

运用网络药理学和分子对接探讨肿节风治疗流行性感胃的药理作用机制

赖艳妮¹, 徐卫方², 刘小虹³, 詹少锋³, 黄慧婷³, 李 耿^{4*}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学深圳医院, 广东 深圳 518000; 3. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 4. 广州中医药大学实验动物中心, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 探讨肿节风治疗流行性感胃的潜在药理作用机制。**方法** 从TCMSP数据库中筛选候选药物分子, 运用PTS、BATMAN-TCM工具预测其潜在靶点。从Polysearch2及String数据库中获得流行性感胃的相关靶点。使用Draw Venn Diagram在线工具对药物及疾病的潜在靶点进行韦恩图叠加分析, 对两者交集的靶蛋白进行药物-靶点-疾病网络和PPI网络的构建。采用Metascape及ClueGO工具进行GO、KEGG富集分析及网络可视化。另外, 使用sybyl2.1.1软件进行流感病毒复制关键蛋白(神经氨酸酶、核蛋白、非结构蛋白2)与候选分子的分子对接。**结果** 共筛选出12个候选活性分子和12个与机体免疫相关的潜在靶蛋白。EIF2AK2、PTPN1、JAK3、JAK1、JAK2、STAT3、PTPN11、EGFR、TYK2、IKBKE、STAT1、PTPN2等关键基因主要通过肽基酪氨酸磷酸化、MAP激酶活性的正调节、I型干扰素介导的信号传导途径的调节、干扰素产生的调节、Jak-STAT信号通路和趋化因子信号通路等生物途径发挥效应。分子对接结果表明, 与NA、NP和PB2对接打分最高的活性分子分别是(2*R*)-3-(3, 4-dihydroxyphenyl)-2-[(*Z*)-3-(3, 4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid、quercetin(槲皮素)及 β -sitosterol(β -谷甾醇)。**结论** 肿节风治疗流行性感胃具有多成分、多靶点的特点, 其主要通过调控机体免疫反应及直接抑制病毒复制发挥抗流感病毒的作用。

关键词: 肿节风; 网络药理学; 流行性感胃; 固有免疫

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)05-1350-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.05.048

肿节风 *Herba Sarcandrae* 为金粟兰科草珊瑚属的干燥全草, 广泛分布于我国长江以南地区, 尤其是岭南地区。肿节风性平、味辛苦, 入心、肝经, 具有清热解毒、活血消斑等功效, 其相关制剂肿节风注射液、肿节风片、肿节风颗粒常用于治疗呼吸道感染性疾病, 如急性上呼吸道感染、肺炎、疱疹性咽峡炎等^[1-3]。临床发现肿节风制剂能有效的减轻患者咳嗽、发热、流涕、咽部红肿、气急等症状。现代药理研究表明, 肿节风具有抗炎^[4]、抗菌^[5]及抗流感病毒^[6]等多重药理作用。但其发挥抗流感病毒药效的具体有效成分及作用机制尚未明确。网络药理学是近年来兴起的结合整体网络分析和药理作用的一门新学科, 通过网络分析的方法从分子水平研究疾病-靶点-药物有效成分间的互作效应和潜在的分子机制^[7]。分子对接作为现代筛选药物活性成分的手段, 被广泛用于研究先导化合物的发现、结构优化及化合物与靶点间的相互作用^[8]。本研究借助网络

药理学和分子对接的方法, 从机体免疫和直接抑制病毒复制2个途径对肿节风治疗流行性感胃的有效成分和作用机制进行研究和探讨, 以期为进一步了解肿节风治疗流行性感胃的药理作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database, TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/index.php>)、Pharmaceutical Target Seeker在线工具(PTS, <http://www.redd.org.cn/PTS/search>)、BATMAN-TCM中药分子机制的生物信息学分析工具(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)、Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>)、PolySearch2在线工具(<http://polysearch.ca>)、STRING数据库(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)、Draw Venn Diagram在线工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/>)

收稿日期: 2019-12-17

基金项目: 广州中医药大学一流学科研究重点项目(2018-2020); 病毒学国家重点实验室开放项目(2016IOV003)

作者简介: 赖艳妮(1991—), 女, 博士生, 从事中西医结合防治呼吸系统疾病研究。Tel: (020) 36585525, E-mail: laianni1204@163.com

