

中图分类号: R969.3; R733.7 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)18-0060-06  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.18.013



# 红景天对急性髓系白血病潜在治疗作用机制的网络药理学研究\*

纪颖慧, 丁传华, 唐琳琳, 刘文山

(潍坊医学院附属医院, 山东 潍坊 261031)

**摘要:**目的 探讨红景天治疗急性髓系白血病(AML)的药理作用机制。方法 检索中医药整合药理学研究平台(TCMIP)、本草组学平台(HERB)及相关文献,收集红景天的有效成分;利用 Swiss TargetPrediction 数据库获取各有效成分的潜在作用靶点。利用 GeneCards 数据库检索 AML 的疾病相关靶点,将药物与疾病的共有靶点导入 String 网站,构建共有靶点蛋白相互作用(PPI)网络,并导入 Cytoscape 3.8.1 软件使网络可视化,筛选关键靶点。利用 DAVID 数据库中对共有靶点进行基因本体论(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。利用 AutoDock Vina 软件对核心靶点蛋白与对应药物有效成分进行分子对接,并用 PyMOL 软件对其结果进行可视化分析。结果 共得到红景天有效成分 160 个及其作用靶点 336 个,AML 疾病相关靶点 874 个,共有靶点 81 个。其中有效成分主要包括山柰酚、槲皮素、草质素、桉叶素、毡毛美洲茶素、麦黄酮等,核心靶点主要包括 GAPDH, TP53, AKT1, VEGFA, EGFR。GO 功能富集分析结果获得生物学过程 209 项,分子功能 56 项,细胞组分 36 项。KEGG 通路富集分析结果得到相关信号通路 101 条,主要涉及癌症通路、PI3K-Akt 信号通路等。分子对接结果显示,5 个关键靶点与其对应的有效成分亲和力均良好。结论 红景天的有效成分可能通过与核心靶点 GAPDH, TP53, AKT1 等的良好结合,作用于 PI3K-Akt 等信号通路,从而发挥对 AML 的潜在治疗作用。

**关键词:**红景天;急性髓系白血病;网络药理学;分子对接

## Mechanism of Potential Treatment Effect of Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma on Acute Myeloid Leukemia Based on Network Pharmacology

Ji Yinghui, Ding Chuanhua, Tang Linlin, Liu Wenshan

(Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang, Shandong, China 261031)

**Abstract: Objective** To investigate the pharmacological mechanism of Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma in the treatment of acute myeloid leukemia (AML). **Methods** Based on the TCMIP, HERB databases and related studies, the active ingredients of Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma were collected. The potential targets of active ingredients were obtained by the Swiss TargetPrediction database. The AML-related targets were searched by the GeneCards database. The common targets of drugs and disease were imported into the String database to construct a protein-protein interaction (PPI) network, the network was visualized and the key targets were screened by the Cytoscape 3.8.1 software. Gene Ontology (GO) function enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of common targets were performed by the DAVID database. The molecular docking was performed between the core target proteins and the corresponding active ingredients of drugs by the AutoDock Vina software, and the visual analysis was carried out by the PyMOL software. **Results** A total of 160 active ingredients of Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma, 336 drug targets, 874 AML-related targets and 81 common targets were obtained. Among them, the active ingredients mainly included kaempferol, quercetin, herbacetin, tamarixetin, velutin, tricetin and so on. The core targets mainly included GAPDH, TP53, AKT1, VEGFA and EGFR. GO function enrichment analysis showed that there were 209 biological processes, 56 molecular functions and 36 cellular components. KEGG pathway enrichment analysis showed that there were 101 related signaling pathways, mainly involving cancer pathway, PI3K-Akt signaling pathway and so on. Molecular docking showed that five key targets had good affinity with their corresponding active ingredients. **Conclusion** The active ingredients in Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma may act on PI3K-Akt signaling pathway and others through good combination with core targets such as GAPDH, TP53, AKT1 and so on, thus exerting the potential therapeutic effect on AML.

