

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)09-0042-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.09.010



天麻素抗偏头痛作用机制的网络药理学与分子对接研究*

杨杰, 郭步伐, 龙盼, 李沙

(毕节医学高等专科学校基础医学系, 贵州 毕节 551700)

摘要:目的 为天麻素在临床用于抗偏头痛提供理论依据。方法 通过 SwissTargetPrediction 数据库获取天麻素的作用靶点, GeneCards 数据库获取偏头痛的相关靶点, R 3.6.2 软件获取天麻素抗偏头痛的靶点, 将靶点输入 String 数据库构建蛋白互作网络, 运用 R 3.6.2 软件对天麻素抗偏头痛靶点进行 GO 生物过程富集分析和 KEGG 通路富集分析, 经 Cytoscape 3.9.1 软件构建靶点-通路网络。在 AutoDock_vina 1.1.2 分子模拟软件中进行分子对接, 验证天麻素与关键靶点的结合力。结果 获取天麻素抗偏头痛的靶点 50 个。GO 生物过程富集分析显示, 富集 *P* 值较显著的生物过程为内肽酶活性、碳酸盐脱水酶活性、水裂解酶活性等。KEGG 通路富集分析显示, 富集 *P* 值较显著的信号通路为氮代谢(hsa00910)、脂质与动脉粥样硬化(hsa05417)等, 其富集的靶点为碳酸酐酶(CA)、基质金属蛋白酶(MMP)、半胱氨酸天门冬氨酸特异性蛋白酶(CASP)等。分子对接结果显示, 天麻素与 CA1, CA9, MMP-9, CASP1 靶点的对接结合能绝对值均高于 7.5 kcal/mol。结论 天麻素通过多靶点、多途径影响 CA, MMP, CASP 等靶点基因的表达而起到抗偏头痛的作用。

关键词:天麻素; 偏头痛; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

Network Pharmacology and Molecular Docking Study on the Mechanism of Gastrodin Against Migraine

YANG Jie, GUO Bufa, LONG Pan, LI Sha

(Department of Fundamental Medicine, Bijie Medical College, Bijie, Guizhou, China 551700)

Abstract: Objective To provide a theoretical basis for the clinical application of gastrodin in the treatment of migraine. **Methods** The action targets of gastrodin were obtained through the SwissTargetPrediction database, the relevant targets of migraine were obtained through the GeneCards database, and the targets of gastrodin against migraine were obtained through R 3.6.2 software. The targets were inputted into the String database to construct a protein-protein interaction (PPI) network. The GO biological process enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were conducted on the targets of gastrodin against migraine by R 3.6.2 software, and a target pathway network was constructed by Cytoscape 3.9.1 software. Molecular docking was conducted in AutoDock_vina 1.1.2 molecular simulation software to verify the binding force of gastrodin with key targets. **Results** A total of 50 targets of gastrodin against migraine were obtained. GO biological process enrichment analysis showed that the biological processes with the more significant enrichment *P*-values were endopeptidase activity, carbonate dehydratase activity, and hydro-lyase activity. The enrichment analysis of KEGG pathway showed that the signaling pathways with the more significant enrichment *P*-values were nitrogen metabolism (hsa00910), lipid and atherosclerosis (hsa05417), and their enrichment targets were carbonic anhydrase (CA), matrix metalloproteinase (MMP), cysteine aspartate specific protease (CASP), etc. Molecular docking results showed that the absolute value of the docking binding energy of gastrodin with CA1, CA9, MMP-9 and CASP1 targets was higher than 7.5 kcal/mol.

*基金项目: 贵州省科技计划项目[黔科合基础[2019]1003号]。

第一作者: 杨杰, 男, 硕士, 教授, 研究方向为分子生物学在中医药中的应用, (电子信箱) yangjie2012@sina.cn。

mal behavior of simonkolleite nanoplatelets [J]. Phys Chem Chem Phys, 2020, 22(17): 9503-9512.

[18] SRUTHI S, ASHTAMI J, MOHANAN PV. Biomedical application and hidden toxicity of Zinc oxide nanoparticles [J]. Materials Today Chemistry, 2018, 10(2): 175-186.

