天参胶囊成分所包含的化学成分。

1.1.2 有效成分筛选 口服生物利用度(OB)是口服给药时有效成分实际进入体循环的药物量, 类药性(DL)是预测一种化合物在人体内吸收、分布、代谢、排泄的过程与已知药物的相似性, 将 $OB \geq 30\%$ ^[3], $DL \geq 0.18$ ^[4]作为筛选条件, 其他有效成分根据相关文献查询获取。

1.1.3 靶点预测 通过TCMSP数据库、NPASS (<http://bidd2.nus.edu.sg/NPASS/index.php>)、SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 数据库查询有效成分的相关靶点, 最后用UniPort (<https://www.uniprot.org/>) 数据库校正靶点名称为标准名称。在数据库GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>) 中输入“inflammation”查询炎症相关基因, 汇总后去重。

1.1.4 成分-靶点网络图构建 将筛选得到的天参胶囊有效成分及其所对应的潜在靶点导入Cytoscape3.7.0软件中, 构建天参胶囊中有效成分与其潜在靶点的网络关系图。

1.1.5 PPI网络构建 获取有效成分潜在靶点以及与炎症相关基因后, 利用R语言软件获取两者的共同靶点, 并绘制Venn图。将共同靶点输入String11.0 (<https://string-db.org/>)中分析, 设置相互信值为0.970, 得到PPI网络, 根据网络中节点之间的相互作用值进行排序, 选择前30个绘制barplot图。

1.1.6 GO功能富集分析 根据PPI和拓扑学结果选择前30个基因, 利用Bioconductor(3.13)数据包, 使用R软件, 设置 $P < 0.05$, 进行GO分析, 并绘制气泡图。

1.1.7 KEGG通路富集分析 根据PPI网络分析结果, 选择前30个基因导入到DAVID 6.8数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)中, 利用数据库分析其相关信号通路并绘制信号通路图。

1.1.8 分子对接 根据成分-靶点网络图, 选择网络中度值最高的10个化合物, 并使用TCMSP、PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取其结构。根据PPI网络及barplot结果, 选择STAT3、TP53、JUN、JAK2核心蛋白, 使用PDB (<https://www.pdb.org/>)数据库下载核心蛋白3D结构。使用Discovery Studio 2.5软件进行预处理后进行分子对接, 选择评分较高的进行分析。

1.2 细胞实验

1.2.1 细胞培养 RAW264.7细胞购于美国ATCC库, 使用含10%胎牛血清及1%青链霉素混合液的高糖DMEM培养液, 在5%CO₂、37℃环境下培养。

1.2.2 药物制备 天参胶囊由沙棘1.00 g、枸杞子3.00 g、三七1.25 g、丹参1.44 g、红景天3.00 g、川木香1.00 g、

小檗皮2.00 g组成, 药材均购自北京同仁堂股份有限公司, 加适量去离子水浸泡30 min, 大火煮沸后转用小火煎煮30 min, 过滤后取滤液, 滤渣再用适量去离子水浸泡30 min, 大火煮沸后转用小火煎煮25 min, 过滤后合并2次滤液, 10 000 r/min离心10 min, 取上清定容至50 mL, 生药量为253.8 mg/mL, 经微孔滤膜过滤后于4℃下保存。

1.2.3 MTT法检测细胞活性 取对数生长期RAW264.7细胞, 调整密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$, 接种于96孔板中, 每孔100 μL, 培养过夜后弃去上清, 根据预实验结果, 每孔加含0、50、100、200 μg/mL天参胶囊水提物的培养液100 μL, 继续培养24 h后, 加入MTT溶液10 μL, 孵育4 h, 弃上清, 每孔加100 μL DMSO, 37℃静置10 min, 于490 nm波长处检测光密度(OD)值, 每组6个复孔, 重复3次。

