

基于网络药理学的葶苈子潜在作用机制研究^Δ

史佩玉^{1*}, 林 樾¹, 陈国铭¹, 方彩珊¹, 綦向军¹, 侯颖跃¹, 罗冬强¹, 邢万里¹, 黄睿澜¹, 罗文婷^{2#} (1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405; 2. 广州医科大学附属第一医院国家呼吸系统疾病临床医学研究中心, 广州 510120)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)20-2823-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.20.17

摘要 目的: 探讨葶苈子潜在的药理作用机制, 为其进一步开发利用和临床应用提供参考。方法: 利用中药系统药理学分析平台数据库和 STRING 数据库筛选并确认葶苈子的有效成分和相关靶标蛋白; 运用 Cytoscape 3.7.0 软件构建葶苈子有效化合物-靶标蛋白可视化网络, 并进行网络拓扑学分析; 借助 STRING 数据库和 Cytoscape 3.7.0 软件构建并分析葶苈子靶标蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络; 通过 DAVID 生物信息学资源数据库对靶标蛋白进行 KEGG 通路富集分析。结果: 共筛选获得葶苈子有效化合物 9 个, 包括槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇等; 获得靶标蛋白 174 个, 主要包括人前列腺素内源性过氧化物合酶 2 (PTGS2)、核受体共激活因子 2、孕酮受体等, 其中转录因子 AP-1 (JUN)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1) 是 PPI 网络中的核心蛋白。KEGG 富集通路包括磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 信号通路、缺氧诱导因子 1 信号通路、Toll 样受体信号通路、甲状腺激素信号通路等。结论: 葶苈子中的槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇等有效化合物可能通过 PI3K/Akt 信号通路、TNF- α 信号通路等作用于 PTGS2、JUN、MAPK1 等靶标蛋白, 进而发挥泻肺平喘、利水消肿的功效。

关键词 葶苈子; 网络药理学; 药理作用; 机制; 有效化合物; 靶标蛋白; 信号通路

Study on Potential Mechanism of the Seed of *Draba nemorosa* Based on Network Pharmacology

SHI Peiyu¹, LIN Jian¹, CHEN Guoming¹, FANG Caishan¹, QI Xiangjun¹, HOU Yingyue¹, LUO Dongqiang¹, XING Wanli¹, HUANG Ruilan¹, LUO Wenting² (1. The First School of Clinical Medicine, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China; 2. National Clinical Research Center for Respiratory Disease, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the potential pharmacological mechanism of the seed of *Draba nemorosa*, and to provide reference for further development, utilization and clinical application. **METHODS:** Effective components and related target proteins of *D. nemorosa* were screened and identified by using TCMSP and STRING database. Cytoscape 3.7.0 software was used to construct a visual network of effective components and target proteins for the seed of *D. nemorosa*, and the network topology analysis was performed. The targeting protein-protein interaction (PPI) network was constructed and analyzed by STRING database and Cytoscape 3.7.0 software. KEGG pathway enrichment of target proteins was analyzed by DAVID bioinformatics resource database. **RESULTS:** A total of 9 effective components were screened from the seed of *D. nemorosa*, including quercetin, kaempferol, β -sitosterol, etc. Totally 174 target proteins were obtained, mainly including PTGS2, NCOA2, PGR, etc. Among them, JUN and MAPK1 were core proteins in PPI network. KEGG enrichment pathway included PI3K/Akt signaling pathway, TNF- α signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway and thyroid hormone signal pathway, etc. **CONCLUSIONS:** Effective components from the seed of *D. nemorosa* such as quercetin, kaempferol and β -sitosterol may act on PTGS2, JUN and MAPK1 target proteins through PI3K-Akt signaling pathway and TNF- α signaling pathway, thus exert the effects of purging lung, relieving asthma, promoting edema and reducing edema.

KEYWORDS Seed of *Draba nemorosa*; Network pharmacology; Pharmacological effect; Mechanism; Effective components; Target protein; Signaling pathway

[16] 任丽君, 李岩, 孙婷, 等. 复方骆驼蓬子水凝胶贴剂透皮吸收促进剂的筛选[J]. 中国药师, 2016, 19(10): 1834-1836.

[17] 马骥, 王勋陵. 中国荒漠地区骆驼蓬属植物种类与分布[J]. 中国沙漠, 1998, 18(2): 36-41.

[18] 马骥, 董剑利. 骆驼蓬属主分量及模糊聚类分析[J]. 甘肃科学学报, 1998, 10(2): 21-25.

[19] 杨旭, 陆嘉惠, 陈晓翠, 等. 荒漠植物骆驼蓬的繁殖生物学特性研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2018, 36(1): 81-88.

^Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81802076)

* 本科生。研究方向: 中医学。E-mail: 2698567631@qq.com

通信作者: 助理研究员, 硕士。研究方向: 哮喘过敏性疾病的诊断与治疗。电话: 020-83205026。E-mail: 348307379@qq.com

(收稿日期: 2019-04-06 修回日期: 2019-08-26)

(编辑: 段思怡)

葶苈子为十字花科植物播娘蒿[*Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl]或独行菜(*Lepidium apetalum* Willd.)的干燥成熟种子,其味辛、苦,性大寒,归肺、膀胱经,具有泻肺平喘、行水消肿之功效,可用于痰涎壅肺、喘咳痰多、胸胁胀满、胸腹水肿、小便不利等症的治疗^[1]。现代药理研究证实,葶苈子具有止咳平喘、强心利尿、抗肿瘤等作用,具有一定的开发价值^[2]。

中药药效的物质基础由多种结构和功能各异的化合物组成,其药效的发挥也并非集中于某一特定靶标,而是涉及多个靶标^[3]。作为新兴学科,网络药理学打破了原有单一的研究框架,构建了“药物-成分-靶点-疾病”的多层次网络,与中医药整体观理论相契合^[4]。该学科可为从分子生物学水平阐明中药“多成分、多靶点、多通路”作用机制提供科学依据,且具有整体性和系统性的特点^[5]。笔者通过查阅文献发现,目前关于葶苈子的现代药理研究多集中于其有效化学成分、药理作用、生物活性、质量控制等领域,而有关其多成分、多靶标、多途径、多效应药效作用机制的系统性研究则相对较少。为此,本研究拟采用网络药理学方法分析并预测葶苈子的潜在作用机制,以期为该药材的进一步开发利用及临床应用提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 获取葶苈子有效化合物和靶标蛋白

本研究依托中药系统药理学分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>),以“葶苈子”作为“Herb name”进行检索,并通过口服生物利用度(OB)和类药性(DL)来筛选葶苈子中活性较高的化合物。其中,OB是指口服药物被吸收后进入循环系统,并保持药理活性的比例,是评价活性成分药动学行为的关键指标;DL则体现了化合物与已知药物的相似性,是评价成药性高低的重要指标^[3]。本研究以OB \geq 30%、DL \geq 0.18为筛选标准,对葶苈子的有效化合物及其靶标信息进行筛选,以提高数据的真实性与可靠性^[6]。将葶苈子有效化合物靶标信息输入蛋白质相互作用平台 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),以获取其有效化合物靶标蛋白的标准名称。

1.2 构建有效化合物-靶标蛋白网络

将上述筛选所得的葶苈子有效化合物和靶标蛋白相关信息输入 Cytoscape 3.7.0 软件(<http://cytoscape.org/>)进行可视化处理,并构建葶苈子有效化合物-靶标蛋白网络。其中,葶苈子有效化合物及靶标蛋白用节点表示,两节点间的相互作用关系用边表示。使用软件中的“Network analyzer”工具进行网络拓扑学分析,以节点度值(Degree)和中介中心度(Betweenness centrality)来评估节点的重要程度,上述参数值的大小均与对应节点在

该网络中的重要程度成正比^[7]。

1.3 构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络

PPI是生物分子网络中的基本组成元件,是疾病发生发展的关键环节^[8],故本研究使用 STRING 数据库获取靶标蛋白相互作用关系,从 PPI 层次探讨葶苈子的潜在作用机制。将葶苈子靶标蛋白信息输入 STRING 数据库,物种设为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值设为最高置信度“Highest confidence (0.900)”,同时设置“Hide disconnected nodes in the network”以隐藏网络中无关联的节点,其余参数均为“默认”,构建 PPI 关系。将上述 PPI 关系导入 Cytoscape 3.7.0 软件进行可视化处理,以获取 PPI 网络;以度值大于 2 倍平均度值为标准筛选核心靶标蛋白,并采用 Excel 2010 软件绘制相应蛋白的信息条形图。

1.4 KEGG 通路富集分析

将葶苈子相关作用靶标蛋白的编码基因导入 DAVID 生物信息学资源数据库(<https://david.ncicrf.gov/>)中进行 KEGG 通路富集分析。物种设为“Homo sapiens”,计算所有富集通路的 P 值,并采用 Bonferroni 法进行校正,P $<$ 0.01 的结果被认为是“显著富集”^[6],挖掘葶苈子靶标蛋白编码基因参与的 KEGG 通路信息。

2 结果

2.1 葶苈子有效化合物和靶标蛋白筛选结果

从 TCMSP 数据库中共获得葶苈子的相关化合物 68 个,参照 OB \geq 30%、DL \geq 0.18 的标准共筛选出化合物 12 个;排除无对应靶标或靶标蛋白无标准名称的化合物,共筛选得葶苈子中的有效化合物 9 个、靶标蛋白 174 个,详见表 1、表 2。