[19] LING WH, JONES PJ. Dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effects [J]. Life Sciences, 1995, 57(3): 195-206.

[20] 刘清玮, 高延辉, 王希. 大豆皂苷脂质体的制备及稳定性研究 [J]. 吉林农业大学学报, 2017, 39(5): 619-623.

[21] 张霞, 管胜杰, 李冰, 等. 超声法制备的固体脂肪结晶颗粒的性质及其乳液稳定性分析 [J]. 华南理工大学学报

(自然科学版), 2021, 49(11): 27-37.

[22] ABDELKADER H, ALANI AWG, ALANY RG. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): self-assembly, fabrication, characterization, drug delivery applications and limitations [J]. Drug Delivery, 2014, 21(2): 87-100.

[23] 杜美容, 王雪超. β -谷甾醇为膜稳定剂制备盐酸小檗碱囊泡 [J]. 解放军药学学报, 2016, 32(2): 151-154.

[24] WONGSUWAN N, DWIVEDI A, NASONGKLA N. Development of dental implant coating with minocycline-loaded niosome for antibacterial application [J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2020, 56(4): 1-8.

(收稿日期: 2022-06-22; 修回日期: 2022-11-25)

Conclusion The mechanism of gastrodin against migraine may be related to its effect on the expression of target genes such as CA, MMP, CASP through multi-targets and multi-pathways.

Key words: gastrodin; migraine; network pharmacology; molecular docking; mechanism

天麻素是天麻的主要有效成分,是天麻质量控制的指标性化合物,具有镇痛镇静、抗惊厥、神经保护、改善学习记忆、降压、抗凝、抗血小板聚集等药理作用^[1-2]。这与天麻祛风通络、平抑肝阳、息风止痉的功效密不可分,临床可用于治疗偏头痛。回顾经典的中医古方,治疗偏头痛频次达50次以上的中药为川芎、白芍、天麻、当归、白芷和甘草,故天麻主要成分天麻素治疗偏头痛的临床价值值得进一步挖掘^[3]。网络药理学是系统生物学的一门分支学科,可从整体观角度阐释中药及中药复方治疗疾病的关键分子通路^[4-7]。本研究中以天麻主要有效成分单体天麻素为核心展开研究,遵循《网络药理学评价方法指南》^[8],在天麻素治疗偏头痛疗效确切的基础上,通过网络药理学与分子对接技术筛选天麻素抗偏头痛的关键分子通路及关键靶点,为临床应用提供分子机制基础。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 网络药理学研究

收集天麻素抗偏头痛靶点:在TCMSP数据库(<https://old.tcmsp.e.com/index.php>)中获取天麻素的化学结构;在SwissTargetPrediction数据库(<https://www.SwissTargetPrediction.cn/>)中选择的物种为“人”,获取天麻素的作用靶点,以靶基因的缩写表示;在GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)中以“migraine”为关键词搜索偏头痛相关靶点,通过R 3.6.2软件绘制维恩图,取天麻素靶点与偏头痛相关靶点的交集,即得天麻素抗偏头痛共有靶点。

构建蛋白互作(PPI)网络(天麻素抗偏头痛靶点网络):将分析得到的天麻素抗偏头痛靶点导入String数据库(<https://www.string-db.org/>),选择物种为“人”,输出天麻素抗偏头痛靶点网络图,保存.tsv格式文件,并输入R 3.6.2软件,进行条形图分析,并计算网络中节点自由度值,揭示其核心靶点。

GO生物过程富集分析与KEGG通路富集分析及靶点-通路网络:通过R 3.6.2软件,将天麻素抗偏头痛靶点基因的缩写转换为基因ID,经R 3.6.2软件进行GO生物过程富集分析与KEGG通路富集分析,筛选富集P值较显著的信号通路,并用条形图表示。从上述分析中筛选出富集显著的20条信号通路与30个靶点,经Cytoscape 3.9.1软件构建靶点-通路网

