

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.19.007

# 藤枝愈痹颗粒治疗类风湿关节炎作用机制的网络药理学和分子对接技术探讨\*

庄丽,陈照宇<sup>△</sup>,韩光明,杨倩,张艳

(山东省日照市中医医院,山东日照 276800)

**摘要:**目的 基于网络药理学和分子对接技术探讨藤枝愈痹颗粒治疗类风湿关节炎的作用机制。方法 通过TCMSP数据库,以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为条件筛选藤枝愈痹颗粒中鸡血藤、青风藤、海风藤、络石藤、桂枝、桑枝、稀莪草、薏苡仁的活性成分及成分靶点,并借助Uniprot数据库对成分靶点进行标准化处理。通过GeneCards数据库及DisGeNET数据库获取类风湿关节炎的潜在靶点,借助Venny 2.0.2数据库获取藤枝愈痹颗粒与类风湿关节炎的共有靶点,使用Cytoscape3.7.0软件构建中药-活性成分-共有靶点网络,并筛选度值靠前的成分作为核心成分。通过String数据库构建蛋白互作网络(PPI),并根据度值筛选排名靠前的靶点作为核心靶点。通过DAVID平台对共有靶点进行GO功能富集分析及KEGG通路富集分析,采用Autodock Vina软件对核心成分和核心靶点进行分子对接验证。结果 筛选得到藤枝愈痹颗粒与类风湿关节炎共有靶点85个,中药-活性成分-共有靶点网络分析得到木犀草素、山柰酚、甘草查耳酮A等10个核心成分,PPI分析得到白细胞介素6(IL-6)、信号转导及转录激活因子3(STAT3)、促分裂原活化的蛋白激酶8(MAPK8)等10个核心靶点,KEGG通路富集分析得到肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素17(IL-17)及磷脂酰肌醇3-激酶-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(PI3K-AKT)等130条信号通路。分子对接结果显示,核心成分与核心靶点的对接结合能均低于-5 kJ/mol。结论 藤枝愈痹颗粒通过多成分作用于多靶点、多通路的模式发挥治疗类风湿关节炎的作用。

**关键词:**藤枝愈痹颗粒;类风湿关节炎;网络药理学;分子对接;作用机制

中图分类号:R932;R285.5

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)19-0036-09

## Mechanism of Tengzhi Yubi Granules in the Treatment of Rheumatoid Arthritis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

ZHUANG Li, CHEN Zhaoyu, HAN Guangming, YANG Qian, ZHANG Yan

(Rizhao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Rizhao, Shandong, China 276800)

**Abstract: Objective** To investigate the mechanism of Tengzhi Yubi Granules in the treatment of rheumatoid arthritis (RA) based on the network pharmacology and molecular docking technology. **Methods** The TCMSP database was used to screen the active components of *Spatholobi Caulis*, *Sinomenii Caulis*, *Piperis Kadsurae Caulis*, *Trachelospermi Caulis et Folium*, *Cinnamomi Ramulus*, *Mori Ramulus*, *Siegesbeckiae Herba* and *Coicis Semen* in Tengzhi Yubi Granules and the targets of the components with the oral bioavailability (OB) ≥ 30% and the drug-likeness (DL) ≥ 0.18, and the Uniprot database was used to standardize the targets of components. The GeneCards and DisGeNET databases were used to obtain the potential targets of RA, and the Venny 2.0.2 database was used to obtain the common targets of active components in Tengzhi Yubi Granules and RA. The Cytoscape software was used to construct the traditional Chinese medicine (TCM) - active components - common targets network, and the components with the higher degree were screened as the core components. The String database was used to construct the protein-protein interaction (PPI) network, and the targets with the higher degree were screened as the core targets. The DAVID platform was used for the gene ontology (GO) function enrichment analysis and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of common targets. The Autodock Vina software was used to verify the molecular docking of the core components and core targets. **Results** A total of 85 common targets of active components in Tengzhi Yubi Granules and RA were screened. The TCM - active components - common targets network analysis showed that there were 10 core components such as luteolin, kaempferol and licochalcone A. The PPI analysis showed that there were 10 core targets such as interleukin-6 (IL-6), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and mitogen-activated protein kinase 8 (MAPK8). The KEGG pathway enrichment analysis showed that there were 130 signal pathways such as tumor necrosis factor (TNF), interleukin-17 (IL-17) and phosphatidylinositol 3-kinase-serine/threonine protein kinase (PI3K-AKT). The molecular docking showed that the docking binding energy of the core components and the core targets was lower than -5 kJ/mol. **Conclusion** Tengzhi Yubi Granules plays the role of treating RA through the multiple components, multiple targets and multiple pathways.

**Key words:** Tengzhi Yubi Granules; rheumatoid arthritis; network pharmacology; molecular docking; mechanism

类风湿关节炎是一种慢性、侵蚀性自身免疫性疾病,主要临床表现为对称性关节炎<sup>[1]</sup>,常伴有严重的疼

\*基金项目:山东省中医药科技项目[2020Q112];济宁医学院教师科研扶持基金[JYFC2018FKJ138]。

第一作者:庄丽,女,硕士研究生,主管中药师,研究方向为中药制剂、中药饮片质量控制,(电子信箱)mh36030@163.com。

<sup>△</sup>通信作者:陈照宇,男,硕士研究生,主管中药师,研究方向为中药炮制、中药制剂、中药饮片质量控制,(电子信箱)coco\_shell@163.com。

痛和肿胀,严重者甚至会导致关节损伤和残疾,严重影响患者的生活质量<sup>[2]</sup>。目前,全球的发病率为0.3%~1.0%,我国类风湿关节炎的患病人数随人口老龄化趋势逐年增加<sup>[3]</sup>。由于发病原因不明且发病机制复杂,其病理机制尚不明确。临床常用的非甾体抗炎药及糖皮质激素等抗类风湿关节炎药物,一定程度上缓解了病情,但长期使用会产生副作用<sup>[4]</sup>。中医认为,类风湿关节炎属“历节风”“顽痹”等范畴,由风、寒、湿三气杂至所致<sup>[5-6]</sup>。中医药治疗类风湿关节炎历史悠久,潜力和优势明显。藤枝愈痹颗粒是根据全国名老中医孙学全主任医师临床经验方藤枝愈痹方制备而成的颗粒剂,由鸡血藤、络石藤、青风藤、海风藤、桂枝、桑枝、豨莶草、薏苡仁等组方,具有祛风除湿、散寒止痛功效。其治疗类风湿关节类的疗效显著,但由于中药复方成分复杂,具体的物质基础及作用机制并不明确。网络药理学是通过构建药物、靶点及疾病之间的复杂调控网络,从整体上揭示中药与疾病的相关性,进而系统阐述中药多成分、多靶点、多通路的潜在分子机制<sup>[7]</sup>。本研究中基于网络药理学和分子对接技术,对藤枝愈痹颗粒治疗类风湿关节炎的活性成分、作用靶点及作用机制进行预测和分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料收集