1.2.4 Griess法检测细胞NO水平 取对数生长期细胞, 调整密度为 $2 \times 10^5/\text{mL}$, 接种于24孔板, 每孔0.5 mL, 培养过夜。细胞分为空白组、LPS组、天参胶囊组, 弃去上清液, 空白组和LPS组加不含药物的高糖DMEM培养基, 天参胶囊组加含0、50、100、200 μg/mL天参胶囊水提物的高糖DMEM培养基, 继续孵育2 h后, LPS组、天参胶囊组加1 μg/mL LPS溶液, 于5%CO₂、37℃孵育箱中继续培养24 h。取上清液, 以每孔50 μL加到96孔板中, 每组3个复孔, 加Griess试剂A, 每孔50 μL, 37℃静置10 min, 加Griess试剂B, 每孔50 μL, 37℃静置10 min, 于570 nm波长处检测各孔OD值, 根据标准曲线、OD值计算NO水平。

1.2.5 ELISA法检测细胞TNF-α、IL-6水平 取对数生长期细胞, 调整密度为 $2 \times 10^5/\text{mL}$, 接种于24孔板, 每孔0.5 mL, 培养过夜。按“1.2.4”项下方法分组给药, LPS组、天参胶囊组加1 μg/mL LPS溶液继续培养16 h, 取上清, 使用ELISA试剂盒检测TNF-α、IL-6水平, 每组3个复孔, 重复3次。

1.2.6 Western blot法检测细胞p-JAK2、p-STAT3蛋白表达 取对数生长期细胞, 以每孔 5×10^5 个的密度接种于6孔板中, 于5%CO₂、37℃孵育箱中过夜。按“1.2.4”项下方法分组给药, LPS组、天参胶囊组加1 μg/mL LPS溶液孵育4 h后, 裂解细胞提取总蛋白, 使用BCA试剂盒测定总蛋白浓度, SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白, 随后转移至PVDF膜, 使用脱脂奶粉溶液封闭, 一抗4℃孵育过夜, 洗膜后二抗孵育1 h, 再洗膜后使用化学发光仪进行检测。

1.2.7 统计学分析 通过SPSS 22.0软件进行处理, 数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学研究

2.1.1 化学成分 天参胶囊中包含沙棘、枸杞子、三七、丹参、红景天、川木香、小檗皮7种中药, 前4种所含成分均来自TCMSP, 其余来自TCMID、ETCM、Chemistry

Database 及相关文献。最终,查询得到沙棘、枸杞子、三七、丹参、红景天、川木香、小檗皮化合物分别为 223、188、119、202、118、109、6 个,删去重复后,得到沙棘 169 个,枸杞子 166 个,三七 106 个,丹参 182 个,红景天 117 个,川木香 109 个,小檗皮 6 个,共计 855 个。

2.1.2 有效成分筛选 以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为最低值筛选有效成分,其中川木香中的 santamarine、dehydrcostus lactone、emodin、ursolic acid、syringin、betulin 具有抗炎、诱导细胞凋亡、抗癌、抗病毒、免疫调节的作用^[5-11],与

炎症关系密切,用于后续分析。舍弃部分无靶点的化合物,最终沙棘、枸杞子、三七、丹参、红景天、川木香、小檗皮分别取 21、39、7、63、7、7、3 个候选化合物,总计 147 个。

2.1.3 预测靶点 沙棘、枸杞子、三七、丹参、红景天、川木香、小檗皮有效成分的相关靶点分别有 196、257、268、1 049、294、161、46 个,删去重复后共有 560 个靶点,见表 1。从数据库 GeneCards、DisGeNET 中查找炎症相关基因,将重复靶点去除,最终得到炎症相关靶点共 10 274 个。

表 1 天参胶囊所含成分、有效成分、靶点数量

中药名	所含成分数量/种	有效成分数量/种	有效成分占比/%	靶点数量/个
沙棘	169	21	12.43	196
枸杞子	166	39	23.49	257
三七	107	7	6.60	268
丹参	182	63	34.62	1 049
红景天	117	7	5.98	294
川木香	109	7	6.42	161
小檗皮	6	3	50.00	46

2.1.4 成分-靶点网络图构建及 PPI 网络分析 使用 Cytoscape3.7.0 软件^[12] 构建成分-靶点网络图(图 1A),网络共由 707 个节点、2 271 条边构成,每种成分都对应多种靶点,共 560 种。