**Key words:** Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma; acute myeloid leukemia; network pharmacology; molecular docking

急性髓系白血病(AML)为造血系统恶性肿瘤,当病情发展时,异常原始细胞和幼稚细胞会大量增殖并干扰正常的造血过程,同时还会侵袭和浸润肝、脾、淋巴结等多个器官。中医古籍中无 AML 病名的记载,根据该病的发病特点和临床表现,现多将其归为“温病”“虚

劳”“血证”“痰核”等范畴,总病机为正虚邪实、虚实夹杂<sup>[1]</sup>。现阶段,化学药物治疗仍是 AML 治疗的主要方法。红景天有益气活血、通脉平喘功效,主治气虚血瘀,胸痹心痛、中风偏瘫、倦怠气喘<sup>[2]</sup>。现代药理学研究证明,红景天具有抗癌、保护心脑血管、抗氧化、抗炎、抗

\*基金项目:山东省中医药科技项目[Q-2022130]。

第一作者:纪颖慧,女,硕士,主管药师,研究方向为抗肿瘤临床药学,(电子信箱)jiayoujiying@163.com。

细胞凋亡、抗疲劳和抗抑郁等诸多功效<sup>[3]</sup>,临床广泛用于抗肿瘤、防治缺血性脑卒中和多种心肝肺等脏器疾病。但目前红景天用于防治AML的相关报道较少,且其作用机制尚未明晰。本研究中通过网络药理学和分子对接技术探讨红景天治疗AML的潜在药理学作用机制,以期为临床治疗AML提供新的用药思路,并为后续的新药研发提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 红景天有效成分及作用靶点筛选

通过检索中医药整合药理学研究平台(TCMIP)、本草组鉴平台(HERB, <http://drug.ac.cn/>)及相关文献,收集红景天的有效成分,并导入PubChem数据库, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)检索化合物结构。利用SwissADME数据库(<http://www.swissadme.ch/>)对化合物结构进行分析与筛选,设置筛选条件为:药物代谢动力学(简称药动学)模块中胃肠吸收为高,类药性(DL)模块中5个过滤条件(Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge)中 $\geq 2$ 个条件结果为“*Yes*”。利用SwissTargetPrediction数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)对筛选得到的成分进行靶点预测,选择Probability  $\geq 0.1$ 的靶点。剔除重复和无化学结构或无作用靶点的药物成分,最终建立红景天的有效成分与作用靶点数据库。

### 1.2 中药与疾病共有靶点筛选

利用GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)检索得到AML疾病相关靶点,选取其中Relevance score  $> 4$ 次中位数评分的靶点,利用Venny 2.1在线平台(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)绘制中药与疾病靶点的维恩图,并获取两者的共有靶点。

### 1.3 蛋白相互作用(PPI)网络构建及核心靶点筛选

将共有靶点导入String网站(<https://cn.string-db.org/>),设置minimum required interaction score = 0.400,构建PPI网络,并以tsv格式导入Cytoscape 3.8.1软件进行可视化处理。利用CytoNCA插件分析PPI网络,筛选节点度值(degree)  $\geq 55$ 的靶点为核心靶点。

### 1.4 富集分析

将共有靶点输入DAVID数据库进行基因本体论(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,获取共有靶点的生物学信息。两者均选取 $P < 0.01$ 的结果进行分析。通过微生信在线平台(<http://www.bioinformatics.com.cn>)对其结果进行可视化分析。

### 1.5 中药-成分-共有靶点-通路-疾病网络构建

选择KEGG分析结果中富集基因数量排名前10的信号通路,与红景天的有效成分、共有靶点相结合,导入Cytoscape 3.8.1软件,构建中药-成分-共有靶点-

通路-疾病网络。分析红景天作用于AML的有效成分及通路。

### 1.6 分子对接验证

将核心靶点与其对应的红景天有效成分进行分子对接。结合能越低,则配体与受体结合的稳定性越高<sup>[4]</sup>。将有效成分化合物结构输入Chem3D软件进行自由能最小化处理。利用PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载核心靶点的蛋白结构。将靶点蛋白结构导入PyMOL软件去除水分子和小分子配体,利用AutoDock Tools软件为靶点蛋白加氢并建立活性口袋。将处理后的化合物分子与靶点蛋白结构导入AutoDock Vina软件进行分子对接,评价两者的结合活性,选取各靶点对接全部结果中结合能绝对值最高的一组(若多组并列最高,则随机选取其中一组),并用PyMOL软件对其可视化分析。