本研究中所用数据库信息见表1。

表1 数据库信息

Tab.1 Information of databases

| 数据库        | 数据库名称           | 网址                                                                                                                                            |
|------------|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TCMSP      | 中药系统药理学数据库与分析平台 | <a href="https://tcmsp-e.com/">https://tcmsp-e.com/</a>                                                                                       |
| Uniprot    | 蛋白质数据库          | <a href="https://www.uniprot.org/">https://www.uniprot.org/</a>                                                                               |
| GeneCards  | 基因信息数据库         | <a href="https://www.genecards.org/">https://www.genecards.org/</a>                                                                           |
| DisGeNET   | 基因-疾病关联关系数据库    | <a href="https://www.disgenet.org/">https://www.disgenet.org/</a>                                                                             |
| Venn 2.0.2 | 取交集数据库          | <a href="https://bioinfo.p.cn. csic. es/ tools/ venny/ index2.0.2. html">https:// bioinfo.p. cn. csic. es/ tools/ venny/ index2.0.2. html</a> |
| String     | 蛋白质-蛋白质相互作用数据库  | <a href="https://string-db.org/">https://string-db.org/</a>                                                                                   |
| DAVID      | 基因富集分析数据库       | <a href="https://david.ncicrf.gov/tools.jsp">https://david.ncicrf.gov/tools.jsp</a>                                                           |
| PubChem    | 有机小分子生物活性数据库    | <a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a>                                                             |
| PDB        | 蛋白质晶体结构数据库      | <a href="https://www1.rcsb.org/">https://www1.rcsb.org/</a>                                                                                   |

1.2 方法

藤枝愈痹颗粒活性成分及成分靶点获取:以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为筛选条件,通过TCMSP数据库检索藤枝愈痹颗粒中鸡血藤、青风藤、海风藤、络石藤、桂枝、桑枝、豨莶草、薏苡仁的活性成分及成分靶点,并借助Uniprot数据库对成分靶点进行标准化处理。

类风湿关节炎潜在靶点获取与筛选:以“rheumatoid arthritis”为关键词,分别在GeneCards及DisGeNET数据

中检索类风湿关节炎的靶点,取上述数据库的共有靶点为类风湿关节炎的潜在靶点。并将上述获得的成分靶点与类风湿关节炎的潜在靶点分别输入Venny 2.0.2数据库,得到的共有靶点即为藤枝愈痹颗粒治疗类风湿关节炎的潜在靶点。

中药-活性成分-共有靶点网络构建:按照一一对应的关系,分别将组成藤枝愈痹颗粒的中药、活性成分及共有靶点导入Cytoscape 3.7.0软件中,构建中药-活性成分-共有靶点网络,并对其进行拓扑参数分析,根据度值筛选位置靠前的成分为核心成分。网络中度值越大,表明网络中与其他节点连线越多,位置越重要。

蛋白互作网络(PPI)构建:将上述共有靶点导入String数据库中,最小交互打分值设置为0.7,物种设置为“智人”种,构建PPI,作用结果借助Cytoscape 3.7.0软件进行网络拓扑参数分析,并根据度值筛选位置靠前的靶点为核心靶点。

GO功能富集分析和KEGG通路富集分析:采用DAVID数据库对共有靶点进行分析,其中GO功能富集分析包括生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组成(CC)3个部分。设定 $P < 0.05$ 为富集结果较好的过程及通路,采用R语言作图分析。

分子对接验证:将得到的核心成分与核心靶点采用Autodock Vina软件进行分子对接验证。通过TCMSP数据库获取核心成分的MOL2格式,并借助ChemDrew 3D软件进行能量最小化处理,再采用Autodock 1.5.6软件保存为PDBQT文件格式,备用。采用RCSB PDB数据库获取核心靶点的晶体结构,并通过Autodock软件进行去水加氢、去配体等处理后保存为PDBQT文件格式,备用。最后采用Autodock Vina软件对核心成分与核心靶点进行分子对接处理。以最低结合能评价结合的分子对接结果,结合能越低,对接结果越好。本研究中以结合能不高于-5 kJ/mol为两者相互作用较好<sup>[8]</sup>。

2 结果

2.1 活性成分及成分靶点

通过TCMSP数据库共筛选出活性成分88个,其中桂枝7个,海风藤21个,鸡血藤23个,络石藤9个,青风藤6个,桑叶3个,豨莶草9个,薏苡仁9个(表2),剔除无靶点及重复成分后得到67个活性成分。得到藤枝愈痹颗粒成分靶点1196个,剔除重复项后得到164个成分靶点。

2.2 治疗类风湿关节炎的潜在靶点

通过GeneCards及DisGeNET数据库分别获得类风湿关节炎靶点5018个、2723个,取交集后得到潜在靶点1879个,再与上述的164个成分靶点取交集后得到共有靶点85个,即为藤枝愈痹颗粒治疗类风湿关节炎的潜在靶点(图1)。