络,体现天麻素治疗偏头痛多靶点、多途径的整体效应。

1.2 分子对接验证

经PPI网络与靶点-通路网络共同显示天麻素抗偏头痛核心靶点,并进行天麻素与核心靶点的分子对接验证,其操作过程如下。1)经Chem3D软件,将天麻素2D结构(.sdf格式文件)转化为3D结构(.mol2格式文件);2)在PDB数据库(<http://www.rcsb.org/>)中下载靶点3D结构(.pdb格式文件),并经PyMOL软件去除水分子和小分子配体;3)在AutoDockTools 1.5.6软件中导入靶点的3D结构,输出.pdbqt格式文件,输入天麻素.mol2格式文件,导出天麻素.pdbqt格式文件,运行Grid模块,设置天麻素与靶点对接的活性口袋;4)运行AutoDock_vina 1.1.2分子模拟软件进行分子对接,用结合能评价化合物与受体的匹配情况,用PyMOL软件绘制最佳匹配结果图。

2 结果

2.1 天麻素抗偏头痛靶点

在GeneCards数据库中以关键词“migraine”搜索到偏头痛相关靶点3 081个,并与103个天麻素作用靶点取交集,得到天麻素抗偏头痛共有靶点50个。详见图1。

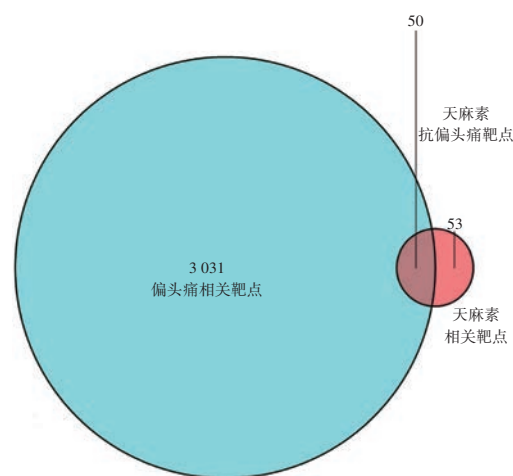


图1 天麻素与偏头痛共有靶点的维恩图

Fig.1 Venn diagram of common targets of gastrodin and migraine

2.2 构建天麻素抗偏头痛靶点的PPI网络

将50个共有靶点输入String数据库,得到天麻素抗偏头痛靶点的PPI网络,提示靶点与靶点的相互作用。靶点相互作用的节点数越多,自由度值越高,表明该靶点在此网络中所处核心地位就越高。自由度值排前30的靶点的PPI网络条形图见图2。

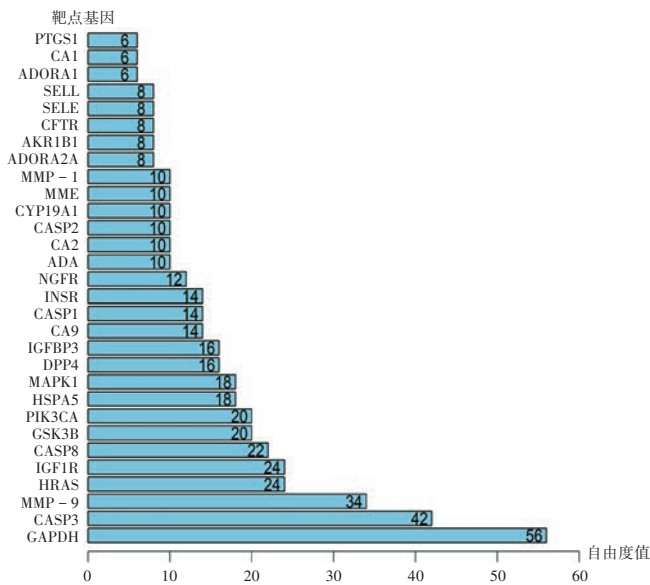
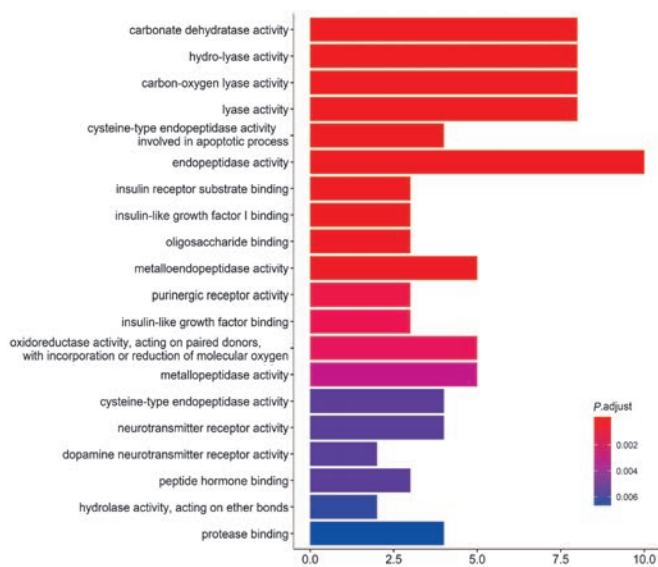


