

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.02.006

◇ 药学研究 ◇

## 基于网络药理学苍耳子的物质基础和作用机制的分析

于盼盼<sup>1</sup>, 杨忠杰<sup>1</sup>, 郭丽娜<sup>1</sup>, 王单单<sup>1</sup>, 田会东<sup>1</sup>, 程铁峰<sup>2</sup>, 王瑞<sup>1</sup>作者单位:<sup>1</sup>漯河市中心医院药学部, 河南 漯河 462300; <sup>2</sup>河南大学药学院, 河南 开封 475000

通信作者: 王瑞, 男, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为医院药学, E-mail: yxb56116@126.com

基金项目: 河南省教育厅科学技术研究重点项目(15A360012); 河南省工程研究中心项目(豫发改高技[2019]569号);

漯河市工程技术研究中心项目(漂科[2018]88号); 漯河市创新型科技团队项目(漂科[2018]88号)

**摘要:**目的 采用网络药理学方法探讨苍耳子功效的物质基础和作用机制。方法 通过数据库(TCMSP)收集苍耳子的主要化学成分并筛选候选化合物,寻找其对应的靶点。通过UniProt数据库提取作用靶点的基因名称,在DAVID数据库获得与靶点相关的信号通路并进行富集筛选,采用Cytoscape 3.7.0建立“成分-靶点”、“成分-靶点-通路”网络图并通过Omicshare 3.0对富集到的通路进行可视化处理,最后使用Cytoscape 3.7.0下的Network Analyzer对网络图进行分析。结果 共获得β-谷甾醇、芦荟大黄素、黄花菜木脂素A等9个主要活性成分,与其相关靶点53个,主要靶点有PIK3CG, RELA, TP53, PRKCA, CASP3等,共富集到37条通路,涉及神经系统、抗炎、酒精性脂肪肝、免疫系统及抗肿瘤等通路,其中主要与肿瘤和神经系统相关。结论 初步挖掘发现了苍耳子的主要活性组分与潜在靶点,预测其治疗肿瘤和神经系统相关疾病方面具有一定功效,为进一步深入研究其机制提供参考。

**关键词:** 苍耳子; 数据库,事实型; 化学,药物; 谷甾醇; 芦荟大黄素; 磷脂酰肌醇3-激酶; 网络药理学; 作用机制; 肿瘤; 神经系统

## Analysis of the material basis and mechanism of Xanthii Fructus based on network pharmacology

YU Panpan<sup>1</sup>, YANG Zhongjie<sup>1</sup>, GUO Lina<sup>1</sup>, WANG Dandan<sup>1</sup>, TIAN Huidong<sup>1</sup>, CHENG Tiefeng<sup>2</sup>, WANG Rui<sup>1</sup>Author Affiliations: <sup>1</sup>Pharmacy Department of Luohe Central Hospitals, Luohe, Henan 462300, China;<sup>2</sup>Pharmaceutical College, Henan University, Kaifeng, Henan 475000, China

**Abstract: Objective** To explore the material basis and mechanism of the efficacy of Xanthii Fructus by network pharmacology.

**Methods** The main chemical constituents of Xanthii Fructus were collected by database (TCMSP) and candidate compounds were screened to find their corresponding targets. The gene name of the target was extracted by UniProt database, the target-related signal pathway was obtained in DAVID database and enriched and screened. Cytoscape 3.7.0 was used to establish the "component-target" and "component-target-path" network maps. The enriched path is visualized by Omicshare 3.0, and finally the network diagram is analyzed using Network Analyzer under Cytoscape 3.7.0. **Results** A total of 9 major active components such as β-sitosterol, aloe-emodin and day lignan A were obtained, and 53 related targets were obtained. The main targets were PIK3CG, RELA, TP53, PRKCA, CASP3, etc. It integrates 37 pathways, including nervous system, anti-inflammatory, alcoholic fatty liver, immune system and anti-tumor pathways, which are mainly related to tumors and nervous system. **Conclusion** The main active components and potential targets of Xanthii Fructus were discovered in this study. It is predicted to have certain effects in the treatment of tumor and nervous system related diseases, and provide reference for further study of its mechanism.