表 2 藤枝愈癬颗粒活性成分  
Tab. 2 Active components in Tengzhi Yubi Granules

| 中 药      | MOLID     | 活性成分                                                                                                                                                                         | 分子式                                                           | 中 药 | MOLID     | 活性成分                                                                                                                                                                                                                                                                              | 分子式                                                           |
|----------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 桂 枝      | MOL001736 | (-)-taxifolin                                                                                                                                                                | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>                | 鸡 血 | MOL000296 | hederagenin                                                                                                                                                                                                                                                                       | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>                |
|          | MOL000358 | $\beta$ -sitosterol                                                                                                                                                          | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                             | 藤   | MOL000033 | (3 <i>S</i> , 8 <i>S</i> , 9 <i>S</i> , 10 <i>R</i> , 13 <i>R</i> , 14 <i>S</i> , 17 <i>R</i> )-10, 13-dimethyl-17-[(2 <i>R</i> , 5 <i>S</i> )-5-propan-2-ylotantan-2-yl]-2, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17-dodecahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta[ <i>a</i> ]phenanthren-3-ol | C <sub>30</sub> H <sub>52</sub> O                             |
|          | MOL004576 | taxifolin                                                                                                                                                                    | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>                |     | MOL000497 | licochalcone A                                                                                                                                                                                                                                                                    | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>                |
|          | MOL011169 | peroxyergosterol                                                                                                                                                             | C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub>                |     | MOL000358 | $\beta$ -sitosterol                                                                                                                                                                                                                                                               | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                             |
|          | MOL000492 | (+)-catechin                                                                                                                                                                 | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                |     | MOL000392 | formononetin                                                                                                                                                                                                                                                                      | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>                |
|          | MOL000073 | ent-epicatechin                                                                                                                                                              | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                |     | MOL000501 | consume close grain                                                                                                                                                                                                                                                               | C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                |
|          | MOL000359 | sitosterol                                                                                                                                                                   | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                             |     | MOL000502 | cajinin                                                                                                                                                                                                                                                                           | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                |
| 海 风<br>藤 | MOL000308 | (2 <i>R</i> , 3 <i>R</i> , 3 <i>aS</i> )-3 <i>a</i> -allyl-2-(1, 3-benzodioxol-5-yl)-5-methoxy-3-methyl-2, 3-dihydrobenzofuran-6-one                                         | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000490 | petunidin                                                                                                                                                                                                                                                                         | C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClO <sub>7</sub>              |
|          | MOL000327 | (4 <i>R</i> )-2-allyl-4-[( <i>E</i> )-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-methylvinyl]-4, 5-dimethoxy-1-cyclohexa-2, 5-dienone                                                   | C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000491 | augelicin                                                                                                                                                                                                                                                                         | C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub>                |
|          | MOL000319 | bicyclo(3. 2. 1)oct-3-ene-2, 8-dione, 7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-methoxy-6-methyl-3-(2-propenyl)-, [1 <i>R</i> -(6-endo, 7-exo)]-                                       | C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000461 | 3, 7-dihydroxy-6-methoxy-dihydroflavonol                                                                                                                                                                                                                                          | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                |
|          | MOL000312 | futokadsurin C                                                                                                                                                               | C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000468 | 8- <i>O</i> -methylreyusi                                                                                                                                                                                                                                                         | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>                |
|          | MOL000330 | piperlactam S                                                                                                                                                                | C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>               |     | MOL000507 | psi-baptigenin                                                                                                                                                                                                                                                                    | C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>                |
|          | MOL000321 | (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i> )-2-(3, 4-dimethoxyphenyl)-7-methoxy-3-methyl-2, 3-dihydrobenzofuran-5-carbaldehyde                                                                 | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000469 | 3-hydroxystigmast-5-en-7-one                                                                                                                                                                                                                                                      | C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>                |
|          | MOL000314 | (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i> , 4 <i>S</i> , 5 <i>S</i> )-2, 5-bis(3, 4-dimethoxyphenyl)-3, 4-dimethyltetrahydrofuran                                                             | C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000470 | 8-c- $\alpha$ - <i>L</i> -arabinosylluteolin                                                                                                                                                                                                                                      | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>               |
|          | MOL000332 | <i>N</i> -coumaroyltyramine                                                                                                                                                  | C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub>               |     | MOL000500 | vestitol                                                                                                                                                                                                                                                                          | C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>                |
|          | MOL000323 | kadsurin A                                                                                                                                                                   | C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>                |     | MOL000471 | aloe-emodin                                                                                                                                                                                                                                                                       | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>                |
|          | MOL000324 | kadsurin B                                                                                                                                                                   | C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>                |     | MOL000483 | ( <i>Z</i> )-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)- <i>N</i> -[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide                                                                                                                                                                                        | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>               |
|          | MOL000336 | futoquinol                                                                                                                                                                   | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000417 | calycosin                                                                                                                                                                                                                                                                         | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>                |
|          | MOL000318 | (1 <i>R</i> , 5 <i>S</i> , 6 <i>R</i> , 7 <i>R</i> , 8 <i>R</i> )-3-allyl-6-(3, 4-dimethoxyphenyl)-8-hydroxy-1-methoxy-7-methyl-4-bicyclo[3. 2. 1]oct-2-ene                  | C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000449 | stigmasterol                                                                                                                                                                                                                                                                      | C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O                             |
|          | MOL000310 | denudatin B                                                                                                                                                                  | C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000503 | medicagol                                                                                                                                                                                                                                                                         | C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>                 |
|          | MOL000328 | piperkadsin B                                                                                                                                                                | C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000506 | lupinidine                                                                                                                                                                                                                                                                        | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub>                |
|          | MOL000320 | acetic acid [(1 <i>R</i> , 5 <i>S</i> , 6 <i>R</i> , 7 <i>R</i> , 8 <i>R</i> )-3-allyl-6-(3, 4-dimethoxyphenyl)-1-methoxy-7-methyl-4-oxo-8-bicyclo[3. 2. 1]oct-2-enyl] ester | C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>                |     | MOL000492 | (+)-catechin                                                                                                                                                                                                                                                                      | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                |
|          | MOL000313 | galgravin                                                                                                                                                                    | C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000493 | campesterol                                                                                                                                                                                                                                                                       | C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O                             |
|          | MOL000449 | stigmasterol                                                                                                                                                                 | C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O                             |     | MOL000006 | luteolin                                                                                                                                                                                                                                                                          | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>                |
|          | MOL000322 | kadsurenone                                                                                                                                                                  | C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>                | 络 石 | MOL000359 | sitosterol                                                                                                                                                                                                                                                                        | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                             |
|          | MOL000315 | hancinone                                                                                                                                                                    | C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>                | 藤   | MOL000449 | stigmasterol                                                                                                                                                                                                                                                                      | C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O                             |
|          | MOL000316 | isofutoquinol A                                                                                                                                                              | C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000522 | arctiin                                                                                                                                                                                                                                                                           | C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>11</sub>               |
|          | MOL000334 | wallichinine                                                                                                                                                                 | C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>                |     | MOL000529 | ibogain                                                                                                                                                                                                                                                                           | C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O              |
|          |           |                                                                                                                                                                              |                                                               |     | MOL000006 | luteolin                                                                                                                                                                                                                                                                          | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>                |
|          |           |                                                                                                                                                                              |                                                               |     | MOL000525 | norwogonin                                                                                                                                                                                                                                                                        | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>                |
|          |           |                                                                                                                                                                              |                                                               |     | MOL000527 | luteolin-4'- <i>O</i> - $\beta$ - <i>D</i> -glucoside                                                                                                                                                                                                                             | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>               |
|          |           |                                                                                                                                                                              |                                                               |     | MOL000528 | voacangine                                                                                                                                                                                                                                                                        | C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> |
|          |           |                                                                                                                                                                              |                                                               |     | MOL000533 | 2(3 <i>H</i> )-furanone, 4-[(3, 4-dimethoxyphenyl)methyl]-3-[(4-( $\beta$ - <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-3-methoxyphenyl)methyl]dihydro-3-hydroxy-, (3 <i>S</i> -cis)-                                                                                                            | C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>12</sub>               |
| 青 风      | MOL000358 | $\beta$ -sitosterol                                                                                                                                                          | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                             |     |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                               |
| 藤        | MOL000621 | 16-epi-isositsirikine                                                                                                                                                        | C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> |     |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                               |
|          | MOL000625 | sinomenine                                                                                                                                                                   | C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>               |     |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                               |