## 2 结果

### 2.1 红景天的有效成分及作用靶点

初步得到红景天有效成分160个,其中TCMIP平台7个、HERB平台26个、文献<sup>[5-6]</sup>127个。最终获得红景天有效成分34个,作用靶点336个。

### 2.2 中药-疾病共有靶点

初步得到AML疾病相关靶点13 993个,最终获得AML疾病相关靶点874个,并得到中药-疾病共有靶点81个(见图1)。

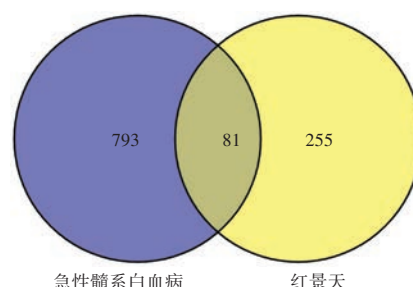


图1 红景天与急性髓系白血病靶点维恩图

Fig. 1 Venn diagram of *Rhodiola Crenulatae Radix et Rhizoma* and AML-related targets

通过共有靶点,得到与AML靶点相关中药有效成分22个,主要包括kaempferol(山柰酚)、quercetin(槲皮素)、borneol(冰片)、tricin(麦黄酮)、velutin(毡毛美洲茶素)、tamarixetin(柞柳素)、herbacetin(草质素)、7-hydroxycoumarin(7-羟基香豆素)、gallic acid(没食子酸)等。

### 2.3 PPI网络及核心靶点

中药-疾病共有靶点PPI网络见图2。PPI网络可视化分析图见图3, degree排名前5的核心靶点分别为GAPDH (degree = 67)、TP53 (degree = 66)、AKT1 (degree = 64)、VEGFA (degree = 58)、EGFR (degree = 55)。

### 2.4 富集分析

GO分析:共获得209项生物学过程(BP),主要包括凋亡过程负向调控、信号转导、细胞增殖正向调控、蛋

白磷酸化等;56项分子功能(MF),主要包括蛋白结合、三磷酸腺苷(ATP)结合、蛋白同型二聚化活性、蛋白激酶活性等;36项细胞组分(CC),主要包括细胞质、胞质液、细胞核、细胞膜、胞外区等。分别选取靶点蛋白富集数量排名前10的富集结果绘制柱状图(见图4A)。

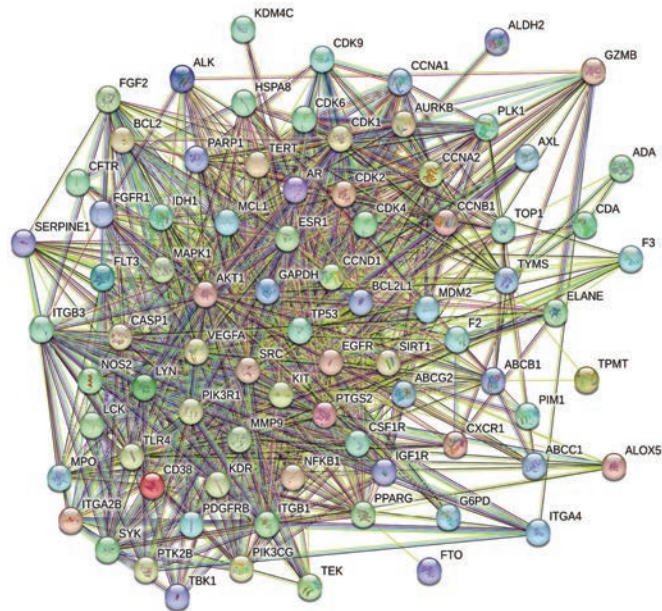


图2 中药-疾病共有靶点PPI网络

Fig. 2 PPI network of common targets of traditional Chinese medicine - disease

KEGG分析;共得到信号通路101条。以靶点蛋白富集数量排名前30的富集结果绘制气泡图(见图4B)。其中靶蛋白富集数量排名前10的信号通路为癌症通路、PI3K - Akt信号通路、人乳头瘤病毒感染、癌症中的