* 通信作者: 李 耿(1983—), 男, 副教授, 硕士生导师, 从事中药抗病毒药效物质基础研究。Tel: (020) 36585525, E-mail: lg@gzucm.edu.cn

webtools/Venn/)、Cytoscape3.7.1 软件、Metascape 在线工具 (<http://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)、Sybyl2.1.1 软件。

1.2 肿节风有效成分收集及筛选 利用 TCMSP 数据库获得肿节风所有已知的化学成分, 将口服生物利用度 ($OB \geq 30\%$) 和类药性 ($DL \geq 0.18$) 作为阈值筛选候选化合物。异秦皮啶、反丁烯二酸作为肿节风的主要活性成分, 虽然其 OB 值和/或 DL 值没有达到筛选阈值, 但因其具有抗炎、抗感染等多种药理作用^[9-10], 因此在此将其纳为候选化合物。TCMSP 是一个中草药系统药理学平台, 用于寻找药物、靶点和疾病之间的关系。该数据库提供了较为全面的化学成分的人体吸收、分布、代谢及排泄 (ADME) 性质评价数据^[11]。

1.3 肿节风候选药物潜在靶点的预测与收集 使用 Pharmaceutical Target Seeker (PTS)、BATMAN-TCM 数据库预测肿节风候选化合物潜在的靶点, 采用 shape+feature 筛选模式, 并将 Similarity threshold ≥ 0.6 设置为阈值。并从 Uniprot 数据库中获得潜在靶点对应的基因。PTS 是一个基于药物结构预测蛋白质靶点的在线工具^[12], 通过比较化合物结构与实验配体结构, 在蛋白质靶标上搜索基于静态和空间形状比较的生物活性化合物。BATMAN-TCM (a Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechANism of Traditional Chinese Medicine) 数据库是第一个专门为研究中药分子机制而设计的在线生物信息学分析工具, 可预测每个查询 TCM 成分的潜在目标并进行功能分析。Uniprot 数据库是一个收录蛋白质资源且是收录最为广泛、功能注释最全面的数据库。

1.4 流行性感冒疾病相关靶点的获取与收集 从 PolySearch2 服务器中获得与流行性感冒相关联的靶点, 并使用 String 获取更多与目标疾病相关的靶点。PolySearch2 (<http://polysearch.ca>) 是一个在线文本挖掘系统, 用于识别生物医学实体之间的关系, 如人类疾病、基因、蛋白质、药物、代谢物、代谢途径、器官、组织等^[13]。String 数据库是一个搜索已知蛋白质之间和预测蛋白质之间相互作用的数据库, 该数据库目前收集了 2 031 个物种约 9 600 000 个蛋白质的信息, 网络边的来源包含实验数据、从 PubMed 摘要文本挖掘的数据、数据库数据, 还有利用生物信息学的方法预测的结果。该系统利用一个打分机制对这些不同方法得来的结果给予一定的权重, 最终给出一个综合的网络结构。

1.5 肿节风治疗流行性感冒药物-靶点-疾病互作网络的构建 获得肿节风治疗流行性感冒的候选药物、对应潜在靶点后, 利用 Cytoscape3.7.1 软件构建药物-靶点-疾病互作网络并进行可视化。Cytoscape 是一个开源软件平台, 用于可视化分子相互作用网络和生物途径, 并将这些网络与注释, 基因表达谱和其他状态数据相结合。采用力导向算法构建网络, 使网络中各个节点合理安排并产生清晰的视觉效果。

1.6 基因功能注释及 KEGG 分析 基因本体论 (gene on-

tology, GO) 及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析有助于了解目的基因主要涉及的分子功能和生物过程。采用 Metascape、ClueGO 插件进行 GO 和 KEGG 富集分析, 使用 P-value 值反应蛋白质群生物学功能的显著性。Metascape 是一个基于网络的门户网站, 旨在为实验生物学家提供全面的基因列表注释和分析资源^[14]。其整合了 GO、KEGG、UniProt 和 DrugBank 等多个数据库资源。ClueGO 是 Cytoscape 的一个插件, 可在功能分组网络中显示大型基因簇的非冗余生物学术语。ClueGO 网络使用 kappa 统计数据创建, 并根据相关基因的相似性反映术语之间的关系。