表 1 葶苈子有效化合物

Tab 1 Effective components of the seed of *D. nemorosa*

TCMSP 编号	名称	OB, %	DL
MOL002211	顺式-11,14-二十碳二烯酸(11,14-eicosadienoic acid)	39.99	0.2
MOL000296	常春藤皂苷元(Hederagenin)	36.91	0.75
MOL000354	异鼠李素(Isorhamnetin)	49.6	0.31
MOL000358	β -谷甾醇(β -sitosterol)	36.91	0.75
MOL003906	毒毛旋花子苷K(Strophanthoside K)	30.8	0.78
MOL003908	Cynotoxin	99.94	0.78
MOL003927	双高亚麻酸(Dihomolinolenic acid)	44.11	0.2
MOL000422	山柰酚(Kaempferol)	41.88	0.24
MOL000098	槲皮素(Quercetin)	46.43	0.28

2.2 葶苈子有效化合物-靶标蛋白网络分析结果

通过 Cytoscape 3.7.0 软件获得葶苈子有效化合物-靶标蛋白网络,见图 1。由图 1 可见,该网络共有 183 个节点、275 条边。其中,最外两圈表示度值为 1 的靶标蛋白,再往里两圈表示度值 $>$ 1 的靶标蛋白,最内圈表示葶苈子的有效化合物(其形状大小与度值成正比)。网络拓扑学分析结果显示,该网络节点的平均度值为 3.005,大于该平均值的节点有 10 个;平均中介中心度为 0.014,