天参胶囊有效成分对应的潜在靶点和炎症相关靶点的交集即可认为是天参胶囊抗炎的重要靶点,由 Venn 图(图 1B)可知,活性成分与炎症之间存在 483 个相同基因。为了进一步研究这 483 个基因之间的关系,利用 String 进行分

析,得到 PPI 网络(图 1C),节点代表蛋白质,连线代表蛋白之间的关系,不同颜色的连线代表此数据不同的来源,结果显示,节点数量为 482,边界数量为 742,平均节点度数为 3.08,局部平均聚集系数为 0.327。根据相互作用值计算制作 barplot 图(图 1D),获取排名前三十的基因,其中 STAT3、TP53、JUN、Akt1、SRC、MAKP1 等排名靠前,推测是天参胶囊抗炎的关键靶点。

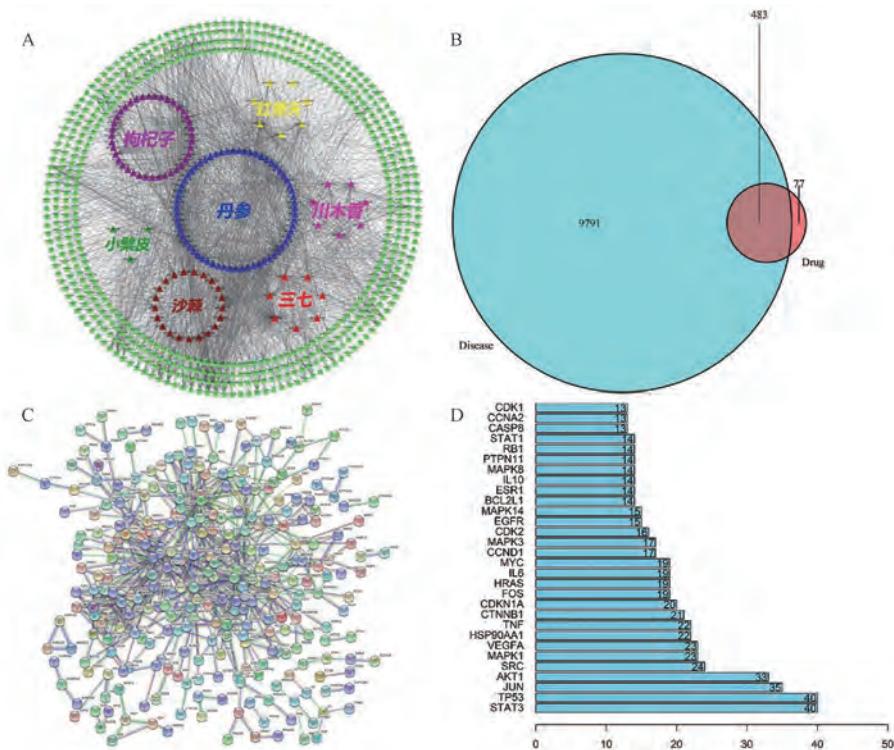


图 1 天参胶囊抗炎的网络药理学分析

2.1.5 GO 及 KEGG 富集分析 GO 分析(图 2A)显示,

天参胶囊抗炎作用主要涉及 DNA 结合转录因子、RNA 聚合

酶Ⅱ特异性DNA结合转录因子、泛素样蛋白连接酶等功能。KEGG分析(图2B)显示,天参胶囊抗炎作用与多种通路相关,其中与炎症相关的信号通路有PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、Toll受体信号通路、JAK/STAT信号