续表 2 藤枝愈痹颗粒活性成分

| Continued Tab.2 Active components in Tengzhi Yubi Granules |           |                                                                                                                                                                      |                                                               |    |           |                                                                                          |                                                                                 |
|------------------------------------------------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 中药                                                         | MOLID     | 活性成分                                                                                                                                                                 | 分子式                                                           | 中药 | MOLID     | 活性成分                                                                                     | 分子式                                                                             |
|                                                            | MOL000622 | magnograndiolide                                                                                                                                                     | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>                |    | MOL004177 | 15α - hydroxy - ent - kaur - 16 - en - 19 - oic acid                                     | C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>                                  |
|                                                            | MOL000623 | michelenolide                                                                                                                                                        | C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>                |    | MOL004179 | vernolic acid                                                                            | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>                                  |
|                                                            | MOL000627 | stepholidine                                                                                                                                                         | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>               |    | MOL004185 | siegesmethyletheric acid                                                                 | C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>                                  |
| 桑叶                                                         | MOL000422 | kaempferol                                                                                                                                                           | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>                | 薏苡 | MOL001323 | sitosterol alpha1                                                                        | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O                                               |
|                                                            | MOL000737 | morin                                                                                                                                                                | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>                | 仁  | MOL001494 | mandenol                                                                                 | C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                                  |
|                                                            | MOL000729 | oxysanguinarine                                                                                                                                                      | C <sub>20</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>               |    | MOL002372 | (6Z,10E,14E,18E) - 2,6,10,15,19,23 - hexame-<br>thyltetracos - 2,6,10,14,18,22 - hexaene | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>                                                 |
| 稀荬                                                         | MOL000296 | hederagenin                                                                                                                                                          | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>                |    | MOL008118 | coixenolide                                                                              | C <sub>38</sub> H <sub>70</sub> O <sub>4</sub>                                  |
| 草                                                          | MOL000449 | stigmasterol                                                                                                                                                         | C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O                             |    | MOL008121 | 2 - monoolein                                                                            | C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>                                  |
|                                                            | MOL000358 | β - sitosterol                                                                                                                                                       | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                             |    | MOL002882 | [ (2R) - 2,3 - dihydroxypropyl] - (Z) - octadec -<br>9 - enoate                          | C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>                                  |
|                                                            | MOL004180 | coronaridine                                                                                                                                                         | C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |    | MOL000359 | sitosterol                                                                               | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                                               |
|                                                            | MOL004184 | siegesesteric acid II                                                                                                                                                | C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>                |    | MOL000449 | stigmasterol                                                                             | C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O                                               |
|                                                            | MOL004172 | (1R) - 1 - [ (2S,4aR,4bS,7R,8aS) - 7 -<br>hydroxy - 2,4b,8,8 - tetramethyl - 4,4a,<br>5,6,7,8a,9,10 - octahydro - 3H - phen-<br>anthren - 2 - yl]ethane - 1,2 - diol | C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>                |    | MOL000953 | CLR                                                                                      | C <sub>38</sub> H <sub>59</sub> BF <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> P |

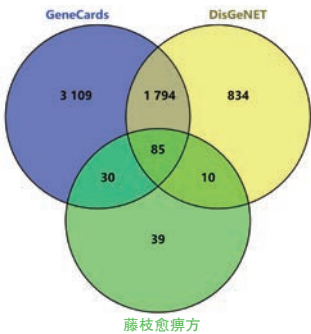


图 1 藤枝愈痹颗粒活性成分与类风湿关节炎共有靶点维恩图  
Fig.1 Venn diagram of the common targets of the active components in Tengzhi Yubi Granules and RA

2.3 中药 - 活性成分 - 共有靶点网络构建

将中药、活性成分及共有靶点导入 Cytoscape 3.7.0 软件中构建中药 - 活性成分 - 共有靶点网络(图 2),包含 158 个节点、507 条边。根据度值筛选得到木犀草素、山柰酚、甘草查耳酮 A 等 10 个成分为核心成分,详见表 3。

2.4 PPI 构建

通过 String 数据库构建 PPI(图 3),其中包含 85 个节点、569 条边。根据度值筛选得到白细胞介素 6(IL - 6)、信号转导及转录激活因子 3(STAT3)、促分裂原活化的蛋白激酶 8(MAPK8)、促分裂原活化的蛋白激酶 1(MAPK1)、丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 1(AKT1)等 10 个靶点为核心靶点,详见表 4。

2.5 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

通过 DAVID 数据库,对共有靶点进行分析。其中,GO 功能富集分析主要涉及对脂多糖的反应、对细菌来源分子的反应、对金属离子的反应等 1 619 条生物过程;细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物、丝氨酸 / 苏

表 3 藤枝愈痹颗粒核心成分信息

Tab.3 Information of core components of Tengzhi Yubi Granules

| 序号 | MOLID     | 度值 | 名称                                 | 来源                 |
|----|-----------|----|------------------------------------|--------------------|
| 1  | MOL000006 | 43 | 木犀草素(luteolin)                     | 鸡血藤、络石藤            |
| 2  | MOL000422 | 34 | 山柰酚(kaempferol)                    | 桑叶                 |
| 3  | MOL000497 | 22 | 甘草查耳酮 A(licochalcone A)            | 鸡血藤                |
| 4  | MOL000392 | 18 | 芒柄花素(formononetin)                 | 鸡血藤                |
| 5  | MOL000358 | 16 | β - 谷甾醇(β - sitosterol)            | 青风藤、稀荬草、桂枝、<br>鸡血藤 |
| 6  | MOL000468 | 16 | 8 - O - 甲雷杜辛(8 - O - methylreyusi) | 鸡血藤                |
| 7  | MOL000417 | 15 | 毛蕊异黄酮(calycosin)                   | 鸡血藤                |
| 8  | MOL000471 | 15 | 芦荟大黄素(aloe - emodin)               | 鸡血藤                |
| 9  | MOL000500 | 15 | 维斯体素(vestitol)                     | 鸡血藤                |
| 10 | MOL000507 | 14 | 假靛黄素(ψi - baptigenin)              | 鸡血藤                |