**Key words:** Fructus xanthii; Databases, Factual; Chemistry, Pharmaceutical; Sitosterols; Aloe-emodin; Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase; Network pharmacology; Mechanism of action; Tumor; Nervous system

苍耳子为菊科植物苍耳的干燥成熟带总苞的果实,具有散风寒、通鼻窍、祛风湿的功效,用于风寒头痛、鼻渊、鼻渊、风疹瘙痒、湿痹拘挛<sup>[1]</sup>。苍耳子已报道的主要化学成分有挥发油类、甾醇类、倍半萜内酯类、水溶性苷类、酚酸及其衍生物、黄酮类、蒽醌类及其他化合物<sup>[2-6]</sup>。现代药理研究表明苍耳子有抗微

生物、抗炎、镇痛、抗过敏作用,另外还有研究表明其具有抗肿瘤作用、对免疫系统的、心血管系统、血液系统也有一定的影响<sup>[7-11]</sup>。中药是多成分、多途径和多靶点协同作用的复杂体系,因其化学成分复杂,使得中药的深入研究困难重重,而网络药理学则为重要复杂成分研究提供了新的思路和方法。网络药理

学基于“药物-靶点-通路”相互作用网络,从整体角度、系统性预测药物多成分和多靶点的关系,强调从“单靶标”向“网络靶标”模式发展<sup>[12]</sup>。本文自2018年10月至2019年3月采用网络药理学研究方法,对苍耳子主要活性组分与作用机制进行研究,以期对苍耳子进一步深入研究提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 成分筛选** 本研究通过中药系统药理数据库(TCMSP)(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmspsearch.php>)检索苍耳子的所有化学成分。含有相关的化学成分为111个。对所检索化学成分进行筛选,化合物口服生物利用度(OB)筛选阈值为 $OB \geq 30\%$ ,化合物类药性(DL)筛选阈值为 $DL \geq 0.15$ 。通过条件筛选,111个化合物分子中有14个符合条件,将其作为候选化合物。

**1.2 候选化合物“成分-靶点”网络构建** 采用TCMSP(<http://lsp.nwu.edu.cn/target.php>)在线靶标预测平台,对其候选化合物名称进行检索,整理其对应靶点,并在Uniprot(<https://www.uniprot.org>)进行标准化基因名,所有靶点均为人源,最终整合化学成分靶点数据库。将虚拟筛选出的候选化合物和靶点预测得到的靶点基因输入Cytoscape 3.7.0软件构建“成分-靶点”网络。Cytoscape 3.7.0是一款可以图形化显示网络并可进行分析和编辑的软件。

**1.3 对成分靶点进行通路富集与成分-靶点-通路网络构建** 利用生物学信息注释数据库DAVID Bioinformatics Resources 6.8(<https://david.ncifcrf.gov>)对所预测的化学成分靶点进行通路富集,以 $P < 0.01$ 对所富集的通路进行筛选,并通过Omicshare 3.0(<http://www.omichare.com>)进行可视化处理。利用Cytoscape 3.7.0对所富集的通路进行成分-靶点-通路网络图构建。分析成分、靶点和通路的相互作用,采用Cytoscape中插件Network Analyzer对网络拓扑参数度值进行分析。

## 2 结果

**2.1 OB和DL预测** 以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.15$ 作为苍耳子活性成分的筛选条件,共筛选出14个候选化合物,其中4个化合物MOL007326[Cynarin(e)]、MOL008647(Moupinamide)、MOL011169(Peroxyergosterol)、MOL011676(carboxyatractyloside)在TCMSP数据库中未找到相关靶点,故共获得苍耳子的主要候选化合物10个,候选化合物基本信息如表1所示。

**2.2 “成分-靶点”网络图分析** 根据筛选所得到的10个候选化合物与其对应靶点导入Cytoscape 3.7.0进行成分-靶点网络图的构建,如图1所示。该图包括86个节点(10个活性成分和76个相关靶点)和

表1 苍耳子预测的10个候选化合物信息

TCMSP编号	化合物名称	口服生物利用度	化合物类药性	度值
MOL000011	黄花菜木脂素 A	68.83	0.66	18
MOL000358	$\beta$ -谷甾醇	36.91	0.75	36
MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75	3
MOL000432	亚麻酸	45.01	0.15	16
MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76	1
MOL000471	芦荟大黄素	83.38	0.24	23
MOL001755	24-Ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76	2
MOL002683	gamma-亚麻酸	45.01	0.15	6
MOL005961	10,13-Octadecadienoic acid, methyl ester	41.93	0.17	1
MOL011678	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(1S,4R)-4-ethyl-1,5-dimethylhexyl]-10,13-dimethyl-1,2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.91	0.75	2

108条线,其中蓝色圆形代表候选化合物,绿色方形代表相关靶点,线表示活性成分和相关靶点的关系。度值(Degree)和介数值(betweenness)可反映节点的重要性,本图中节点的大小表示度值的大小。