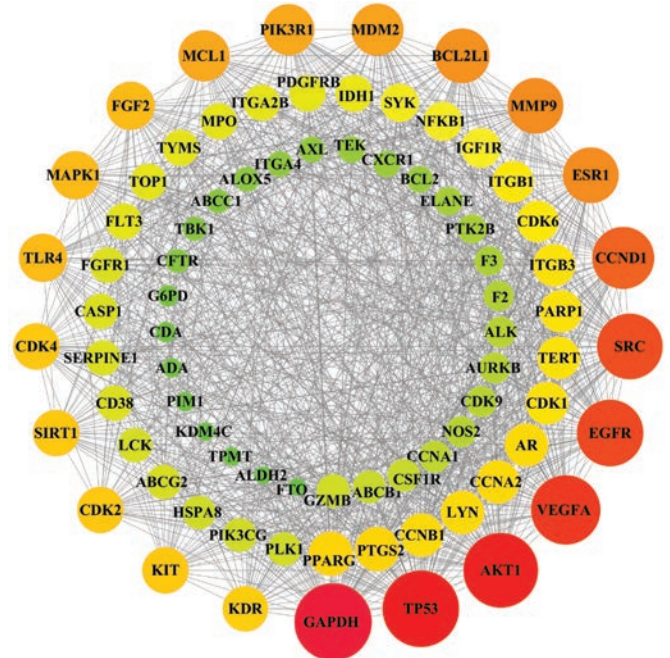
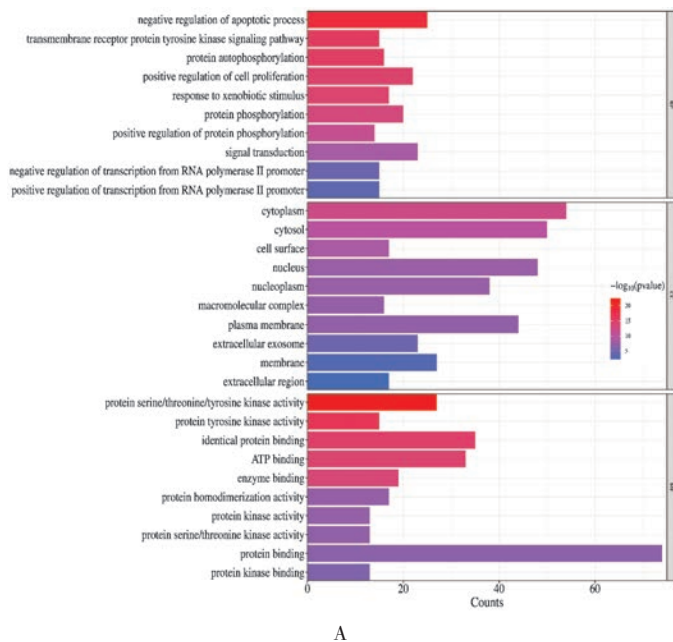
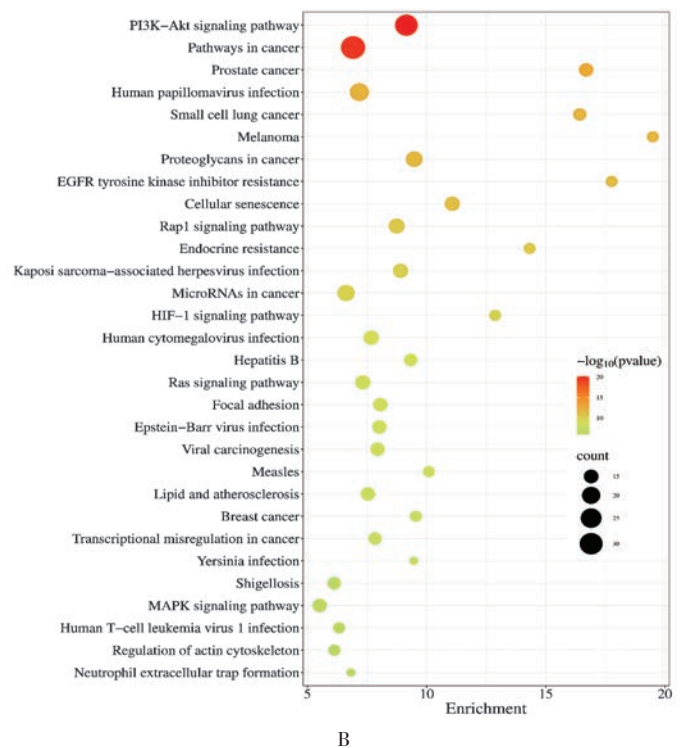