表 4 核心靶点信息

Tab.4 Information of core targets

| 序号 | 核心靶点   | 度值 | 英文名                                                  | 中文名                   |
|----|--------|----|------------------------------------------------------|-----------------------|
| 1  | IL - 6 | 41 | interleukin - 6                                      | 白细胞介素 - 6             |
| 2  | STAT3  | 38 | signal transduction and activator of transcription 3 | 信号转导及转录激活因子 3         |
| 3  | MAPK8  | 37 | mitogen - activated protein kinase 8                 | 促分裂原活化的蛋白激酶 8         |
| 4  | AKT1   | 37 | RAC - alpha serine / threonine protein kinase        | RAC - α 丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 |
| 5  | MAPK1  | 36 | mitogen - activated protein kinase 1                 | 促分裂原活化的蛋白激酶 1         |
| 6  | JUN    | 33 | transcription factor AP - 1                          | 转录因子 AP - 1           |
| 7  | MYC    | 32 | Myc proto - oncogene protein                         | Myc 原癌基因蛋白            |
| 8  | EGFR   | 31 | epidermal growth factor receptor                     | 表皮生长因子受体              |
| 9  | CCND1  | 31 | G1 / S specific cyclin - D1                          | G1 / S 特异性细胞周期蛋白 - D1 |
| 10 | CASP3  | 31 | cysteine aspartic acid specific protease - 3         | 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 - 3       |