1.7 针对病毒复制关键蛋白的分子对接 从 PDB 数据库中获取流感病毒复制相关蛋白质——神经氨酸酶 (neuraminidase, NA)、核糖蛋白 (nucleoprotein, NP) 和非结构蛋白 2 (non-structural protein -2, PB2), 将筛选出来的 12 个候选活性分子建成一个分子库, 加氢赋予电荷, 能量最小化后在 Tripos 立场下进行结构优化, 采用 sybyl2.1.1 对接软件进行半柔性的分子对接运算。对接参数为阈值参数 0.5, 膨胀系数 1, 其他参数为默认值。根据 Total-Score 函数进行结果的综合打分, 此函数综合了疏水、极性、焓和溶剂化等因素, 函数值越大, 则对接复合物越稳定^[15]。

2 结果

2.1 肿节风-流行性感冒靶点韦恩图分析 将获取的药物靶标与目标疾病关联的靶标进行韦恩图的叠加分析, 可以快速获得药物与目标疾病相互作用的目标基因/靶点。如图 1 所示, 从 String 中获得的流行性感冒相关的靶标有 126 个, 肿节风预测获得的靶点有 505 个, 其中, 药物-疾病靶点重合叠加的靶点有 12 个, 分别是 EIF2AK2、PTPN1、PTPN2、JAK3、JAK1、JAK2、STAT3、PTPN11、EGFR、TYK2、IKBKE、STAT1。结果提示, 肿节风是通过作用于其中的 12 个靶点发挥治疗流行性感冒药效的。

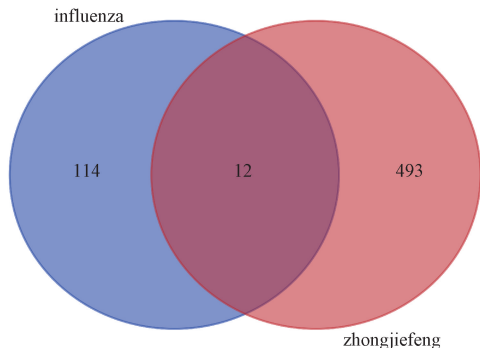


图 1 肿节风-流行性感冒靶点韦恩图

2.2 肿节风治疗流行性感冒靶点的 PPI 网络分析 构建药物治疗目标疾病潜在靶点的蛋白互作网络 (protein protein interaction network, PPI network), 有助于从系统的角度研究疾病分子机制, 更直观地了解药物治疗目标疾病潜在靶标之间的相互作用和关联。借助 string 工具构建肿节风治疗流行性感冒潜在靶点的 PPI 网络 (图 2), 圆圈节点

(node) 代表蛋白质，圆圈节点之间的直线 (edge) 代表该直线连接的 2 个蛋白之间的相互作用关系，线条的粗细代表两两蛋白之间相互作用的强度大小。如图 2 所示，12 个潜在靶蛋白形成的 PPI 网络中，蛋白间的互作连线均大于 2，即每个潜在靶蛋白都不是孤立于网络之外的。

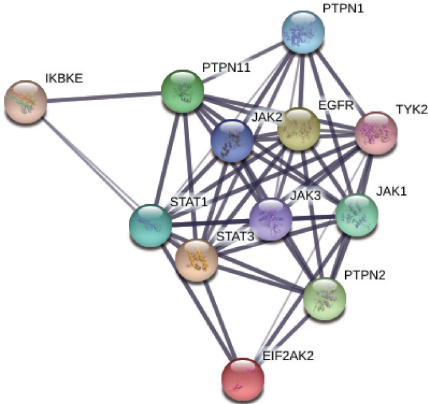
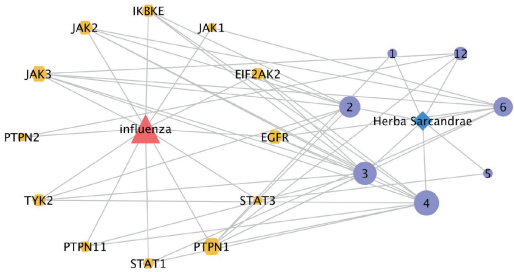