图2 天麻素抗偏头痛靶点的PPI网络条形图

Fig. 2 PPI network histogram of targets related to gastrodin against migraine



注:红色为富集 P 值较显著的生物过程。

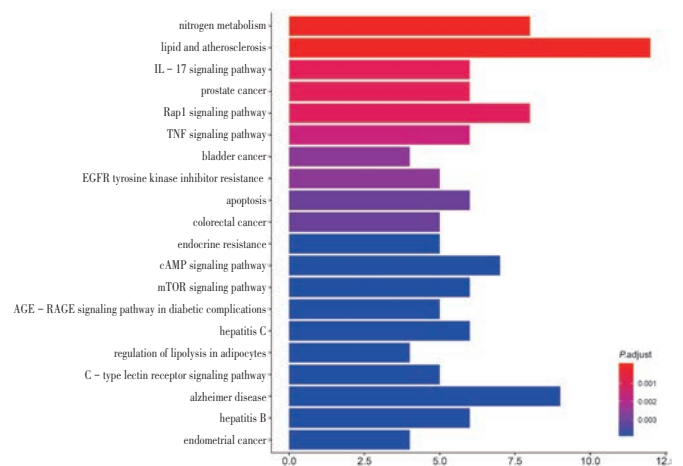
图3 天麻素抗偏头痛靶点的GO生物过程富集分析条形图

Note: Red refers to the biological process with more significant enrichment P -values.

Fig. 3 Bar chart of GO biological process enrichment of targets related to gastrodin against migraine

2.3 GO生物过程富集、KEGG通路富集及靶点-通路网络构建

GO生物过程富集分析显示(图3),富集 P 值较显著的生物过程为内肽酶活性、碳酸盐脱水酶活性、水裂解酶活性、碳氧裂解酶活性、裂解酶活性、金属内肽酶活性、涉及细胞凋亡过程的半胱氨酸型内肽酶活性、胰岛素受体底物结合、胰岛素样生长因子I结合、寡聚糖,结合的富集靶点数量分别为10个、8个、8个、8个、8个、5个、4个、3个、3个、3个。进一步对50个天麻素抗偏头痛



注:红色为富集 P 值较显著的信号通路。

图4 天麻素抗偏头痛靶点的KEGG通路富集分析条形图

Note: Red refers to the signaling pathway with more significant enrichment P -values.

Fig. 4 Bar chart of KEGG pathway enrichment of targets related to gastrodin against migraine

靶点进行KEGG通路富集分析(图4),结果显示,富集 P 值较显著的信号通路为氮代谢信号通路和脂质与动脉粥样硬化,富集靶点数量分别为8个、12个。这2条信号通路富集的靶点基因数量为20个,占天麻素抗偏头痛靶点数量的40.00%,可被认为是天麻素治疗偏头痛的关键分子通路。

基于富集 P 值较显著的2条信号通路,氮代谢信号通路富集的靶点基因为不同亚型的碳酸酐酶(CA),脂质与动脉粥样硬化信号通路富集的靶点基因主要包含如下3个方面。1)基质金属蛋白酶(MMP)-1、MMP-9、半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(CASP)1、CASP3、CASP8、磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)等损伤、细胞凋亡相关靶基因;2)E-选择素(SELE)、P-选择素(SELP)等单核细胞激活相关靶基因;3)PI3K、糖原合酶激酶-3 β (GSK3 β)等细胞增殖过程相关靶基因。