从图1中可知,化合物MOL000358( $\beta$ -谷甾醇)有最多的潜在靶标(36个),其次是MOL000471(芦荟大黄素)和MOL000011(黄花菜木脂素A)分别有23和18个潜在靶标,靶点较多的活性成分可能在苍耳子的药理功能中发挥重要作用。相关研究表明, $\beta$ -谷甾醇具有抗氧化、降低胆固醇、抗炎、免疫调节、抗肿瘤和中枢神经系统作用<sup>[13]</sup>;芦荟大黄素具有心血管保护、保肝、抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗炎、皮肤调理、免疫调节及泻下等药理作用<sup>[14]</sup>,黄花菜木脂素A具有抗氧化、抗炎、抗病毒、抑制平滑肌收缩、降血脂等作用<sup>[15]</sup>。在相关靶点中,细胞核受体共激活剂2(NCOA2),前列腺素G/H合成酶2(PTGS2),孕酮受体(PGR)的度值分别为6、5、4,表明活性成分在靶点上具有协同作用。其中PTGS2是经典炎症靶点,与5个化合物相互作用,可能是苍耳子发挥药效的关键靶标。其中19个靶点至少与两个活性成分相连,说明了苍耳子发挥药效是多靶点协同作用的结果。

**2.3 潜在靶点富集分析** 为阐明苍耳子中主要成分的作用机制,采用DAVID数据库对所预测的76个靶点进行通路富集分析共得到85条通路,根据 $P < 0.001$ 进行筛选,筛选所得通路共37条,涉及癌症信号通路(Pathways in cancer)、神经活性配体-受体相互作用通路(Neuroactive ligand-receptor interaction)、磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/AKT(蛋白激酶B)

信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)、乙肝(Hepatitis B)、钙离子信号通道(Calcium signaling pathway)、甲状腺激素信号通路(Thyroid hormone signaling pathway)、癌症中的蛋白聚糖(Proteoglycans in cancer)、小细胞肺癌(Small cell lung cancer)等,见表2。

表2 富集分析中通路信息(前10条通路)

通路	靶标命中数量	P值
hsa05200: Pathways in cancer	20	1.69×10 <sup>-9</sup>
hsa04080: Neuroactive ligand-receptor interaction	19	4.05×10 <sup>-11</sup>
hsa04151: PI3K-Akt signaling pathway	15	2.90×10 <sup>-6</sup>
hsa05161: Hepatitis B	15	4.41×10 <sup>-11</sup>
hsa04020: Calcium signaling pathway	13	8.07×10 <sup>-8</sup>
hsa04919: Thyroid hormone signaling pathway	11	9.51×10 <sup>-8</sup>
hsa05205: Proteoglycans in cancer	11	1.53×10 <sup>-8</sup>
hsa05222: Small cell lung cancer	10	7.94×10 <sup>-8</sup>
hsa04932: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	10	1.04×10 <sup>-5</sup>
hsa05152: Tuberculosis	10	3.73×10 <sup>-5</sup>

利用 Omicshare 平台对靶标命中数量排名前20的通路进行可视化处理,结果见图2。通路富集中度值较大的神经活性配体-受体相互作用通路(Neuroactive ligand-receptor interaction)、乙肝(Hepatitis B)和癌症信号通路(Pathways in cancer),可能是苍耳子发挥其神经系统、免疫系统及抗肿瘤作用的主要作用通路。另外通路富集中P值排名前二十的通路中有10个与肿瘤相关,5个与神经系统有关,预测苍耳子作用靶点的通路可能在治疗肿瘤和神经系统上也有优势。

**2.4 成分-靶点-通路网络构建及拓扑分析** 采用 Cytoscape 3.7.0 对所筛选得到的10个成分、37条通路以及其相关靶点进行成分-靶点-通路网络的构建。共得到节点99个(包括9个化合物,53个靶点,37个通路),边413条,见图3。其中一个化合物、23个靶点未富集到通路。对网络进行拓扑参数分析,结果显示排名前十的靶点分别为PIK3CG, RELA, TP53, PRKCA, CASP3, CASP9, TNF, BCL2, JUN, BAX等靶点在网络具有较高的度值,说明这些靶点在苍耳子发挥抗肿瘤、抗炎、免疫系统作用等药效的过程中具有重要作用。