图 2 肿节风治疗流行性感冒靶点 PPI 互作网络

2.3 肿节风治疗流行性感冒的药物-靶点-疾病网络图分析 对网络进行拓扑结构的参数分析，有助于发现网络中发挥主要作用的中心分子（中心靶点和中心药物分子）。如图 3 所示，肿节风治疗流行性感冒的药物-靶点相互作用网络中共有个 21 节点（7 个候选化合物和 12 个潜在蛋白靶点）和 420 条边。六边形节点为潜在蛋白靶点，圆形节点为候选化合物，菱形节点为中药肿节风，三角形节点为疾病流行性感冒。节点间的直线代表相互作用关系。节点的大小与节点度成正比关系，节点越大，则其节点度越高，

代表该药物/蛋白在网络中的角色越为重要。网络异质性参数（Network heterogeneity）为 0.551，集中性参数（Network centralization）为 0.379。



注：六边形节点为潜在蛋白靶点，圆形节点为潜在候选化合物，菱形节点为中药肿节风，三角形节点为疾病流行性感冒。

图 3 肿节风治疗流行性感冒药物-靶点-疾病互作网络

所筛出来的 7 个化合物中（表 1），有 2 个化合物具有相关抗病毒作用的报道，化合物 quercetin 具有直接抗流感病毒的作用^[16]，化合物 β -sitosterol 具有抗乙型肝炎病毒^[17]、抗单纯疱疹病毒（HSV-2）^[18]及抗人类免疫缺陷病毒（HIV）^[19]的药理作用。分析候选化合物的网络参数可知，化合物 β -sitosterol（degree = 10）、quercetin（degree = 9）、anhydroicaritin（degree = 8）、chloranthalactone A（degree = 7）在网络中的参与度排名较前，提示这 4 个化合物可能是肿节风发挥抗流感病毒药效的主要有效成分。相应的，靶点节点度排名靠前的（表 2）有 PTPN1（degree = 6）、EGFR（degree = 5）、JAK2（degree = 5）、JAK3（degree = 5）。

表 1 筛选出来候选化合物的相关信息

编号	名称	OB/%	DL	度值	中间性	已报道的相关抗病毒药理作用
1	谷固醇	36.91	0.75	2	0.001 7	无
2	脱水淫羊藿素	45.41	0.44	8	0.061 8	无
3	槲皮素	46.43	0.28	9	0.085 9	抗流感病毒
4	β -谷甾醇	36.91	0.75	10	0.117 1	抗 HBV、抗 HSV-2、抗 HIV
5	chloranoxide a_qt	84.11	0.23	2	0.011	无
6	氯醌内酯	41.72	0.18	7	0.072 0	无
7	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acryloyl] oxy-propionic acid	109.38	0.35	-	-	-
8	氯蒽酮 A	80.1	0.2	-	-	-
9	球松素	41.92	0.2	-	-	-
10	黄杞苷	35.27	0.7	-	-	-
11	异秦皮啶	52.32	0.1	-	-	-
12	反丁烯二酸	14.74	0.01	4	0.028	无

注：“-”代表此化合物虽被初步筛选为候选化合物,但并未关联到与流行性感冒相关的对应靶点;“无”代表此化合物虽关联到与流行性感冒相关的对应靶点,但目前并无相关抗病毒的报道。

2.4 GO 及 KEGG 富集分析 对药物-疾病靶点重合叠加的 12 个靶点进行 GO 及 KEGG 富集分析。分子功能（Molecular Function, MF）富集结果共包含 26 个条目，前 20 个条目包括非膜跨越蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、生长激素受体结合、蛋白磷酸酶结合、CCR5 趋化因子受体结合、Ras 鸟苷-核苷酸交换因子活性、蛋白激

酶活性、蛋白激酶结合、ATP 结合、受体酪氨酸激酶结合、蛋白质结合、蛋白酪氨酸磷酸酶活性、非膜跨越蛋白酪氨酸磷酸酶活性、肽激素受体结合、1 型血管紧张素受体结合、胰岛素受体底物结合、泛素蛋白连接酶结合、钙黏蛋白结合参与细胞-细胞粘附、蛋白磷酸酶 2 A 结合和酶结合。