通路等。结合PPI分析结果,本研究对JAK2/STAT3信号通路进行实验验证,进一步证明天参胶囊的抗炎作用及具体机制。

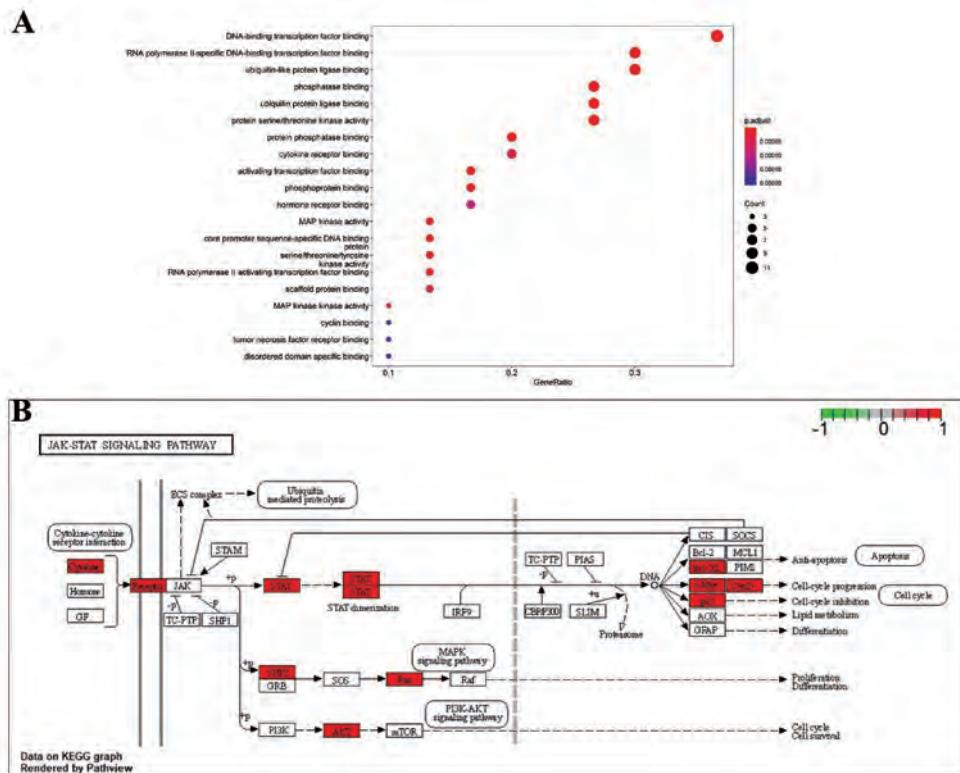


图2 GO (A)、KEGG (B) 分析

2.1.6 分子对接 根据成分-靶点网络图,选择度值最高的10个化合物分别与STAT3、TP53、JUN、JAK2进行对接,结果表明与STAT3结合较好的是luteolin(木犀草素),主要通过与氨基酸GLY 993、GLU 930、LEU 932、ASP 939形成氢键,分值为-9.239,见图3A;与TP53结合较好的是(Z)-3-[2-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl]acrylic acid,主要通过与氨基酸ASH

1521、MET 1584形成氢键,分值为-5.097,见图3B;与JUN结合较好的是kaempferol(山柰酚),主要通过与氨基酸MET 149、GLN 155形成氢键,分值为-8.908,见图3C;而与JAK2结合度较好的是quercetin(槲皮素),主要通过与氨基酸GLY 993、LEU 932、ASP 939形成氢键,分值为-8.785,见图3D。