度值最大的通路PIK3CG是磷脂酰肌醇3-OH激酶(PI3K)的一个催化亚基,参与细胞增殖、凋亡、迁移、炎症反应<sup>[16]</sup>,另外该基因的沉默可导致结肠癌发生和发展<sup>[17]</sup>。RELA是NF-κB转录因子蛋白的一个亚型,NF-κB通过调节Th1/Th2细胞因子的比例,可降低IgE的表达,进而影响变应性鼻炎的发

生发展<sup>[18]</sup>。体现了苍耳子治疗疾病的多成分、多靶点、多通路的协同作用。

### 3 讨论

苍耳子现有研究主要为抗肿瘤、抑菌、抗炎镇痛、降血糖等<sup>[19]</sup>,本研究采用网络药理学对苍耳子的活性成分、作用靶点、主要信号通路等方面的关联性进行了分析。共筛选出10个候选化合物,相关靶点76个,相关通路共37条。度值前三的候选化合物为β-谷甾醇、芦荟大黄素、黄花菜木脂素A,β-谷甾醇具有抗肿瘤、抗炎、降胆固醇等活性<sup>[20]</sup>;芦荟大黄素可以明显改善NASH肝细胞的脂肪变性、炎症浸润等病理损害<sup>[21]</sup>。度值前三的靶点为PIK3CG, RELA, TP53,其中PIK3CG在心肌梗死、血栓形成及动脉粥样硬化等心血管疾病中起着重要作用<sup>[22]</sup>,预示苍耳子可能具有治疗心血管疾病的作用。作用靶点参与的作用通路涉及神经系统、抗炎、乙肝、免疫系统及抗肿瘤等通路,其中有10条与肿瘤相关,5条与神经系统有关。由此可推断苍耳子可通过炎症、免疫等通路起到散风寒、通鼻窍、祛风湿的功效。同时本研究显示,苍耳子还可能通过神经系统、肿瘤等通路发挥神经系统及抗肿瘤等作用,为苍耳子进一步深入探讨作用机制及研究方向奠定了良好基础。

综上所述,本研究应用网络药理学方法对苍耳子的化学成分、作用靶点和相关通路进行了探索性研究。研究结果初步验证了苍耳子的基本药理学作用和相关机制,并为进一步深入探讨作用机制奠定了良好基础。然而,网络药理学作为一种新兴的药物研究手段,还存在一定的局限性,依托数据库以数据研究为基础对其药效进行研究,还需要更多药理实验研究才能将得出的结论应用于临床。同时,本研究在筛选化合物中存在局限性,可能导致主要成分筛选不充分,药理作用研究不全面;中药在炮制前后成分可能发生改变,并且药效、毒性也会不同,药效及机制研究不明确,尚需进一步深入研究探讨。

(本文图1~3见插图2-1)

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [2] 庄延双,胡静,蔡皓,等.苍耳子化学成分及药理作用研究进展[J].南京中医药大学学报,2017,33(4):428-432.
- [3] PIAGENTE S, PIZZA C, DE TOMMASI N, et al. Sesquiterpene and diterpene glycosides from *Xanthium spinosum*[J]. Phytochemistry, 1996, 41(5): 1357-1360.