表 2 肿节风治疗流行性感胃潜在核心靶点

编号	基因名称	Uniprot ID	蛋白名称	度值
1	PTPN1	P18031	酪氨酸蛋白磷酸酶 1 型非受体	6
2	JAK3	P52333	酪氨酸蛋白激酶 JAK3	5
3	JAK2	O60674	酪氨酸蛋白激酶 JAK2	5
4	EGFR	P00533	表皮生长因子受体	5
5	TYK2	P29597	非受体酪氨酸蛋白激酶 TYK2	4
6	IKBKE	Q14164	核因子 κ-B 激酶亚基 epsilon 的抑制剂	4
7	EIF2AK2	P19525	干扰素诱导的双链 RNA 激活蛋白激酶	4
8	STAT1	P42224	信号转导和转录激活因子 1-α/β	3
9	PTPN11	Q06124	酪氨酸蛋白磷酸酶 11 型非受体	3
10	JAK1	P23458	酪氨酸蛋白激酶 JAK1	2
11	STAT3	P40763	信号转导和转录激活因子 3	2
12	PTPN2	P17706	酪氨酸蛋白磷酸酶 2 型非受体	2

生物过程（Biological Process, BP）富集结果共有 55 个条目，前 20 个条目包括调节 I 型干扰素介导的信号通路、调节干扰素-γ 介导的信号通路、JAK-STAT 级联参与生长激素信号通路、肽基酪氨酸自磷酸化、蛋白质磷酸化、肽基酪氨酸磷酸化、先天免疫反应、细胞迁移、JAK-STAT 级联、激活 MAPKK 活性、MAPK 级联、I 型干扰素信号通路、干扰素-γ 介导的信号传导途径、调节肝细胞生长因子受体信号通路、生长因子依赖性骨骼肌卫星细胞增殖的正调节、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶信号通路、肽基酪氨酸去磷酸化、细胞增殖的负调节、葡萄糖稳态及细胞内信号转导。

细胞组分（Cellular Component, CC）富集结果共有 9 个条目，包括质膜细胞质侧的外在成分、细胞质、核、骨架、细胞质、膜、细胞-细胞粘附连接、细胞质的核周区域和内膜系统。

GO 富集分析结果显示（图 4），根据 *P-value* 值排在前五位的分别是肽基酪氨酸磷酸化（peptidyl-tyrosine phospho-

rylation），MAP 激酶活性的正调节（positive regulation of MAP kinase activity），I 型干扰素介导的信号传导途径的调节（regulation of type I interferon-mediated signaling pathway），干扰素产生的调节（regulation of type interferon production）和血细胞生成的调节（regulation of hemopoiesis）提示 11 个靶点与 MAP 激酶活性的正调节及 I 型干扰素介导的信号通路强烈相关。

KEGG 富集结果共有 23 个条目，包括麻疹、丙型肝炎、Jak-STAT 信号通路、单纯疱疹感染、甲型流感、弓形体病、Epstein-Barr 病毒感染、胰腺癌、调节干细胞多能性的信号通路、乙型肝炎、趋化因子信号通路、病毒致癌作用、脂肪细胞因子信号通路、利什曼病、催乳素信号通路、胰岛素抵抗、PI3K-Akt 信号通路、破骨细胞分化、癌症的途径、肺结核、癌症中的蛋白多糖、炎症性肠病（IBD）、幽门螺杆菌感染中的上皮细胞信号传导。将富集条目与各目的基因间的关联采用网络的形式展示出来可更直观地了解靶点与信号通路及分子功能间的关系（图 5）。