通过Cytoscape软件将富集显著的20条KEGG信号通路与30个靶点构建为靶点-通路网络(图5),结果显示,每条通路平均与6.15个靶点产生交互作用,每个靶点平均与3.84条信号通路产生交互作用,体现了中药成分治疗疾病的多靶点、多途径效应,与中医学的整体观念不谋而合。

2.4 分子对接结果

将氮代谢、脂质与动脉粥样硬化等KEGG信号通路富集的20个靶点基因与PPI网络条形图中显示的30个靶点基因相对应,取重叠的14个靶点基因与天麻素进行分子对接验证。以分子对接结合能的绝对值作为评价对接验证结果的指标,当分子对接结合能绝对值高于7 kcal/mol时,表明结合能力高。同时,采用临床治疗

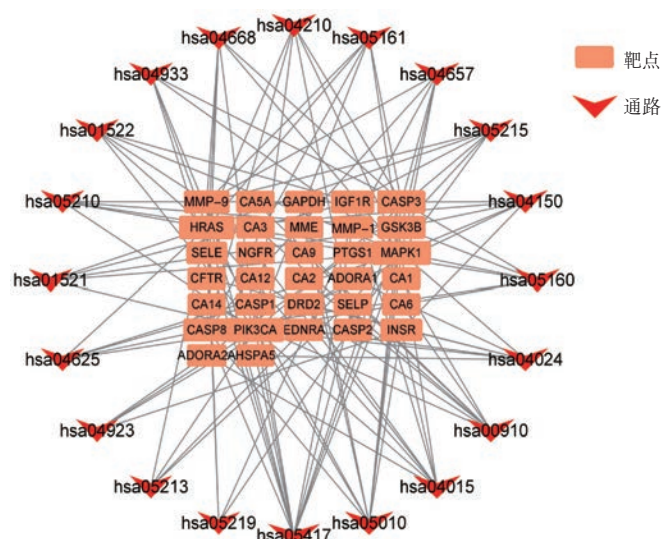


图5 天麻素抗偏头痛靶点-通路网络图

Fig. 5 Network of targets - pathway related to gastrodin against migraine

偏头痛的常见药物氟桂利嗪进行对照。结果天麻素与偏头痛相应靶点对接结合能绝对值均低于氟桂利嗪与偏头痛靶点对接结合能绝对值,天麻素与CA1, CA9, MMP-9, CASP1靶点的对接结合能绝对值高于7.5 kcal/mol。结果见表1。天麻素、氟桂利嗪与CA1和CA9靶点的分子对接模拟图见图6。

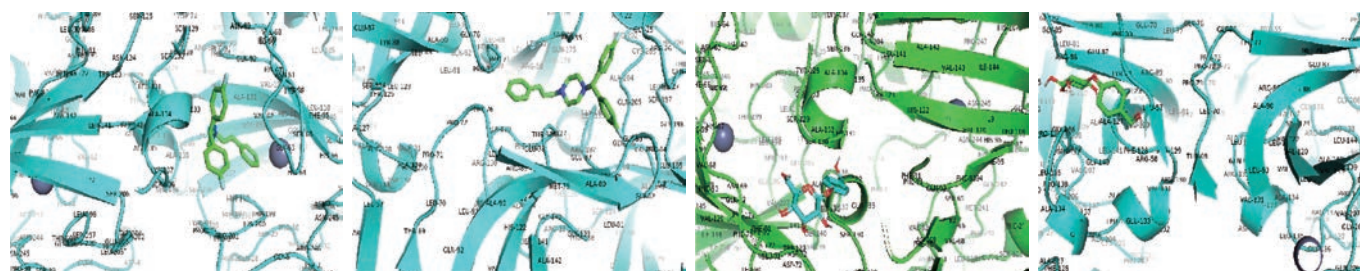
3 讨论

偏头痛是一种周期性反复发作、缠绵难愈的头痛疾病,疼痛发作时难以忍受,严重影响患者的日常生活。目前,其治疗以钙通道阻滞剂(氟桂利嗪或尼莫地平)为核心,联用天麻素的临床总有效率达90%以上^[9-10]。天麻素通过多靶点、多途径治疗偏头痛。首先,天麻素及其衍生物通过抑制三叉神经激活,进而抑制三叉神经节及三叉神经脊束尾侧核血清降钙素基因相关肽的释放,降低一氧化氮(NO)、内皮素-1等血管活性因子的表达水平,既可调节血管功能,也可通过降低