表2 葶苈子有效化合物的靶标蛋白

Tab 2 Effective components' target proteins of the seed of *D. nemorosa*

序号	靶标蛋白	序号	靶标蛋白	序号	靶标蛋白
1	核受体共激活因子2(NCOA2)	59	微管相关蛋白2(MAP2)	117	乙酰辅酶A羧化酶 α (ACACA)
2	孕酮受体(PGR)	60	核受体亚家族C组成员2(NR3C2)	118	小窝蛋白1(CAV1)
3	毒蕈碱乙酰胆碱受体M3(CHRM3)	61	DNA拓扑异构酶II β (TOP2B)	119	Myc原癌基因编码蛋白(MYC)
4	CHRM1	62	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1(AKT1)	120	F3
5	CHRM2	63	肿瘤坏死因子(TNF)	121	间隙连接蛋白 α 1(GJA1)
6	α -B肾上腺素受体(ADRA1B)	64	MAPK8	122	IL1B
7	γ -氨基丁酸受体 α_1 (GABRA1)	65	MMP1	123	C-C趋化因子2(CCL2)
8	谷氨酸受体2(GRIA2)	66	信号转导及转录激活因子1(STAT1)	124	前列腺素E ₂ 受体3亚型(PGTER3)
9	乙醇脱氢酶1B(ADH1B)	67	细胞周期素依赖性激酶1(CDK1)	125	IL8
10	溶菌酶(LYZ)	68	血红加氧酶1(HMOX1)	126	PRKCB
11	人前列腺素内源性过氧化物酶(PGSI)	69	细胞色素P ₄₅₀ A4(CYP3A4)	127	杆状病毒IAP重复蛋白5(BIRC5)
12	钠通道蛋白5型 α 亚基(SCN5A)	70	CYP1A2	128	双氧化酶2(DUOX2)
13	PTGS2	71	细胞间黏附分子1(ICAM1)	129	NOS3
14	视黄酸受体 α (RXRA)	72	E选择素(SELE)	130	27 kDa热休克蛋白(HSPB1)
15	溶质载体家族6成员2(SLC6A2)	73	血管细胞黏附分子1(VCAM1)	131	雌激素磺基转移酶(SULT1E1)
16	一氧化氮合酶2(NOS2)	74	核受体11亚家族成员2(NR112)	132	麦芽糖-葡萄糖苷酶(MGAM)
17	雌激素受体1(ESR1)	75	CYP1B1	133	IL2
18	雄激素受体(AR)	76	花生四烯酸酯5-脂氧合酶(ALOX5)	134	CCNB1
19	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)	77	透明质烷合酶2(HAS2)	135	组织型纤溶酶原激活剂(PLAT)
20	ESR2	78	谷胱甘肽S-转移酶P1(GSTP1)	136	血栓调节蛋白(THBD)
21	二肽基肽酶4(DPP4)	79	芳香烃受体(AHR)	137	纤溶酶原激活物抑制剂1(SERPINE1)
22	丝裂原活化蛋白激酶14(MAPK14)	80	26S蛋白酶体非三磷酸腺苷调节亚单位3(PSMD3)	138	I型胶原蛋白 α 1链(COL1A1)
23	糖原合酶激酶3 β (GSK3B)	81	SLC2A4	139	干扰素 γ (IFNG)
24	细胞周期蛋白依赖性激酶2(CDK2)	82	NR1H3	140	IL1A
25	胰蛋白酶原1(PRSS1)	83	胰岛素受体(INSR)	141	髓过氧化物酶(MPO)
26	细胞周期蛋白A2(CCNA2)	84	碘甲状腺氨酸脱碘酶1(DIO1)	142	TOP2A
27	重组人钙调蛋白2(CALM2)	85	谷胱甘肽硫转移酶M1(GSTM1)	143	三磷酸腺苷结合盒G家族成员2(ABCG2)
28	人肌肉糖原磷酸化酶(PYGM)	86	GSTM2	144	核因子E2相关因子2(NFE2L2)
29	PPARD	87	重组人醛固酮类还原酶家族1成员C3(AKR1C3)	145	NADPH脱氢酶1(NQO1)
30	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶Chk1(CHEK1)	88	分泌性白细胞蛋白抑制因子(SLPI)	146	聚二磷酸腺苷-核糖聚合酶1(PARP1)
31	重组人醛糖还原酶(AKR1B1)	89	F10	147	III型胶原蛋白 α 1链(COL3A1)
32	NCOA1	90	MMP3	148	C-X-C趋化因子11(CXCL11)
33	组织因子F7(F7)	91	表皮生长因子受体(EGFR)	149	CXCL2
34	丝氨酸蛋白酶抑制剂D1(SERPIND1)	92	血管内皮生长因子A(VEGFA)	150	DCAF5
35	乙酰胆碱酯酶(ACHE)	93	CCND1	151	CHEK2
36	单胺氧化酶B(MAOB)	94	BCL2样蛋白1(BCL2L1)	152	封闭蛋白4(CLDN4)
37	转录因子p65(RELA)	95	原癌基因c-Fos蛋白(FOS)	153	PPARA
38	黄嘌呤脱氢酶(XDH)	96	细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A(CDKN1A)	154	热休克因子1(HSF1)
39	嗜中性粒细胞胞质因子1(NCF1)	97	真核启动因子6(EIF6)	155	C反应蛋白(CRP)
40	血凝素样氧化低密度脂蛋白受体1(OLR1)	98	尿激酶型纤溶酶原激活剂(PLAU)	156	CXCL10
41	基质金属蛋白酶2(MMP2)	99	钾电压门控性通道H亚家族成员2(KCNH2)	157	骨桥蛋白1(SPP1)
42	多巴胺D ₁ 受体(DRD1)	100	MMP9	158	RUNX2
43	CHRM4	101	MAPK1	159	Ras相关结构域家族1(RASSF1)
44	5-羟色胺2A受体(HTR2A)	102	白细胞介素10(IL10)	160	转录因子E2F1(E2F1)
45	ADRA1D	103	表皮生长因子(EGF)	161	E2F2
46	ADRB2	104	视网膜母细胞瘤相关蛋白1(RB1)	162	前列腺酸性磷酸酶(ACPP)
47	烟碱型乙酰胆碱受体A ₂ (CHRNA2)	105	IL6	163	组织蛋白酶D(CTSD)
48	SLC6A4	106	细胞肿瘤抗原p53(TP53)	164	胰岛素样生长因子结合蛋白3(IGFBP3)
49	M μ 型阿片受体(OPRM1)	107	含ETS结构域的蛋白质(ELK1)	165	胰岛素样生长因子II(IGF2)
50	细胞凋亡调节剂BCL2(BCL2)	108	核转录因子 κ B抑制剂 α (NFKBIA)	166	CD40配体(CD40LG)
51	BCL2相关X蛋白(BAX)	109	CYP氧化还原酶(POR)	167	干扰素调节因子1(IRF1)
52	胱天蛋白酶9(CASP9)	110	鸟氨酸脱羧酶1(ODC1)	168	ERBB3
53	转录因子AP-1(JUN)	111	TOP1	169	前胶原C内肽酶增强子(PCOLCE)
54	CASP3	112	超氧化物歧化酶1(SOD1)	170	嘌呤霉素敏感性氨基糖苷蛋白抗体(NPEPPS)
55	CASP8	113	缺氧诱导因子1 α (HIF1A)	171	己糖激酶2(HK2)
56	蛋白激酶C α (PRKCA)	114	Runt相关转录因子1T1(RUNX1T1)	172	同源框蛋白Nkx3.1(NKX3-1)
57	转化生长因子 β_1 (TGFB1)	115	重组人70 kDa热休克蛋白5(HSPA5)	173	Ras三磷酸鸟苷酶激活样蛋白1(RASA1)
58	对氧磷酶1(PON1)	116	受体型酪氨酸蛋白激酶erbB-2(ERBB2)	174	CYP1A1