氨酸蛋白激酶复合物及蛋白激酶复合物等 38 条细胞组成;核受体活性、配体激活的转录因子活性、泛素样蛋白

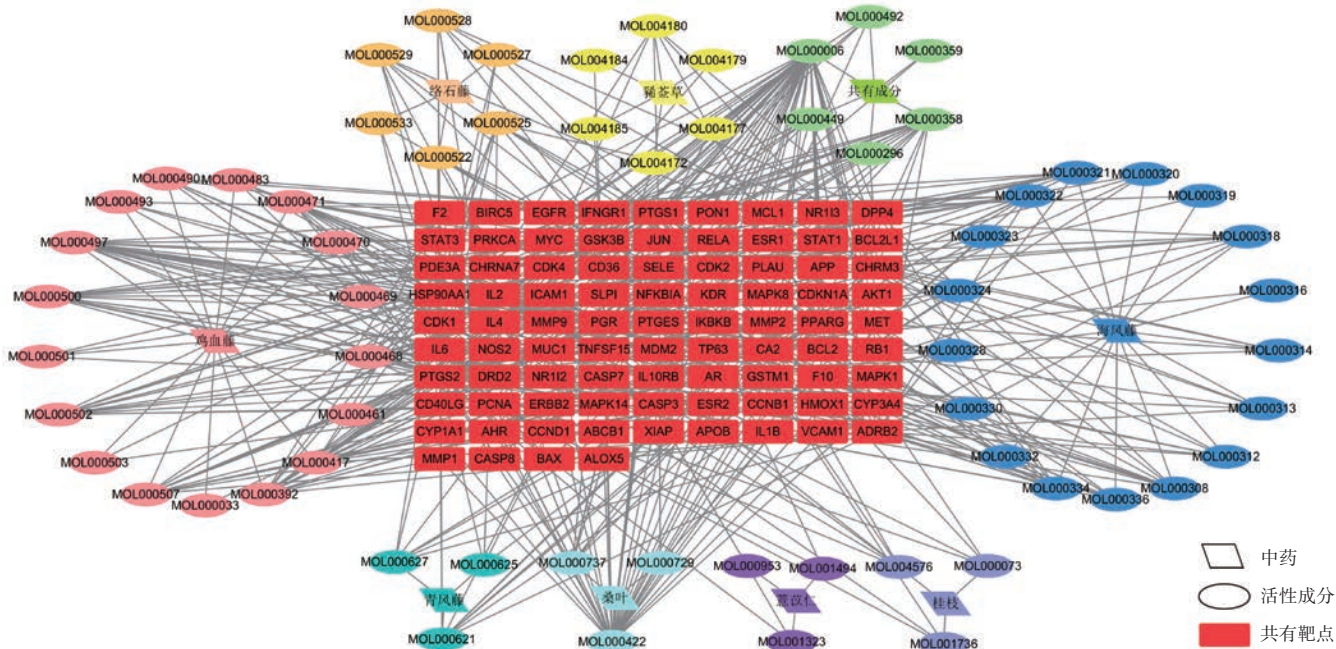


图 2 中药 - 活性成分 - 共有靶点网络

Fig. 2 Network of TCM - active components - common targets

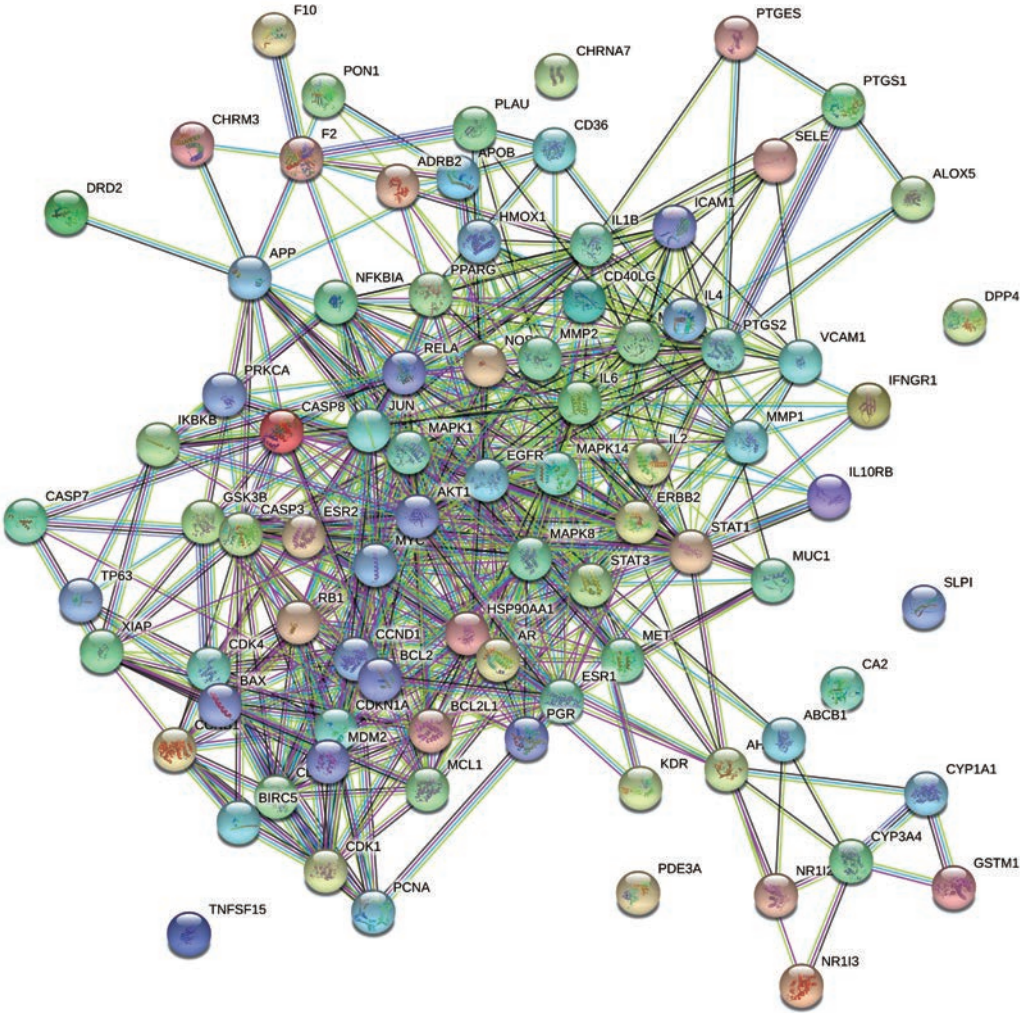


图 3 藤枝愈痹颗粒治疗类风湿关节炎的 PPI

Fig. 3 PPI of Tengzhi Yubi Granules in the treatment of RA



连接酶结合等120条分子功能,根据 $P$ 值各筛选前10条结果作图,详见图4。KEGG通路富集分析发现,共有靶点主要富集在肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素17(IL-17)及磷脂酰肌醇3激酶-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(PI3K-AKT)等130条信号通路,根据 $P$ 值筛选排名前20条结果作图,详见图5。

2.6 通路-核心靶点网络构建

为了更加清晰地反映通路与核心靶点间的关系,构建了通路-核心靶点网络(图6),网络中节点越大,度值越大。可见,MAPK1, AKT1, MAPK8等靶点富集的信号通路较多,是其核心靶点。

2.7 分子对接验证

采用Autodock Vina软件对排名前10个核心成分与

核心靶点进行分子对接验证(图7)。结果显示,核心成分与核心靶点的对接结合能均低于 $-5\text{ kJ/mol}$ ,表明对接结果良好(图7A)。甘草查耳酮A与IL-6、山柰酚与表皮生长因子受体(EGFR)的结合能最低(分别为 $-9.1, -9.0\text{ kJ/mol}$ ),表明其结合能力最强。采用Pymol软件展示其结合模式(图7B和图7C),甘草查耳酮A与IL-6在GLN, SER, ASN处形成氢键,山柰酚与EGFR在LEU, SER, MET处形成氢键,故具有较强的结合力。

3 讨论

类风湿关节炎的病理特征为反复性的关节滑膜炎及血管翳,具有较高的致残率,病因复杂,通常与激素、环境、遗传等因素有关<sup>[9]</sup>。本研究中基于网络药理学方法,通过TCMSP数据库共筛选得到藤枝愈痹颗粒活性