图3 中药-疾病共有靶点PPI网络可视化分析图谱

Fig. 3 Visual analysis of common target PPI of traditional Chinese medicine - disease



A



B

A. GO分析柱状图 B. KEGG分析气泡图

图4 富集分析结果

A. Bar chart of GO analysis B. Bubble chart of KEGG analysis

Fig. 4 Results of enrichment analysis

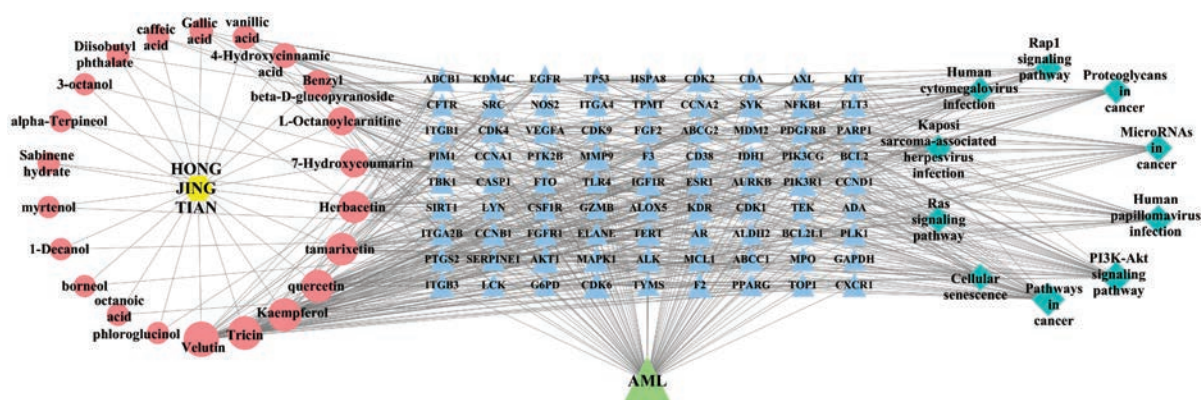


图5 中药 - 成分 - 共有靶点 - 通路 - 疾病网络

Fig. 5 Network of traditional Chinese medicines - ingredients - common targets - pathways - disease

微小RNA(miRNA)、癌症中的蛋白聚糖、Rap1 信号通路、细胞衰老、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、人巨细胞病毒感染、Ras 信号通路等。

### 2.5 中药 - 成分 - 共有靶点 - 通路 - 疾病网络

相应网络见图5。

### 2.6 分子对接验证

将核心靶点 GAPDH, TP53, AKT1, VEGFA, EGFR 与其对应中药有效成分进行分子对接。结合能均不超过 -4.80 kcal/mol (见表1), 提示药物成分与靶点之间具有良好的亲和力(结合能 < 0 kcal/mol 提示具有亲和力)。分子对接可视化分析结果见图6。

表1 分子对接结果

Tab. 1 Results of molecular docking

核心靶点	PDB ID	红景天有效成分	结合能(kcal/mol)
GAPDH	6ADE	benzyl β-D-glucopyranoside	-6.50
TP53	2D4F	L-octanoylcarnitine	-4.80
AKT1	1H10	kaempferol	-6.10
		quercetin	-6.30
		tamarixetin	-6.20
		7-hydroxycoumarin	-5.40
		herbacetin	-6.10
		tricin	-6.30
		velutin	-6.30
VEGFA	4KZN	benzyl β-D-glucopyranoside	-5.70
EGFR	1M17	L-octanoylcarnitine	-5.50
		kaempferol	-8.70
		quercetin	-9.00
		tamarixetin	-8.90
		phloroglucinol	-5.00
		7-hydroxycoumarin	-6.40
		herbacetin	-8.70
tricin	-9.00		
velutin	-8.40		