大于该平均值的节点有10个。根据节点度值、中介中心度等网络拓扑学特征进行核心节点的筛选,结果显示,槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、异鼠李素、常春藤皂苷元等有效化合物以及 PTGS2、NCOA2、PTGS1、GABRA1、PPARG 等靶标蛋白在葶苈子有效化合物-靶标蛋白网络中具有重要作用,可能是葶苈子发挥药效的核心化合物及靶标蛋白。

2.3 葶苈子靶标蛋白 PPI 网络分析结果

共得到靶标蛋白 152 个,其 PPI 网络见图 2。由图 2 可见,该网络共有 152 个节点、629 条边,平均度值为 8.276。其中,96 个圆形节点表示度值小于平均度值的靶标蛋白,38 个三角形节点表示度值大于平均度值但小于 2 倍平均度值的靶标蛋白,18 个正六边形节点表示度值大于 2 倍平均度值的靶标蛋白。

参考各节点的度值绘制核心靶标蛋白(即度值大于 2 倍平均度值的靶标蛋白)信息条形图,结果见图 3。由图 3 可见, JUN、MAPK1 的度值分别为 36、34,大于其余靶标蛋白,在 PPI 网络中起枢纽作用,可能是葶苈子发挥泻肺平喘、利水消肿功效的关键靶标蛋白。

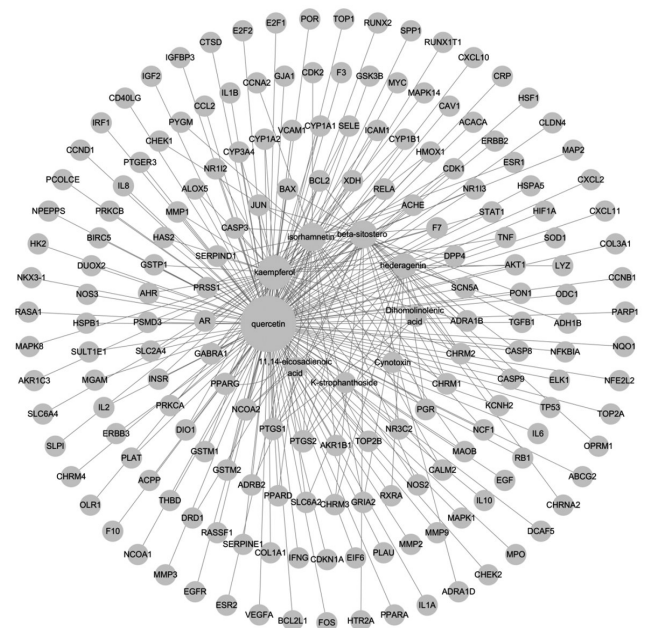


图 1 葶苈子有效化合物-靶标蛋白网络
Fig 1 Effective component-target protein network of the seed of *D. nemorosa*