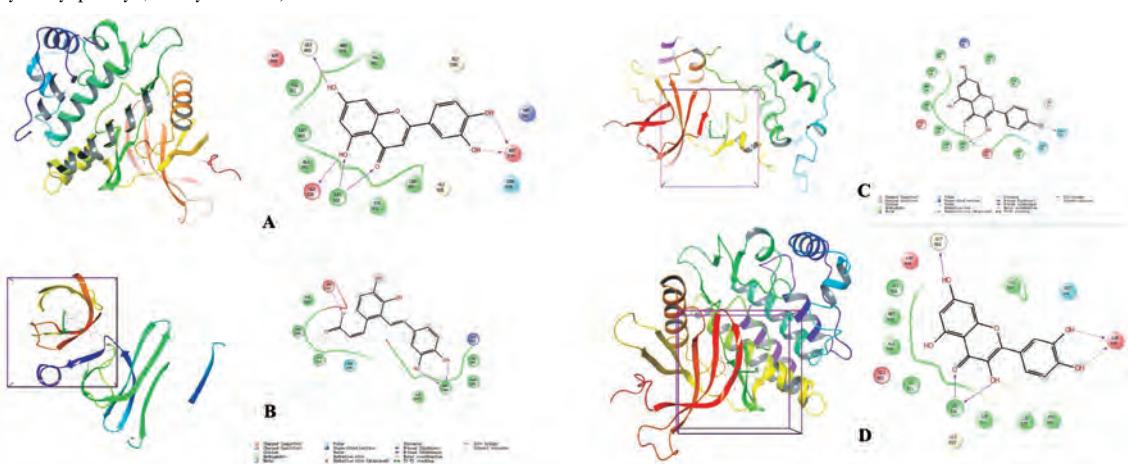
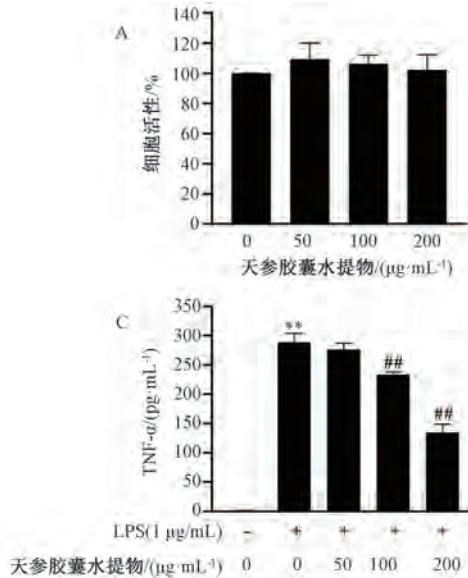


图3 分子对接图

2.2 细胞实验

2.2.1 天参胶囊水提物对 RAW264.7 细胞活性的影响 与 LPS 组比较, 50、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 天参胶囊组细胞活力无明显变化 ($P > 0.05$), 分别为 108.14%、105.60%、101.51%。由此表明, 天参胶囊水提物剂量在 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下时, 对 RAW264.7 细胞活性无影响, 可用于后续实验, 见图 4A。

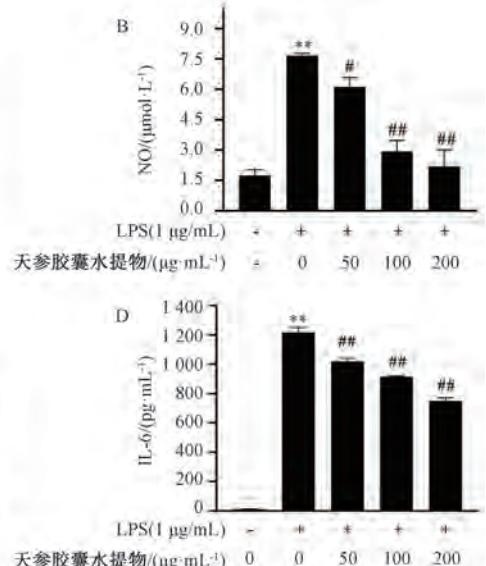


注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与 LPS 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 4 各组 RAW264.7 细胞活性 (A) 和 NO (B)、TNF- α (C)、IL-6 (D) 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.2.3 天参胶囊对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 JAK2/STAT3 通路蛋白表达的影响 如图 5 所示, 与空白组比较, LPS 组细胞 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达升高 ($P < 0.01$); 与 LPS 组比较, 天参胶囊水提物各剂量组细胞

2.2.2 天参胶囊水提物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症因子水平的影响 如图 4B~4D 所示, 与空白组比较, LPS 组细胞 NO、TNF- α 、IL-6 水平均升高 ($P < 0.01$); 与 LPS 组比较, 天参胶囊各剂量组 NO、TNF- α 、IL-6 水平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并呈剂量依赖性。由此表明, 天参胶囊水提物可通过降低 NO、TNF- α 、IL-6 水平来改善由 LPS 诱导 RAW264.7 细胞产生的炎症反应。