- [4] QIN L, HAN T, LI H, et al. A new thiazinedione from *Xanthium strumarium* [J]. *Fitoterapia*, 2006, 77(3): 245-246.
- [5] JIANG H, YANG L, LIU C, et al. Four new glycosides from the fruit of *Xanthium sibiricum* Patr [J]. *Molecules*, 2013, 18(10): 12464-12473.
- [6] 姜海, 张妍妍, 张颖, 等. 苍耳子化学成分研究[J]. *中医药信息*, 2016, 33(3): 8-10.
- [7] HWANG SH, WANG Z, YOON HN, et al. *Xanthium strumarium* as an Inhibitor of  $\alpha$ -glucosidase, protein tyrosine phosphatase 1 $\beta$ , protein glycation and ABTS<sup>+</sup> for diabetic and its complication [J]. *Molecules*, 2016, 21(9): 1241.
- [8] 延光海, 金光玉, 李光昭, 等. 苍耳子提取物抑制大鼠肥大细胞活化的机制研究[J]. *解剖科学进展*, 2010, 16(02): 164-166, 170.
- [9] 熊颖. 苍耳子免疫抑制活性部位初步研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2006.
- [10] HUANG MH, WANG BS, CHIU CS, et al. Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of *Xanthii Fructus* extract [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 135(2): 545-552.
- [11] 崔秀荣, 马海波, 张旗, 等. 苍耳子的化学成分和临床应用研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2012, 27(6): 614-618.
- [12] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2015, 29(6): 883-892.
- [13] 魏金婷, 刘文奇. 植物药活性成分 $\beta$ -谷甾醇研究概况[J]. *莆田学院学报*, 2007, 14(2): 38-40, 46.
- [14] 李牧, 杜智敏. 芦荟大黄素的药理作用研究进展[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(9): 765-768.
- [15] 李帅岚, 邹崢嵘. 蜡梅属植物中黄酮和香豆素类成分及药理活性研究进展[J]. *中草药*, 2018, 49(14): 3425-3431.
- [16] 宋丽. 中国北方地区汉族人群PIK3CG基因多态性与冠心病的关联研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [17] SEMBA S, ITOH N, ITO M, et al. Down-regulation of PIK3CG, a catalytic subunit of phosphatidylinositol 3-OH kinase, by CpG hypermethylation in human colorectal carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(12): 3824-3831.
- [18] 张敏. TLR-NF- $\kappa$ B信号通路在大鼠变应性鼻炎发病中的作用及雷公藤多甙干预机制的研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2012.
- [19] 李钰馨, 韩燕全, 洪燕, 等. 苍耳子的主要化学成分及药理活性研究进展[J]. *中国药房*, 2015, 26(34): 4868-4871.
- [20] 张帆. 植物甾醇的生物活性与构效关系初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- [21] 张莹莹, 周培, 王炳芳. 芦荟大黄素对小鼠非酒精性脂肪性肝炎的治疗作用[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2016, 26(4): 283-287.
- [22] LI KC, YU SH, ZHUGE BZ. PIK3CG single nucleotide polymorphisms are associated with poor responsiveness to clopidogrel and increased risk of ischemia in patients with coronary heart disease [J]. *Medicine*, 2017, 96(36): e7566. DOI: 10.1097 / MD.0000000000007566.

(收稿日期: 2019-06-13, 修回日期: 2019-08-15)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.02.007

◇ 药学研究 ◇

## 护肝益肺方水提物对抗结核药所致肝损伤小鼠保护作用的研究

丁亮<sup>1</sup>, 武谦虎<sup>2</sup>, 凌美<sup>2</sup>, 盛健惠<sup>2</sup>, 张建军<sup>2</sup>, 彭国平<sup>1</sup>, 李存玉<sup>1</sup>, 黄春帆<sup>1</sup>作者单位: <sup>1</sup>南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; <sup>2</sup>镇江市第三人民医院药剂科, 江苏 镇江 212000

通信作者: 武谦虎, 男, 主任中药师, 硕士生导师, 研究方向为中药药理, E-mail: wuqihu2003@163.com

基金项目: 江苏省中医药局资助科技项目(YB2017081)

**摘要:** **目的** 探讨护肝益肺方对抗结核药所致肝损伤小鼠的保护作用。 **方法** 将70只小鼠设为空白对照组、模型对照组、阳性对照组、护肝益肺全方低剂量组、全方高剂量组、护肝方低剂量组、护肝方高剂量组。除空白对照组外,其余组小鼠每天给予100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>异烟肼+400 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>利福平,空白组给予0.9%氯化钠注射液,阳性对照组给予750 mg/kg水飞蓟宾葡甲胺溶液,全方低剂量组(5 g生药/kg)和全方高剂量组(10 g生药/kg)分别给予护肝益肺全方药,护肝低剂量组(2 g生药/kg)和护肝高剂量组(4 g生药/kg)分别给予护肝方药,连续静脉注射给药2周。末次给药24 h后取材,收集小鼠血液和肝组织样品进行血清中生化指标的检测并观察小鼠肝病情况。 **结果** 连续2周给药利福平、异烟肼,通过生化检测及病理检查证实小鼠肝损伤模型制备成功。护肝益肺全方、护肝方各剂量组能显著抑制肝损伤模型小鼠血清中总胆红素(TBIL)( $P < 0.01$ )和碱性磷酸酶(ALP)的升高( $P < 0.05$ ),亦能抑制肝组织中丙二醛(MDA)的升高( $P < 0.01$ ),增强肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)的活性和谷胱甘肽(GSH)的水平( $P < 0.05$ )。病理切片观察也显示护肝益肺全方、护肝方各剂量组较模型组肝细胞脂肪变性明显减轻。 **结论** 护肝益肺方水提物对抗结核药所致肝损伤具有明显保护作用,且作用机制与抗氧化作用有关。

**关键词:** 药物性肝损伤, 慢性; 利福平; 异烟肼; 中草药; 胆红素; 碱性磷酸酶; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽; 小鼠; 护肝益肺方