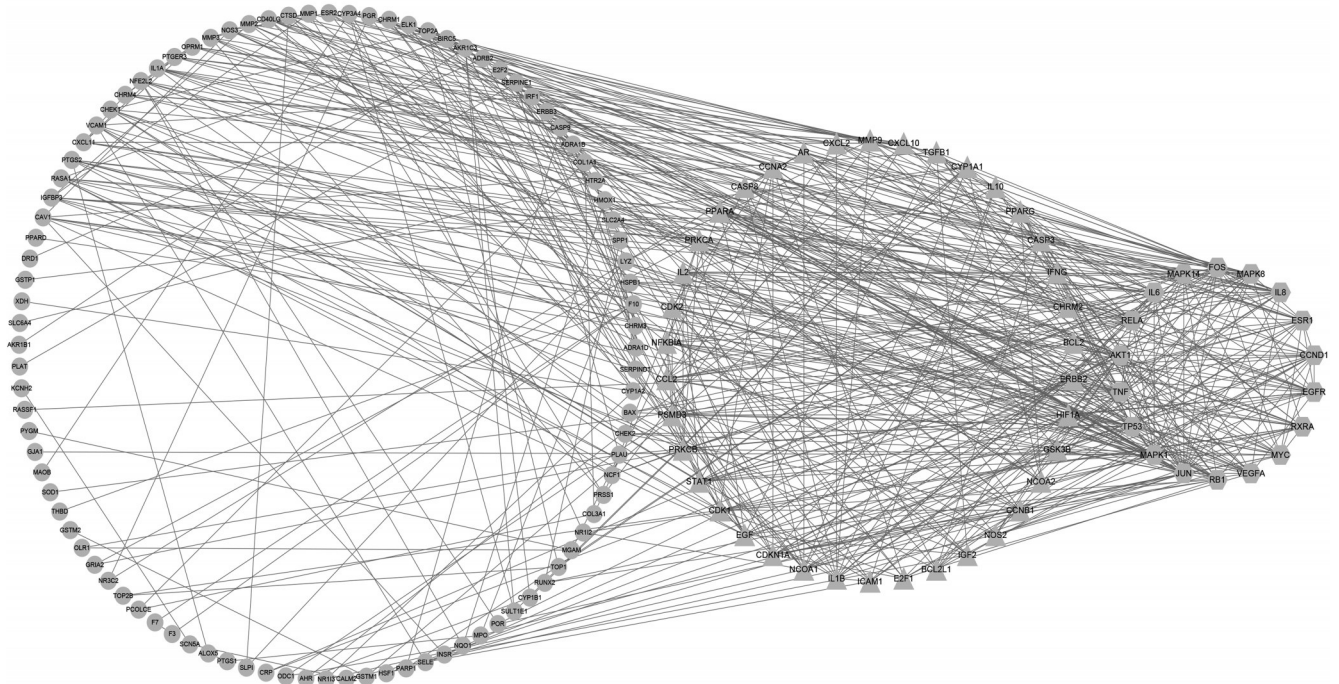


图 2 葶苈子靶标蛋白 PPI 网络
Fig 2 Protein-protein interaction relationship network of the seed of *D. nemorosa*

2.4 KEGG 通路富集结果

共得到 KEGG 富集通路 35 条(P 值均小于 0.01)。采用 P 值和基因富集数量交叉筛选的方法,筛选出 P 值与基因富集数均排名前 10 位的信号通路,结果见表 3。由表 3 可见,葶苈子靶标蛋白的编码基因主要富集于 TNF- α 信号通路、HIF-1 信号通路、Toll 样受体信号通路、甲状腺激素信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B

(PI3K/Akt) 信号通路、MAPK 信号通路等。

3 讨论

葶苈子首载于《神农本草经》,可“破坚逐邪,通利水道,凡积聚寒热从水气来者,此药主之”,临床上常用以治疗痰涎壅肺、胸胁胀满、喘咳哮喘、小便不利等症,具有很好的疗效^[9-10]。中药具有多成分、多靶点、多通路的作用特点,本研究运用网络药理学从“成分-靶点-通路”

水平初步探讨了葶苈子的潜在作用机制。

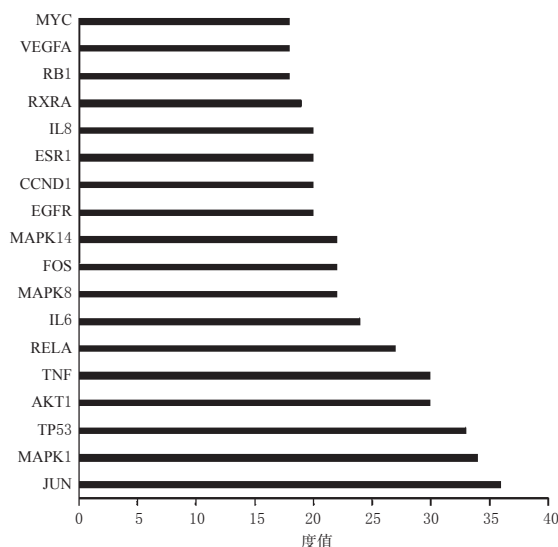


图3 核心靶标蛋白信息条形图

Fig 3 Information bar chart of key target proteins

表3 P值与基因富集数均排名前10位的信号通路

Tab 3 Top 10 signaling pathways in the list of P value and the number of enrichment gene

信号通路	基因富集数	P
TNF- α 信号通路	22	9.6×10^{-15}
HIF-1 信号通路	20	1.7×10^{-13}
Toll 样受体信号通路	16	9.2×10^{-9}
甲状腺激素信号通路	16	2.9×10^{-8}
PI3K/Akt 信号通路	26	1.3×10^{-7}
MAPK 信号通路	21	6.7×10^{-7}

3.1 有效化合物和靶标蛋白

葶苈子有效化合物-靶标蛋白网络分析结果表明,槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇等有效化合物和PTGS2等靶标蛋白是葶苈子关键化合物与靶标蛋白。PPI网络分析结果表明,JUN和MAPK1的度值大于其余靶标蛋白。