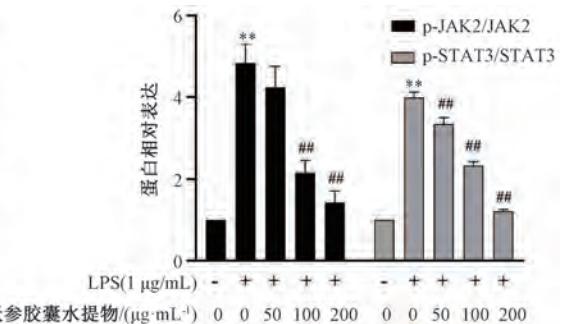
注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与 LPS 组比较, # $P < 0.01$ 。

图 5 各组细胞 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

大量实验及临床证据表明, 炎症伴随动脉粥样硬化形成的所有阶段, 而抗炎成为预防和治疗冠心病的一种有效手段^[13-14]。天参胶囊中沙棘的多糖成分可通过抑制 TLR4、p-JNK 通路减轻小鼠的炎症反应^[15]; 枸杞子的重要成分 β -胡萝卜素可有效减轻小鼠子宫的充血情况及炎症反应, 降低血清 TNF- α 和 IL-4 水平^[16]; 三七、丹参及小檗碱也被报

p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), 并呈剂量依赖性。由此表明, 天参胶囊水提物可以通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路起到抗炎作用, 验证了网络分析预测结果。



道具有显著的抗炎效应^[17-19]。

本研究首先使用 TCMSP 等数据库查找并筛选得到 147 个天参胶囊有效化学成分, 筛选相关靶点 560 个; 同时, 筛选查询到炎症相关靶点 10 274 个, 并获取成分靶点和疾病靶点的交集共计 483 个; 通过 KEGG 通路富集分析发现, 其中与炎症相关的信号通路有 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、Toll 受体信号通路、JAK/STAT 信号通路等。将

成分-靶点网络度值最高的10个关键化合物和barplot结果中排名前三的核心蛋白STAT3、TP53、JUN，以及炎症核心蛋白JAK2进行分子对接，得到结合度最高的4个化合物luteolin（木犀草素）、(Z)-3-{2-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl}acrylic acid、kaempferol（山柰酚）、quercetin（槲皮素），均被证实具有抗炎效应^[20-22]。以上网络药理学分析结果表明，天参胶囊可以通过抗炎作用进而发挥药效活性。

本研究利用LPS诱导建立RAW264.7细胞炎症模型，发现天参胶囊水提物可以呈剂量依赖性地降低NO、TNF-α、IL-6水平，具有明确的抗炎作用。此外，结合网络药理学预测结果，本研究选择JAK/STAT信号通路进行验证。JAK/STAT信号通路可调控众多炎症、肿瘤、免疫性疾病，是膜到核信号转导的重要通路^[23]。JAK/STAT信号通路可被LPS激活，发生JAKs磷酸化，进一步使得STATs磷酸化，磷酸化的STATs形成二聚体，转移到细胞核中，调节多种促炎因子的表达^[24]。本研究结果显示，LPS诱导后细胞p-JAK2、p-STAT3蛋白表达均升高，而天参胶囊水提物干预后p-JAK2、p-STAT3蛋白表达均降低，说明天参胶囊水提物可以抑制JAK2及STAT3的磷酸化，提示其可通过抑制JAK2/STAT3通路从而发挥抗炎作用。

综上所述，本研究借助网络药理学方法分析了天参胶囊的抗炎作用机制，并结合实验进行验证，初步证实了天参胶囊能够发挥抗炎作用进而达到治疗冠心病的目的，为进一步挖掘其活性成分的药理作用和临床应用提供了参考。