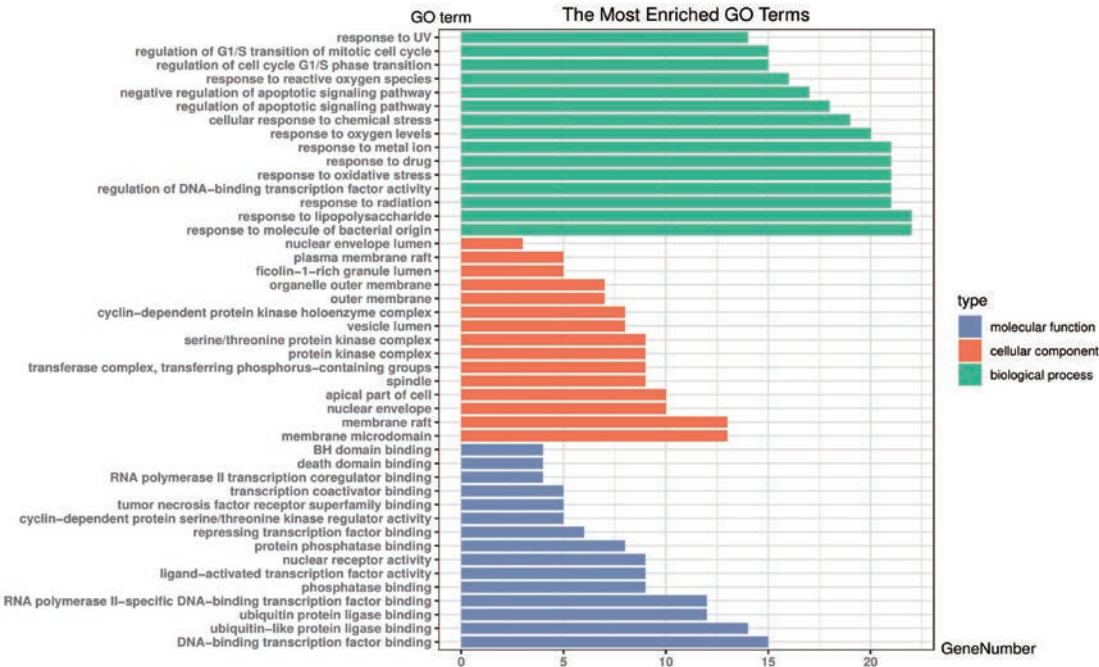


图4 GO功能富集分析条形图  
Fig. 4 Bar chart of GO function enrichment analysis

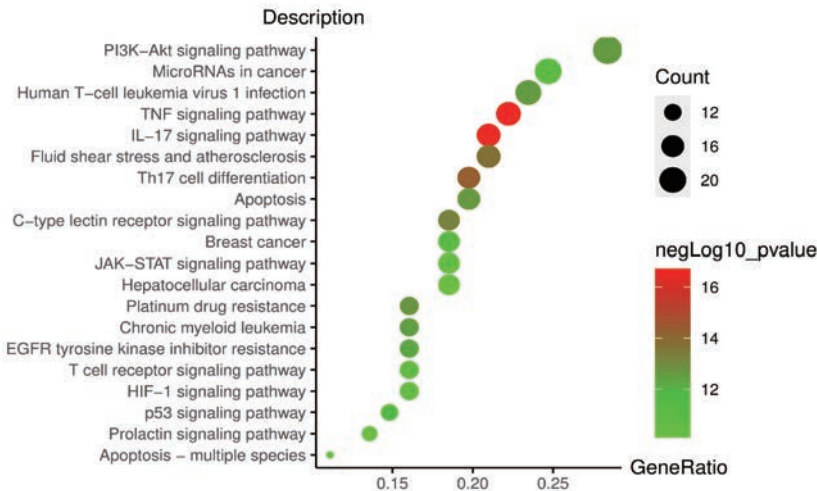


图5 KEGG通路富集分析气泡图  
Fig. 5 Bubble diagram of KEGG pathway enrichment analysis

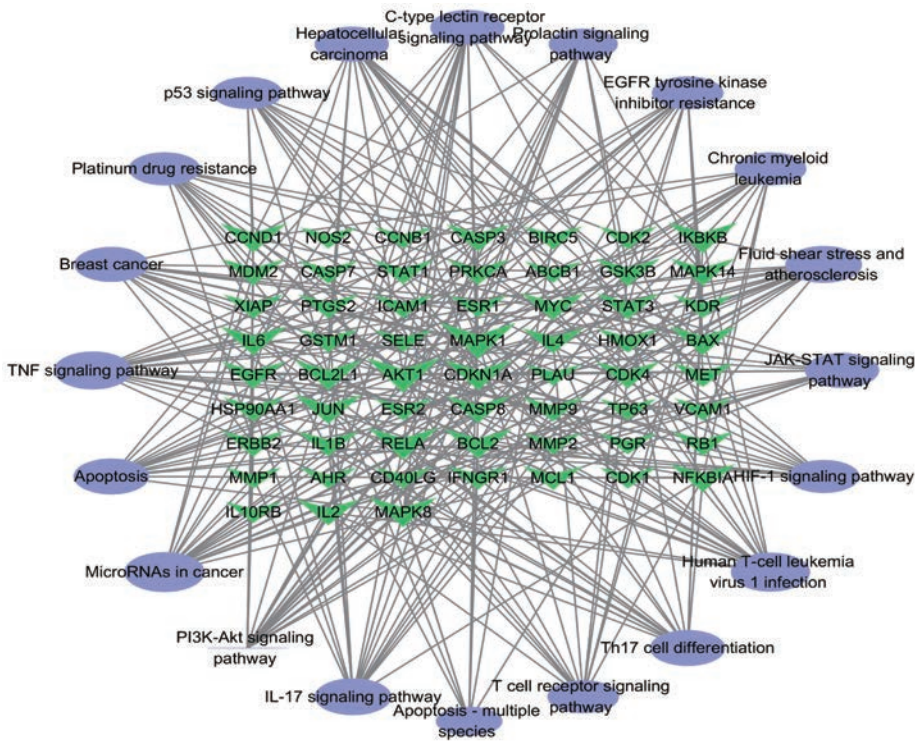
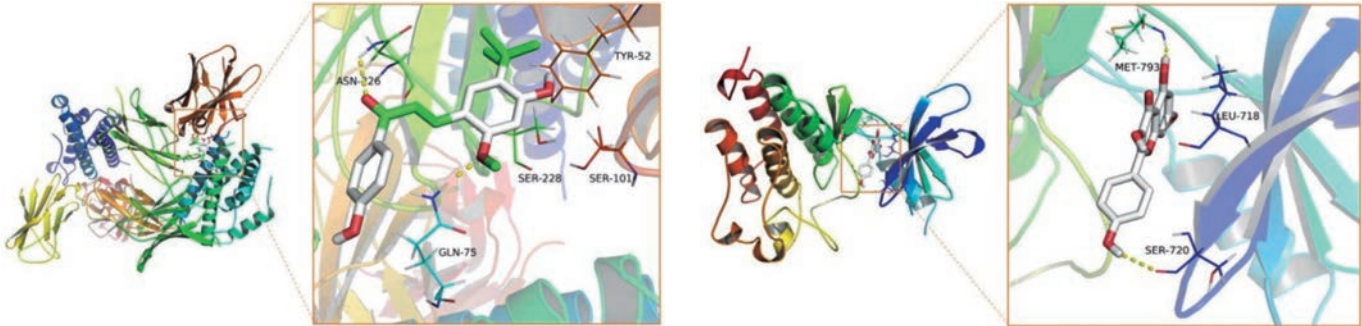
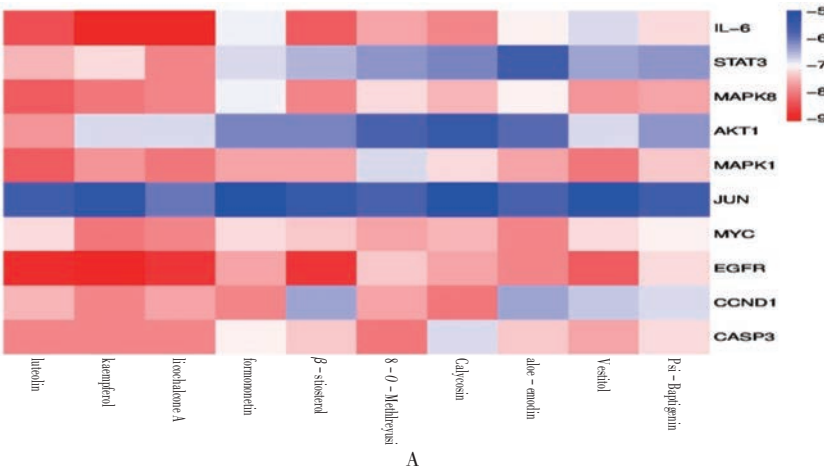


图 6 通路 - 核心靶点网络  
Fig. 6 Network of pathways - core targets



A. 核心成分与核心靶点分子对接打分热图 B. 甘草查耳酮A与IL - 6结合模式图 C. 山柰酚与EGFR结合模式图

图 7 分子对接图

A. Heat map of molecular docking scoring between the core components and core targets B. Binding pattern diagram of licochalcone A and IL - 6  
C. Binding pattern diagram of kaempferol and EGFR