槲皮素为天然的多羟基黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗过敏、抗风湿、调节免疫等作用^[11-12]。相关文献报道,该化合物可缓解肺部相关疾病,并可有效减轻肺组织的损伤^[13-14]。此外,在发生慢性支气管炎或肺气肿时,辅助性T淋巴细胞2(Th2)细胞和嗜酸性粒细胞含量增多,气道呈高反应性,黏液产生增多,从而导致患者气道阻塞、呼吸不畅并与黏液相搏,临床上常表现为喘咳哮鸣、胸胁胀满、痰涎壅肺,而槲皮素可通过抑制促炎介质的过度释放来发挥宣肺平喘的功效^[15]。山柰酚具有抗炎、抗氧化等作用,可下调核因子 κ B(NF- κ B)信号通路,抑制IL-6、TNF- α 等炎症因子分泌,在急性肺损伤中发挥着重要的作用^[16]。 β -谷甾醇对脂多糖致急性肺损伤模型小鼠具有一定的保护作用,可通过阻止炎症因子的释放、抑制NF- κ B信号通路的活化等途径来发挥平喘的作用^[17]。

PTGS2 又称环氧合酶2(COX-2),其高水平表达与机体免疫活性密切相关^[18]。COX-2抑制剂可增加肺癌对放疗的敏感性,提高治疗效果,且对肺癌所致喘咳、咳痰具有一定的抑制作用^[18-19]。*c-jun*是早期原癌基因,哮喘形成过程中产生的各种细胞因子、炎症介质等均可促进其编码产物JUN蛋白的表达^[20],是葶苈子发挥泻肺平喘功效的关键蛋白,这与笔者预测的JUN靶标蛋白在葶苈子PPI网络中具核心作用基本相符。MAPK1靶标蛋白主要存在于支气管平滑肌细胞胞浆中,能缓解气道重塑、减少炎症因子表达、调节气道炎症反应、减轻哮喘症状^[21]。MAPK通路和肺癌细胞增殖、凋亡密切相关,抑制该通路的活性,可促进肺癌细胞的凋亡、抑制其增殖^[22]。

据此,笔者认为葶苈子发挥泻肺平喘功效与其所含槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇等有效化合物和PTGS2、JUN、MAPK等靶标蛋白有关,这些活性化合物可借助上述靶标蛋白而抑制肺和支气管炎症的发生、调节机体免疫活性、降低促炎介质的释放、减少肺与支气管黏液的生成、缓解气道阻塞。中医认为,支气管隶属肺系,为气道的分支,故抑制肺和支气管炎症的产生即抑制肺系炎症的产生,宣肺即“护肺”^[23]。本研究结果与上述理论基本一致。

3.2 信号通路

KEGG 通路富集分析结果显示,TNF- α 信号通路、HIF-1 信号通路、Toll 样受体信号通路、甲状腺激素信号通路、PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路等是葶苈子发挥药效的重要信号通路,其中大多数靶标蛋白的编码基因主要富集于PI3K/Akt 信号通路和TNF- α 信号通路。其中,PI3K/Akt 信号通路可通过抑制或调节心室重构、内皮细胞迁移、能量代谢等机制改善心肌功能,起到强心作用^[24],这与葶苈子能够通过加强心肌收缩力、改善心脏泵血功能而起到利尿作用^[25]相一致。因此,笔者预测葶苈子可通过调控PI3K/Akt 信号通路来发挥利尿消肿的功效,故而可用于治疗小便不利、胸腹水肿等症。TNF- α 信号通路可促进趋化因子、促炎因子的表达,在气道黏液高分泌过程中具有重要作用^[26-27]。气道黏液高分泌会导致痰液增多,而葶苈子可通过调控TNF- α 信号通路来减少炎症因子和气道黏液的产生,从而达到治疗痰涎壅盛等症的目的。

4 结语

本研究基于网络药理学的方法,对葶苈子的潜在作用机制进行了分析,结果发现,葶苈子中的槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇等有效化合物可能通过PI3K/Akt 信号通路、TNF- α 信号通路等信号通路作用于PTGS2、JUN、MAPK1等靶标蛋白而发挥宣肺平喘、利尿消肿的功效,