参考文献：

- [1] Golia E, Limongelli G, Natale F, et al. Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2014, 16(9): 435.
- [2] Zhang R Z, Zhu X, Bai H, et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: Review and assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 123.
- [3] Yu W, Li Z H, Long F, et al. A systems pharmacology approach to determine active compounds and action mechanisms of Xipaiy KuiJie'an enema for treatment of ulcerative colitis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1189.
- [4] Tao W Y, Xu X, Wang X, et al. Network pharmacology-based prediction of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal *Radix Curcumae* formula for application to cardiovascular disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(1): 1-10.
- [5] Al-Attas A A, El-Shaer N S, Mohamed G A, et al. Anti-inflammatory sesquiterpenes from *Costus speciosus* rhizomes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 176: 365-374.
- [6] Cho J Y, Nam K H, Kim A R, et al. In-vitro and in-vivo immunomodulatory effects of syringin [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53(9): 1287-1294.
- [7] Fang L, Zhao F, Iwanowycz S, et al. Anticancer activity of emodin is associated with downregulation of CD155 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105763.
- [8] Singireesu S S N R, Mondal S K, Misra S, et al. Dehydrocostus lactone induces prominent apoptosis in kidney distal tubular epithelial cells and interstitial fibroblasts along with cell cycle arrest in ovarian epithelial cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 956-969.
- [9] Wu C C, Chen M S, Cheng Y J, et al. Emodin inhibits EBV reactivation and represses NPC tumorigenesis [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(11): 1795.
- [10] Yin F, Feng F, Wang L, et al. SREBP-1 inhibitor betulin enhances the antitumor effect of sorafenib on hepatocellular carcinoma via restricting cellular glycolytic activity [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(9): 672.
- [11] Zhang J, Liu F J, Zhang X. Inhibition of proliferation of SGC7901 and BGC823 human gastric cancer cells by ursolic acid occurs through a caspase-dependent apoptotic pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 6846-6854.
- [12] Doncheva N T, Morris J H, Gorodkin J, et al. Cytoscape StringApp: Network analysis and visualization of proteomics data [J]. *J Proteome Res*, 2019, 18(2): 623-632.
- [13] Wolf D, Ley K. Immunity and inflammation in atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2019, 124(2): 315-327.
- [14] Zhu Y H, Xian X M, Wang Z Z, et al. Research progress on the relationship between atherosclerosis and inflammation [J]. *Biomolecules*, 2018, 8(3): 80.
- [15] 王昕旭, 王雪, 张晓慧, 等. 沙棘多糖对扑热息痛诱导的小鼠肝损伤保护作用的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(7): 972-975.
- [16] Yang X Z, He Z Y, Hu R Z, et al. Dietary β-carotene on postpartum uterine recovery in mice: Crosstalk between gut microbiota and inflammation [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 744425.
- [17] Wang S Y, Tao P, Hu H Y, et al. Effects of initiating time and dosage of *Panax notoginseng* on mucosal microvascular injury in experimental colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(47): 8308-8320.
- [18] 何涛宏, 陈敏, 郝亮亮, 等. 盐酸小檗碱对溃疡性结肠炎大鼠炎症的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(21): 3461-3464.
- [19] Luo J M, Zhang L, Zhang X Y, et al. Protective effects and active ingredients of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts on airway responsiveness, inflammation and remodeling in mice with ovalbumin-induced allergic asthma [J]. *Phytomedicine*, 2019, 52: 168-177.
- [20] Hu Y, Gui Z P, Zhou Y N, et al. Quercetin alleviates rat osteoarthritis by inhibiting inflammation and apoptosis of chondrocytes, modulating synovial macrophages polarization to M2 macrophages [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 145: 146-160.
- [21] Fei J L, Liang B, Jiang C Z, et al. Luteolin inhibits IL-1β-induced inflammation in rat chondrocytes and attenuates

- osteoarthritis progression in a rat model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 1586-1592.
- [22] Bian Y F, Dong Y Y, Sun J J, et al. Protective effect of kaempferol on LPS-induced inflammation and barrier dysfunction in a coculture model of intestinal epithelial cells and intestinal microvascular endothelial cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(1): 160-167.
- [23] Villarino A V, Gadina M, O'shea J J, et al. SnapShot: Jak-STAT signaling II [J]. *Cell*, 2020, 181(7): 1696-1696.e1.
- [24] Rawlings J S, Rosler K M, Harrison D A. The JAK/STAT signaling pathway [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117 (Pt 8): 1281-1283.