表1 天麻素、氟桂利嗪与相应偏头痛靶点基因的分子对接结果

Tab. 1 Molecular docking results of gastrodin, flunarizine and corresponding migraine targets - related genes

通路ID	通路名称	靶点基因名称	靶点基因的缩写	分子对接结合能(kcal/mol)	
				天麻素	氟桂利嗪
hsa00910	氮代谢	碳酸酐酶 I	CA1	-8.6	-11.4
		碳酸酐酶 IX	CA9	-7.6	-9.1
		碳酸酐酶 II	CA2	-6.7	-8.7
hsa05417	脂质与动脉粥样硬化	基质金属蛋白酶9	MMP-9	-8.0	-10.0
		半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶1	CASP1	-7.6	-8.7
		I类磷脂酰肌醇3激酶p-110α催化亚单位	PIK3CA	-7.5	-9.4
		半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶3	CASP3	-7.3	-9.0
		原癌基因H-ras抗体	HRAS	-7.3	-8.3
		半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶8	CASP8	-7.2	-9.5
		促分裂原活化的蛋白激酶1	MAPK1	-7.2	-8.7
		70 000热休克蛋白5	HSPA5	-7.0	-9.5
		基质金属蛋白酶1	MMP-1	-6.9	-8.7
		糖原合酶激酶-3β	GSK3β	-6.2	-8.7
		E-选择素	SELE	-5.9	-6.2



A. 氟桂利嗪与CA1对接 B. 氟桂利嗪与CA9对接 C. 天麻素与CA1对接 D. 天麻素与CA9对接

图6 天麻素、氟桂利嗪与CA1和CA9的分子对接模拟图

A. Docking of flunarizine with CA1 B. Docking of flunarizine with CA9 C. Docking of gastrodin with CA1 D. Docking of gastrodin with CA9

Fig. 6 Molecular docking simulation graph of gastrodin and flunarizine with CA1 and CA9

血清肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素1 β 、白细胞介素18等炎症因子水平而抑制神经源性炎症反应^[11-17]。其次,天麻素通过降低氧化型低密度脂蛋白水平,改善偏头痛患者氧化应激水平,防止线粒体氧化应激损伤,减少凋亡小体的产生,从而下调细胞凋亡基因CASP的表达^[18]。最后,神经递质传递异常是偏头痛发生的主要机制之一,如5-羟色胺是偏头痛发作时神经功能异常的主要神经递质,天麻素通过升高血清5-羟色胺水平而改善神经功能紊乱^[18]。

研究表明,偏头痛患者血清中MMP-9表达水平会明显升高^[19-20]。CASP1涉及细胞凋亡过程,也可触发炎症^[21-22],为偏头痛神经源性炎症标志物。CA表达上调,可参与细胞迁移、CO₂/NO稳态与信号转导及偏头痛患者神经功能异常、神经源性炎症、血管功能异常等密切相关^[14,23]。由图4可知,天麻素抗偏头痛靶点富集较显著的2条信号通路为氮代谢和脂质与动脉粥样硬化。由表1可知,上述信号通路直接相关的基因为CA1,CA9,CASP1,MMP-9等。分子对接结果显示,天麻素与上述基因的分子对接结合能绝对值均高于7.5 kcal/mol,对接良好,表明上述基因可成为天麻素抗偏头痛的主要靶点。