且上述作用具有多成分、多靶点、多通路的特点,与祖国医学的整体观不谋而合。但本研究在筛选核心化合物与靶标蛋白时存在一定的主观性,可能导致结果具有一定的局限性与片面性,故本文结论有待基础和临床研究的进一步验证。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:333-334.
- [2] 孟祥凤. 葶苈子化学成分及药理作用的研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2013(34):63-71.
- [3] CHEN G, HUANG C, LIU Y, et al. A network pharmacology approach to uncover the potential mechanism of yinchensini decoction[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018. DOI:10.1155/2018/2178610.
- [4] 陈国铭, 汤顺利, 黄雁, 等. 基于网络药理学的骨碎补“疗伤止痛, 补肾强骨”作用机制初探[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(12):1781-1785.
- [5] YANG M, CHEN J, XU L, et al. A network pharmacology approach to uncover the molecular mechanisms of herbal formula Ban-xia-xie-xin-tang[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018. DOI:10.1155/2018/4050714.
- [6] LIU J, LIU J, SHEN F, et al. Systems pharmacology analysis of synergy of TCM: an example using saffron formula [J]. *Sci Rep*, 2018. DOI:10.1038/s41598-017-18764-2.
- [7] 陈国铭, 汤顺利, 邝梓君, 等. 基于系统药理学的茵陈作用机制研究[J]. 中国药房, 2018, 29(10):1312-1319.
- [8] 蒋永麟, 姜正羽, 尤启冬. 蛋白-蛋白相互作用: 抗肿瘤药物研发的新方向[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(10):1119-1129.
- [9] 曾梦楠, 李苗, 张贝贝, 等. 葶苈子、薏苡仁、车前子的利尿功效比较[J]. 中成药, 2018, 40(1):40-46.
- [10] 姜茗宸, 徐秋月, 汪小蓉. 汪受传应用葶苈子泻肺降痰降气平喘治疗小儿肺系疾病经验[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(6):2407-2409.
- [11] 马纳, 李亚静, 范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(8):221-224.
- [12] 许栋, 陈映冰, 崔元璐. 槲皮素的文献计量学及可视化分析[J]. 天津中医药, 2019, 36(2):131-136.
- [13] CHUANG CH, YEH CL, YEH SL, et al. Quercetin metabolites inhibit MMP-2 expression in A549 lung cancer cells by PPAR- γ associated mechanisms[J]. *J Nutr Biochem*, 2016. DOI:10.1016/j.jnutbio.2016.03.011.
- [14] 王保健, 毛旭. 槲皮素通过抑制肺巨噬细胞的M1极化减轻海水吸入诱导的小鼠急性肺损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(6):751-755.
- [15] BARNES PJ. Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(7):454-466.
- [16] 李妍, 王春富, 张瑞华, 等. 山柰酚通过下调NF- κ B信号通路减轻猪源甲型H9N2流感病毒所致小鼠急性肺损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(2):315-321.
- [17] 姚凤, 周清燕, 熊瑛, 等. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2):55-61.
- [18] 范双莉, 任亚丽, 赵志华. 肺癌抗原COX-2长肽疫苗的设计及免疫活性检测[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(12):2283-2288.
- [19] DAI P, LI J, MA XP, et al. Efficacy and safety of COX-2 inhibitors for advanced non-small-cell lung cancer with chemotherapy: a meta-analysis[J]. *Oncol Targets Ther*, 2018. DOI:10.2147/OTT.S148670.
- [20] 张莉莉, 尚莉丽. 健脾补肺化痰方干预幼龄哮喘大鼠气道重塑模型中PDGF、ERK1/2/c-jun信号通路的研究[J]. 中医药临床杂志, 2018, 30(5):880-884.
- [21] KIM SH, PEI QM, JIANG P, et al. Role of licochalcone A in VEGF-induced proliferation of human airway smooth muscle cells: implications for asthma[J]. *Growth Factors*, 2017, 35(1):39-47.
- [22] 郭洪梅, 赵丹, 曹琳, 等. 白花蛇舌草水提物通过抑制MAPK通路致肺癌细胞的凋亡[J]. 药学与临床研究, 2019, 27(1):5-9.
- [23] 中华中医药学会肺系病分会, 中国民族医药学会肺病分会. 急性气管支气管炎中医诊疗指南:2015版[J]. 中医杂志, 2016, 57(9):806-810.
- [24] LAWRENCE SP, HOLMAN GD, KOUMANOV F. Translocation of the Na⁺/H⁺ exchanger 1 (NHE1) in cardiomyocyte responses to insulin and energy-status signalling[J]. *Biochem J*, 2010, 432(3):515-525.
- [25] 程文俊, 席建军, 李晶. 芪苈强心胶囊治疗老年慢性心力衰竭患者临床观察[J]. 河北中医, 2016, 38(6):927-929.
- [26] 杨晓敏, 赵娜妹, 刘娟, 等. 健脾益肺化痰方通过抑制TNF- α 信号通路改善COPD大鼠气道黏液高分泌的实验研究[J]. 天津中医药, 2016, 33(5):295-298.
- [27] VARFOLOMEEV E, GONCHAROV T, MAECKER H, et al. Cellular inhibitors of apoptosis are global regulators of NF- κ B and MAPK activation by members of the TNF family of receptors[J]. *Sci Signal*, 2012. DOI:10.1126/sci-signal.2001878.

(收稿日期:2019-02-18 修回日期:2019-07-29)

(编辑:张元媛)