### 3 讨论

本研究结果显示,红景天核心有效成分主要包括山柰酚、槲皮素、草质素、桉柳素、毡毛美洲茶素、麦黄酮等,其在红景天对 AML 的药理机制中有重要作用,这与既往研究结果基本一致<sup>[6]</sup>。槲皮素为黄酮类化合物,可通过降低体内炎症因子的表达抑制炎症反应,且具有抗氧化和神经保护作用<sup>[7]</sup>。有研究表明,槲皮素能抑制细胞增殖并诱导铁死亡,进而导致细胞凋亡<sup>[8]</sup>。山柰酚为有抗肿瘤作用的类黄酮,可通过诱导肿瘤细胞凋亡、细胞周期阻滞和自噬等作用来抑制肿瘤组织生长<sup>[9]</sup>。张琴<sup>[10]</sup>通过细胞实验发现,山柰酚能显著抑制人肝癌细胞 HepG2 的增殖,且抑制效果随药物浓度增大而增强。草质素为黄酮类化合物,主要存在于红景天、棉花等植物中,在清除自由基及防止蛋白氧化方面具有显著作用<sup>[11]</sup>。红景天有效成分具有抗肿瘤、抑制细胞增殖、抑制炎症反应等作用,这为其防治 AML 提供了可能的理论基础。值得注意的是,红景天苷也是红景天的主要活性成分之一,其药理作用也是近年来的研究热点<sup>[12]</sup>。但本研究中的潜在有效成分中无红景天苷,不排除与部分数据库的更新滞后或红景天苷的首过效应有关。

在中药 - 疾病共同靶点的 PPI 网络中,degree 排名前 5 的核心靶点在红景天防治 AML 的潜在作用机制中均有重要作用。其中,GAPDH 为糖酵解酶,在人体糖代谢过程中起关键作用,几乎在所有细胞中均有表达,且参与非糖酵解过程,如细胞凋亡、肿瘤形成、DNA 修复、细胞膜融合等<sup>[13]</sup>。VEGFA 是血管内皮生长因子(VEGF)的家族成员之一,与血管生成关系密切,在 AML 的发生发展过程中起重要作用<sup>[14]</sup>。TP53 是人类癌症中最常见的突变基因,在癌症发生、细胞衰老、DNA 修复等基本生物学过程中具有核心作用,被认为与 AML 的发生发展关系密切<sup>[15]</sup>。此外,本研究中核心靶点与相应的红景天有效成分的分子对接结合能结果提示,靶点蛋白与药物有效成分之间亲和力较好,结合较稳定。