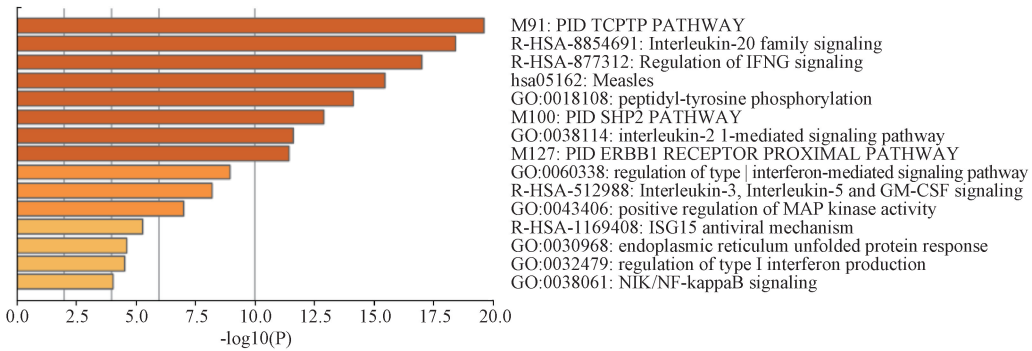


图 4 GO 富集热图

2.5 针对流感病毒复制周期关键蛋白分子对接结果 选取流感病毒复制周期过程中 3 个关键蛋白——神经氨酸酶（NA）、核糖蛋白（NP）和非结构蛋白 2（PB2）作为对接目标蛋白，其 PDB ID 分别为 4HZZ、3RO5 和 2VQZ。NA 可裂解唾液酸并启动病毒的释放，NP 可防止病毒 RNA 复制合成中的中断，PB2 可识别和结合宿主细胞聚合酶 2 转录的帽状结构并起始 RNA 的转录。一般认为 total-score ≥ 6 认

为化合物有较好活性，total-score ≥ 9 有非常好的活性^[15]。各自目标蛋白原形分子配体的重新对接打分均>8，确保了对接程序的有效性。12 个候选活性分子与各个蛋白的对接打分情况见表 3，与 NA、NP 和 PB2 对接打分最高的活性分子分别是（2*R*）-3-（3，4-dihydroxyphenyl）-2- [（*Z*）-3-（3，4-dihydroxyphenyl）acryloyl] oxy-propionic acid、quercetin（槲皮素）及 β-sitosterol（β-谷甾醇）。

旁分泌的形式与靶细胞上的受体结合，进一步活化 JAK 激酶并使下游的 STAT1 和 STAT2 磷酸化，从而介导 STAT 进入细胞核，形成大量的干扰素刺激基因因子 3（IFN-stimulated gene factor 3, ISGF3），最终导致大量抗病毒分子的表达，发挥抗病毒效应^[22]。

Th1/Th2 的失衡与流感病毒的感染进程密切相关。Th1 细胞分泌的 IL-2 本身没有直接抗病毒作用，但它可以活化 T 细胞介导细胞免疫，同时激活巨噬细胞，诱导杀伤细胞产生 IFN- γ 等细胞因子，参与并增强机体抗病毒和免疫调节作用^[23]。而 Th2 可分泌 IL-4、IL-5 增强机体体液免疫应答反应^[24]。当机体感染流感病毒时，Th1/Th1 细胞亚群的平衡有利于机体发挥抗病毒效应，减少炎症对机体的损伤。

Th17 细胞是辅助性 T 淋巴细胞的一个亚群，其分泌的 IL-17 既能诱导粒细胞聚集和成熟，发挥抗炎作用；同时又可诱导炎症因子、趋化因子和机制金属蛋白酶，发挥促炎作用^[25]；另外，研究发现甲型 H1N1 流感患者 Th17 细胞较健康患者显著下降，而病发病毒性肺炎患者 Th17 淋巴细胞则比甲型流感患者下降更为显著，提示 Th17 细胞可能有清除甲型 H1N1 流感病毒的作用^[26-27]。

在筛选出来的 7 个候选化合物中 quercetin 已有体内外抗流感病毒的报道^[16]， β -sitosterol 具有抗乙型肝炎病毒^[17]、抗单纯疱疹病毒（HSV-2）^[18]及抗人类免疫缺陷病毒（HIV）^[19]的多种抗病毒的药理作用。其余化合物的抗流感病毒活性值得进一步的体内外实验验证。综上所述，肿节风治疗流行性感冒具有多成分、多靶点的特点，利用网络药理学和分子对接的方法可以快速全面地了解肿节风抗流感病毒的药理作用机制，同时为进一步发现新的有效成分和药理作用提供了理论依据。

参考文献：

[1] 黄美红. 肿节风注射液治疗小儿急性上呼吸道感染疗效观察[J]. 实用中西医结合临床, 2011, 11(2): 50-51.

[2] 宋 辉. 肿节风治疗流行性腮腺炎 40 例临床疗效观察[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(15): 50-51.

[3] 许乐文. 肿节风佐治小儿支气管肺炎 40 例临床观察[J]. 中医药导报, 2006, 12(2): 44-45.

[4] Wang M, Zhao J, Zhao Y, *et al.* A new coumarin isolated from *Sarcandra glabra* as potential anti-inflammatory agent[J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(16): 1796-801.

[5] 王 靖, 杜 民. 肿节风片与柴银、双黄连、祛痰口服液体外抑菌效果比较[J]. 上海医药, 2008, 29(2): 80-82.