基于网络药理学探讨雷公藤多苷治疗桥本病的潜在作用机制

张国玉¹, 燕树勋^{2,3*}

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450099; 3. 国家中医药管理局湖北陈氏瘿病学术流派传承工作室河南工作站, 河南 郑州 450002)

摘要: 目的 探讨雷公藤多苷治疗桥本病的潜在作用机制。方法 利用TCMSP数据库、文献挖掘获得雷公藤多苷活性成分, PharmMapper数据库预测活性成分靶点, GeneCards、OMIM数据库获得桥本病相关靶点, 利用Venn在线工具筛选两者的交集基因, STRING平台构建蛋白相互作用(PPI)网络, DAVID数据库对交集基因进行GO功能、KEGG通路富集分析, 构建活性成分-靶点-通路网络。最后通过分子对接工具SYBYL X2.0进行分子对接。结果 筛选出雷公藤多苷活性成分30种, 成分靶点82个, 疾病靶点1373个, 交集靶点38个, GO分析8个条目, KEGG分析46条通路, 成分-靶点网络的重要靶点与成分-桥本病靶点-通路网络的重要靶点的交集是CASP3、EGFR、MAPK1、MAPK8, 雷公藤弗定B1是唯一与4个靶点均有关联的化合物。分子对接结果显示, 雷公藤弗定B1与交集靶点结合良好。结论 雷公藤多苷中多种活性成分通过调控NF-κB、MAPK、PI3K/Akt等信号通路作用于介导细胞凋亡的CASP3、EGFR等多个靶点来治疗桥本病。

关键词: 雷公藤多苷; 桥本病; 网络药理学; 凋亡

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)04-1358-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.057

雷公藤多苷是雷公藤根部去皮后经粉碎、乙醇浸泡等工艺, 得到二萜类、三萜类、生物碱等活性成分, 按比例调配所得。Qu等^[1]发现, 雷公藤多苷片涵盖了雷公藤中发现的大多数成分, 现代药理研究证实其具有免疫抑制、抗炎、肾脏保护和抗肿瘤等作用^[2], 临幊上广泛用于肾病综合征、类风湿性关节炎、自身免疫性肝炎等自身免疫性疾病, 有“中草药激素”之称。桥本病是临幊常见的自身免疫性甲状腺疾病, 是甲状腺功能减退症的最主要原因, 增加身体和精神相关疾病的发病率, 甚者出现黏液性水肿昏迷^[3]。网络药理学融合了医学、计算生物学、生物信息学、网络分析等多学科, 实现从药物成分到疾病之间靶点、基因、途径的综合网络分析, 阐述药物对疾病的作用机制。本研究采用网络药理学方法分析雷公藤多苷治疗桥本病的作用机制, 以期为雷公藤多苷治疗桥本病的基础实验研究及临床研究提供方向。

1 材料与方法

1.1 雷公藤多苷成分及靶点筛选 在TCMSP数据库^[4] (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 中搜索“雷公藤”, 根据口服利用度(OB)≥30%^[5]、类药性(DL)≥0.18^[6]、相对分子质量(MW)<500、氢键供体数目(Hdon)<5、油水分配系数(AlogP)<5进行筛选; 部分活性成分不符合上述筛选原则, 或在TCMSP数据库中没有收录, 则根据其结构图在SwissADME网站 (<http://www.swissadme.ch/>) 依据胃肠道吸收、类药性指标再次进行评估^[7-9]。对所有符合标准的活性成分在TCMSP数据库中下载或制作对应的mol2格式文件, 导入PharmMapper数据库 (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 分别检索上述活性成分对应的人体作用靶点^[10-12], 根据拟合分数(fit score)≥0.9得到预测化合物对应的靶蛋白。为标准化靶蛋白信息, 统一在Uniprot数据库 (<https://www.uniprot.org>)

收稿日期: 2021-08-07

基金项目: 河南省科技创新杰出青年支持计划(174100510022)

作者简介: 张国玉(1984—), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向为中医药防治内分泌系统疾病

*通信作者: 燕树勋(1974—), 男, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治内分泌疾病临床研究。E-mail: ysx982001@