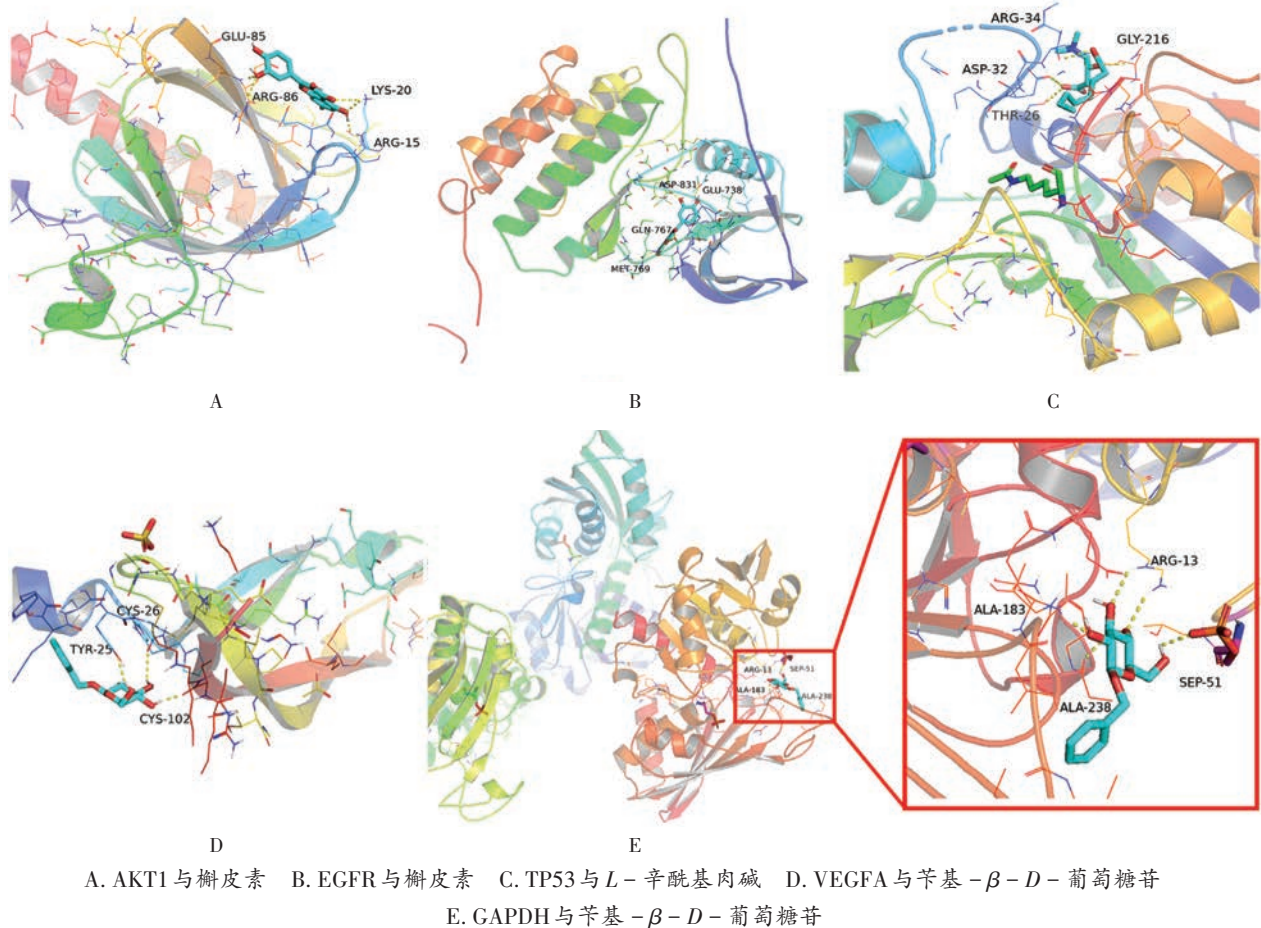


图6 分子对接展示图

A. AKT1 and quercetin B. EGFR and quercetin C. TP53 and L - octanoylcarnitine D. VEGFA and benzyl - β - D - glucoside E. GAPDH and benzyl - β - D - glucoside

Fig. 6 Display of molecular docking

本研究结果显示,中药-疾病共有靶点所作用的CC更多地集中于细胞质、胞质液、细胞核、细胞膜、胞外区等,通过蛋白结合、ATP结合、蛋白同型二聚化活性、蛋白激酶活性等MF,实现对细胞凋亡过程负向调控、信号转导、细胞增殖正向调控、蛋白磷酸化等BP发挥调节作用。本研究结果表明,此过程可能是红景天对AML潜在疗效的生物学机制。与中药-疾病共有靶点相关的信号通路主要包括PI3K - Akt信号通路、癌症中的miRNA等。PI3K - Akt通路与调节细胞增殖、生长、代谢和运动等过程有关,研究表明,该通路在人类癌症发生发展中普遍被激活,该通路的抑制可促进人体肿瘤消退<sup>[16]</sup>。有研究发现,通过影响miRNA的表达量可靶向调节细胞增殖和凋亡信号通路,这可能为肿瘤治疗提供了新思路<sup>[17]</sup>。

综上所述,本研究中通过网络药理学和分子对接技术初步预测了红景天治疗AML的潜在药理学作用机制。红景天的主要有效成分包括山柰酚、槲皮素、草质素、桉柳素、毡毛美洲茶素、麦黄酮等,通过与核心靶点

GAPDH、TP53、AKT1、VEGFA、EGFR等的良好结合,作用于PI3K - Akt、癌症中的微小RNA等信号通路,从而发挥对AML的潜在疗效。这提示红景天治疗AML可能是一个“多成分、多靶点、多通路”的过程,也为今后临床灵活运用红景天治疗AML提供理论依据。

#### 参考文献

- [1] 周露,欧阳丹,袁秋全,等. 中医药治疗急性髓系白血病研究进展[J]. 江西中医药,2023,54(1):66-70.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:161.
- [3] PU WL, ZHANG MY, BAI RY, et al. Anti-inflammatory effects of *Rhodiola rosea* L.: A review[J]. Biomed Pharmacother, 2020,121:109552.
- [4] HSIN KY, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. PLoS One, 2013,8(12):e83922.
- [5] 范芳芳,张变,余羊羊,等. 基于网络药理学的藏药红景天功效关联性质量标志物预测分析[J]. 中草药,2021,52(22):