综上所述,天麻素可能通过调控氮代谢和脂质与动脉粥样硬化信号通路,影响CA,MMP,CASP等靶点基因的表达,从而治疗偏头痛,但其具体作用机制有待后续实验证实。

参考文献

[1] 柳威,邓林华,祁东利,等.天麻及其有效成分的药理作用概述[J].中药药理与临床,2021,37(4):240-244.
[2] 常露露,曾贵荣,刘顶鼎,等.川芎-天麻药对防治偏头痛的研究进展[J].中国现代应用药学,2021,38(10):1245-1250.
[3] 王浩添.中医药治疗头痛(偏头痛)文献用药规律研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2021.
[4] 张娟利,李骅,王文军,等.基于网络药理学探讨丹参-丹皮配伍抗脑缺血损伤的作用机制[J].天然产物研究与开发,2021,33(1):103-113.
[5] 杨志文,何靖,刘增慧,等.基于网络药理学探究“黄芪-当归”治疗慢性再生障碍性贫血的作用机制[J].中国中医基础医学杂志,2021,27(2):253-259.
[6] YANG J, ZHANG Y, LI WH, et al. Assessment of the anti-rheumatoid arthritis activity of *Gastrodia elata* (Tian-ma) and *Radix aconitic lateralis preparata* (fu-zi) via network pharmacology and untargeted metabolomics analyses[J]. Int J Rheum Dis, 2021, 24(3):380-390.
[7] 郭步伐,杨杰,彭启伦,等.天麻-附子祛风通络药对抗类风湿性关节炎风寒湿痹症大鼠的干预机制[J].天然产物研究与开发,2020,32(5):831-836.

[8] 牛明,张斯琴,张博,等.《网络药理学评价方法指南》解读[J].中草药,2021,52(14):4119-4129.
[9] 张蕴,徐建可,张洪阳,等.天麻素联合尼莫地平治疗偏头痛急性发作期临床研究[J].中国实用神经疾病杂志,2020,23(1):54-59.
[10] 郭文正.天麻素注射液联合氟桂利嗪治疗偏头痛疗效观察[J].实用中西医结合临床,2020,20(11):54-55.
[11] 舒慧敏,刘沁,张光伟,等.天麻素对偏头痛大鼠痛阈和脑干NF- κ B信号通路的影响[J].毒理学杂志,2021,35(6):479-484.
[12] 杨小艳,石国霞,曾利,等.天麻素对偏头痛患者外周血CGRP、NO和ET-1表达的影响[J].南京中医药大学学报,2017,33(1):23-25.
[13] 宋维伟,陈金波,张德福,等.天麻素腹腔注射对慢性偏头痛大鼠的治疗作用及机制[J].山东医药,2021,61(4):10-14.
[14] 郑海非,陈金波,宋维伟,等.天麻制剂通过腺苷途径治疗偏头痛相关的分子机制研究[J].中风与神经疾病杂志,2020,37(3):255-260.
[15] MA SY, ZHENG L, LIN X, et al. Network Pharmacology and Metabolomics Studies on Antimigraine Mechanisms of Da Chuan Xiong Fang (DCXF) [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021:1-16.
[16] LIU ML, FAN GH, ZHANG DP, et al. Study on Mechanism of Jiawei Chaiqin Wendan Decoction in Treatment of Vestibular Migraine Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021:1-12.
[17] WANG PH, ZHAO LX, WAN JY, et al. Pharmacological characterization of a novel gastrodin derivative as a potential anti-migraine agent [J]. Fitoterapia, 2016, 109:52-57.
[18] 唐灵芝,孙晓莉,阮超,等.天麻素治疗对偏头痛患者神经递质效应、应激反应、血管及神经功能的影响[J].海南医学院学报,2019,25(5):362-366.
[19] ROMI F, HELGELAND G, GILHUS NE. Serum levels of matrix metalloproteinases: implications in clinical neurology [J]. Neurol, 2012, 67(2):121-128.
[20] ASHINA M, TVEDSKOV JF, LIPKA K, et al. Matrix metalloproteinases during and outside of migraine attacks without aura [J]. Cephalalgia, 2010, 30(3):303-310.
[21] ZOU C, BEARD JA, YANG GP, et al. CASP1/NALP3/ASC Inflammasome Biosensor [J]. J Inflamm Res, 2022, 15:1183-1194.
[22] XIA T, LIU M, ZHAO Q, et al. PRMT5 regulates cell pyroptosis by silencing CASP1 in multiple myeloma [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(10):851-865.
[23] LIU RZ, YU SY, LI FP, et al. Gene expression microarray analysis of the spinal trigeminal nucleus in a rat model of migraine with aura [J]. Neural Regen Res, 2012, 7(25):1931-1938.

(收稿日期:2022-03-18;修回日期:2022-10-16)