[6] Cao H J, Tan R R, He R R, *et al.* *Sarcandra glabra* extract reduces the susceptibility and severity of influenza in restraint-stressed mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 236-539.

[7] Hopkins Andrew L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. *Nature chemical biology*, 2008, 4(11): 682-690.

[8] 刘景陶, 刘映雪. 计算机辅助药物设计在分子对接中的应用[J]. 科技创新与应用, 2016(34): 67.

[9] 李际强, 梁浩斌, 黎 雄. 中药肿节风抗感染作用研究进展[J]. 江西中医药大学学报, 2017, 29(2): 113-116.

[10] 韩 倩, 武晓林. 肿节风化学成分和药理作用研究进展[J]. 吉林农业, 2017(8): 63-64.

[11] Ru J L, Li P, Wang J N, *et al.* TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminformatics*, 2014, 6(1): 13.

[12] Peng D, Xin Y, Zhihong L, *et al.* PTS: a pharmaceutical target seeker[J]. *Database*, 2017: 1-7.

[13] Liu Y, Liang Y, Wishart D. PolySearch2: a significantly improved text-mining system for discovering associations between human diseases, genes, drugs, metabolites, toxins and more[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(W1): W535-W542.

[14] Zhou Y, Zhou B, Pache L, *et al.* Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.

[15] Bhojwani H R, Joshi U J. Pharmacophore and docking guided virtual screening study for discovery of type i inhibitors of vegfr-2 kinase[J]. *Curr Comput Aided Drug Des*, 2017, 13(3): 186-207.

[16] Vaidya B, Cho S Y, Oh K S, *et al.* Effectiveness of periodic treatment of quercetin against influenza a virus H1N1 through modulation of protein expression[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(21): 4416-4425.

[17] Parvez M K, Tabish Rehman M, Alam P, *et al.* Plant-derived antiviral drugs as novel hepatitis B virus inhibitors: cell culture and molecular docking study[J]. *Saudi Pharm J*, 2019, 27(3): 389-400.

[18] Toujani M M, Rittà M, Civra A, *et al.* Inhibition of HSV-2 infection by pure compounds from thymus capitatus extract *in vitro* [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(8): 1555-1563.

[19] Nzowa L K, Teponno R B, Tapondjou L A, *et al.* Two new tryptophan derivatives from the seed kernels of *Entada rheedii*: effects on cell viability and HIV infectivity[J]. *Fitoterapia*, 2013, 87: 37-42.

[20] Xu T, Li S, Sun Y, *et al.* Systematically characterize the absorbed effective substances of Wutou decoction and their metabolic pathways in rat plasma using UHPLC-QTOF-MS combined with a target network pharmacological analysis[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 141: 95-107.

[21] Killip M J, Fodor E, Randall R E. Influenza virus activation of the interferon system[J]. *Virus Res*, 2015, 209: 11-22.

[22] Ivashkiv L B, Donlin L T. Regulation of type I interferon responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(1): 36-49.

[23] 陈鸿珊, 张兴权. 抗病毒药物及其研究方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 36-44.

[24] May R D, Fung M. Strategies targeting the IL-4/IL-13 axes in disease[J]. *Cytokine*, 2015, 75(1): 89-116.

[25] 薛春雪, 温铭杰, 刘 萌, 等. γ 8T17/Th17/Tc17 细胞在 H1N1 重症感染小鼠肺脏中的分布及其与肺脏免疫损伤的关系[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(4): 563-568.

[26] Davis M R, Zhu Z, Hansen D M, *et al.* The role of IL-21 in im-

munium and cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 358: 107-114.

[27] 李素芳,袁永红,田 军. 病毒性肺炎患儿的病原学及细
胞免疫功能分析研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25
(6): 1278-1280.