Fig. 7 Diagram of molecular docking



成分67个,主要包括木犀草素、山柰酚、甘草查耳酮A等。木犀草素能抑制类风湿关节炎模型大鼠NLRP3炎性小体的高表达,使VEGF及缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )的表达水平下降,并增加骨组织内保护素的表达,从而保护骨关节<sup>[10]</sup>。山柰酚可显著抑制TNF- $\alpha$ 诱导的MAPK活化,进而抑制类风湿关节炎成纤维细胞样滑膜细胞的迁移和侵袭<sup>[11]</sup>。甘草查耳酮能通过增强p62的磷酸化和表达来激活Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1-核因子E2相关因子2(Keap1-Nrf2)信号,抑制细胞增殖和阻滞细胞周期,诱导凋亡,抑制促炎细胞因子分泌,进而抑制关节炎<sup>[12]</sup>。毛蕊异黄酮通过激活p62/Nrf2连接的血红素加氧酶1(HO-1)抑制类风湿关节炎滑膜成纤维细胞中促炎细胞因子的表达,可显著抑制IL-6和IL-33的分泌<sup>[13]</sup>。 $\beta$ -谷甾醇能显著下调类风湿关节炎模型小鼠的炎性细胞因子,减轻其关节肿胀而保护关节<sup>[14]</sup>。上述活性成分为藤枝愈痹颗粒抗类风湿关节炎的物质基础,对于后续研究具有重要意义。

PPI及KEGG通路富集分析结果显示,藤枝愈痹颗粒可能通过IL-6,STAT3,AKT1等靶点调控TNF,IL-17,PI3K/Akt等信号通路,从而发挥治疗类风湿关节炎的作用。IL-6为多效应细胞因子,其过度表达可使机体免疫功能失衡而处于病理状态。研究显示,IL-6水平的升高可加重患者关节肿痛及类风湿关节炎病情<sup>[15]</sup>。TNF- $\alpha$ 作为一种前细胞因子,可促进IL-6、趋化因子、前列腺素等的大量分泌,导致类风湿关节炎炎性反应与骨破坏<sup>[16]</sup>。IL-6可促进IL-17的分泌及表达,使滑膜组织增生,加重骨及软骨的破坏。研究表明,降低患者血清IL-6及IL-17的表达水平,可明显改善类风湿关节炎的免疫炎症反应<sup>[17]</sup>。STAT3是类风湿关节炎的关键致病因子,可抑制滑膜细胞凋亡,促进血管生成,激活Jun激酶(JNK)/STAT3信号通路,促进类风湿关节炎炎性反应。研究显示,通过抑制JNK1和STAT3的磷酸化,可抑制JNK/STAT3信号通路活化,从而对类风湿关节炎模型大鼠的炎性损伤及骨组织病变起到保护作用<sup>[18]</sup>。AKT1被认为与类风湿关节炎滑膜成纤维细胞生成有关。研究显示,激活AKT1/STAT3能促进B细胞的增殖与分化,进而加重关节炎<sup>[19]</sup>。AKT及其上游基因PI3K共同组成的PI3K/AKT信号通路在类风湿关节炎的发生与发展中起到了重要作用。研究显示,通过抑制PI3K/AKT信号的活性,使其下游VEGF的产生及表达水平降低,抑制滑膜组织血管的生成,进而对类风湿关节炎起到治疗作用<sup>[20]</sup>。

综上所述,藤枝愈痹颗粒通过木犀草素、山柰酚、甘草查耳酮A等成分作用于IL-6,STAT3,AKT1等靶点,从而发挥治疗类风湿关节炎的作用,涉及TNF,IL-17,PI3K/AKT等信号通路。

## 参考文献

- [1] 张 鸽,黄 炜. 脉血康胶囊联合甲氨蝶呤治疗类风湿性关节炎的临床观察[J]. 中国药房,2013,24(44):4167-4169.
- [2] ALETAHA D, SMOLEN JS. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: A Review [J]. JAMA, 2018, 320(13): 1360-1372.
- [3] CHAUDHARI K, RIZVI S, SYED BA. Rheumatoid arthritis: current and future trends [J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15(5):305-306.
- [4] VAN VOLLENHOVEN R. Treat - to - target in rheumatoid arthritis - are we there yet? [J]. Nat Rev Rheumatol, 2019, 15(3):180-186.
- [5] 余高成. 中医治疗类风湿性关节炎[J]. 现代养生,2021, 21(8):26-27.
- [6] 陈 涛,徐 浩,施 杞,等. 海风藤治疗类风湿性关节炎的网络药理学研究[J]. 中药新药与临床药理,2020,31(2): 192-198.
- [7] 段贤春,黄 石,彭代银,等. 网络药理学在中药复方研究中的应用[J]. 中国药理学通报,2020,36(3):303-308.
- [8] AHMED MF, SANTALI EY, EL - HAGGAR R. Novel piperazine - chalcone hybrids and related pyrazoline analogues targeting VEGFR - 2 kinase; design, synthesis, molecular docking studies, and anticancer evaluation [J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2021, 36(1):307-318.
- [9] 刘盼盼,郭盈盈. 雷公藤多苷片治疗关节炎机制的网络药理学研究[J]. 沈阳药科大学学报,2021,38(7):722-730.
- [10] 刘 杨,吕冰清,吴玉梅,等. 木犀草素抑制类风湿关节炎大鼠NLRP3炎性小体活化增强关节骨保护作用研究[J]. 中华中医药杂志,2021,36(1):513-516.
- [11] PAN DM, LI N, LIU YY, et al. Kaempferol inhibits the migration and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast - like synoviocytes by blocking activation of the MAPK pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 55:174-182.
- [12] SU XH, LI T, LIU ZQ, et al. Licochalcone A activates Keap1 - Nrf2 signaling to suppress arthritis via phosphorylation of p62 at serine 349 [J]. Free Radic Biol Med, 2018, 115:471-483.
- [13] SU XH, HUANG QC, CHEN JY, et al. Calycosin suppresses expression of pro - inflammatory cytokines via the activation of p62 / Nrf2 - linked heme oxygenase 1 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts [J]. Pharmacol Res, 2016, 113 (Pt A): 695-704.
- [14] LIU R, HAO DL, XU WY, et al.  $\beta$  - Sitosterol modulates macrophage polarization and attenuates rheumatoid inflammation in mice [J]. Pharm Biol, 2019, 57(1):161-168.
- [15] 段京明,王瑞明,李祥双,等. 细胞因子白细胞介素-6及胰岛素生长因子-1与类风湿关节炎临床表现的关联性研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,22(5):560-562.
- [16] WEI L, SUN Y, KONG XF, et al. The effects of dopamine receptor 2 expression on B cells on bone metabolism and TNF -  $\alpha$  levels in rheumatoid arthritis [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2016, 17:352.