基于网络药理学及分子对接预测白术-白芍药对治疗肠应激综合征的作用

张 杰¹, 盛英坤², 龙开平¹, 朱 萍¹, 王剑峰^{2*}
(1. 西京学院, 陕西 西安 710123; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: **目的** 通过网络药理学及分子对接预测白术-白芍药对治疗肠应激综合征 (IBS) 的药效成分及作用机制。**方法** 借助中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 检索白术、白芍的化学成分及潜在作用靶点, 通过人类基因数据库 GeneCards 查询与 IBS 相关的靶点。通过 R5.3.5 软件的 VennDiagram 和 ClusterProfiler 包筛选出交集靶点, 并进行功能富集和通路分析。采用 Cytoscape 绘制中药-活性成分-靶点-疾病关系图, 并运用 AutoDock Vina 对成分与靶点进行分子对接验证。**结果** 从白术-白芍药对中筛选得到 25 个化合物及 182 个作用靶点, 与 1 578 个 IBS 相关靶点取交集得到 29 个作用靶点, 靶点映射获得 12 种活性成分。蛋白相互作用分析结果显示核心靶点有 IL-6、MAPK8、CASP3、ESR1、RELA、AhR 等。GO 分析发现交集靶点具有核受体活性、转录因子活性、类固醇激素受体活性等功能。KEGG 分析显示交集靶点可能与 AGE-RAGE、TNF 等信号通路相关。分子对接结果显示 β -谷甾醇与 CYP3A4 靶点结合自由能最低 (-10.3 kcal/mol), 芍药苷与 AHR 受体残基 LYS-66、GLU-98、ARG-102、MET-105 形成氢键, (+) -儿茶素与 AChE 受体残基 ASN-87、HIS-447、TYR-72 形成氢键并与 TRP-86 残基形成 π - π 共轭。**结论** 白术-白芍药对中的 β -谷甾醇、芍药苷、(+) -儿茶素以及文献报道的白术内酯 A、苍术酮、4, 15-二羟基环氧白术内酯等活性成分可能通过 CYP3A4、AChE、AhR、PTGS1 等靶点调节炎症细胞因子及细胞信号转导通路协同治疗 IBS。

关键词: 白术-白芍; 肠应激综合征; 网络药理学; 分子对接; 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)05-1356-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.05.049

肠应激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一组持续或间歇发作, 以腹痛、腹胀、排便习惯或大便性状改变为临床表现, 而缺乏胃肠道结构和生化异常的肠道功能紊乱性疾病^[1]。随着快节奏的生活方式及膳食结构的改变, IBS 的临床发病率在逐年上升^[2-3]。其病因和发病机制尚不明确, 可能与肠道炎症反应、饮食习惯、应激、内脏敏感性、肠道动力等有关^[4]。目前, 西医治疗 IBS 效果比较局限且不理想, 一般是根据患者的临床症状, 针对性地选用抗胆碱能药、调节胃肠运动的药物及胃肠微生态制剂等口服药物。根据 IBS 不同的临床表现, 中医将其归属与“便秘”“泄泻”“腹痛”等范畴^[5], 并在临床上辨治本病积累了丰富的经验。中医注重整体观念, 不良反应少, 且中药具有多成分、多环节、多靶点、多通路的特点, 故运

用中医中药治疗 IBS 有着更大的优势。白术-白芍药对是中医临床上典型的调和肝脾的药对之一, 也是治疗 IBS 的常用药对。

白术与白芍首载于《神农本草经》, 白术甘苦性温, 苦温性燥, 以燥湿健脾止泻; 白芍苦酸微寒, 酸寒收泄, 以泻火抑木平肝, 二者配伍, 脾健则木邪不可干, 肝平则脾土得运^[6]。历代医家治疗肝脾不和范畴的疾病, 多采用以白术-白芍药对为核心的方药。相关研究^[7]表明, 与单味白芍或单味白术治疗 IBS 相比, 白术-白芍药对在降低 IBS 大鼠 5-羟色胺、血管活性肠肽、生长抑素水平, 稳定肥大细胞, 减轻肠道高敏感性以及改善 IBS 大鼠粪便含水量等方面效果较好。

网络药理学作为药物研究的新模式, 可以全面、系统地分析药物成分、靶点、通路之间的网络关系, 提高药物

收稿日期: 2019-10-16

基金项目: 浙江中医药大学校级中青年科研创新基金项目 (KC201916)

作者简介: 张 杰 (1989—), 女, 硕士, 助教, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。Tel: 18292032412, E-mail: 1186167484@qq.com

* 通信作者: 王剑峰 (1987—), 男, 博士, 从事中药药理学研究。Tel: 13575726825, E-mail: jeffwong34@163.com

网络出版日期: 2020-11-20

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20201120.1221.002.html>