

基于网络药理学探讨祛痹痛风饮治疗痛风的作用机制

李彦平¹, 张 榜², 崔 炎^{2*}, 梁鹏飞¹

1. 河南中医药大学 第一临床医学院, 河南 郑州 450000

2. 河南中医药大学第一附属医院 周围血管科, 河南 郑州 450000

摘 要: **目的** 运用网络药理学方法探讨祛痹痛风饮治疗痛风的活性成分、作用靶点及其潜在的治疗作用机制。**方法** 基于中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 获取祛痹痛风饮的活性成分和作用靶点, 结合 Uniprot 数据库对靶点进行标准化处理。采用 Cytoscape 3.7.2 软件绘制出祛痹痛风饮的活性成分 - 痛风靶点网络。通过 GeneCards、OMIM、TTD、DRUGBANK 数据库获得痛风的疾病靶点。将药物的作用靶点与疾病靶点进行交集, 获得共同靶点。将交集靶点应用 STRING 数据库构建蛋白 - 蛋白相互作用网络图 (PPI), 通过 DAVID 数据库对共同靶点进行基因本体 (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, 并将结果进行可视化处理。**结果** 共预测到祛痹痛风饮中 191 个活性成分, 87 个与痛风共同的靶点。GO 功能富集分析显示与炎症反应、细胞对脂多糖的应答、基因表达的正调控等相关。KEGG 通路富集分析结果显示主要涉及 Toll 样受体信号通路、NOD 样受体信号通路、NF- κ B 信号通路等方面。**结论** 祛痹痛风饮可能通过促进尿酸排泄、抑制炎症因子的释放减轻、炎症反应发挥治疗痛风的作用, 为深入研究祛痹痛风饮治疗痛风的作用机制提供了理论参考。

关键词: 祛痹痛风饮; 痛风; 网络药理学; Toll 样受体信号通路

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)09-1782-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.09.003

Mechanism of Qubi Tongfeng Yin in treatment of gout based on network pharmacology

LI Yan-ping¹, ZHANG Bang², CUI Yan², LIANG Peng-fei¹

1. The First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

2. Department of Peripheral Vascular, The First Affiliated Hospital of Henan University of CM, Zhengzhou 450000, China

Abstract: **Objective** To study the active ingredient, target and possible mechanism of Qubi Tongfeng Yin in treatment of gout by network pharmacological method. **Methods** TCMSP database was used to obtain the active ingredient and target of Qubi Tongfeng Yin, and the target was standardized by Uniprot database. Cytoscape3.7.2 software was used to draw the network of drug active ingredient and target of gout. The disease targets of gout were obtained through Genecards, OMIM, TTD, and DRUGBANK databases. The drug target is intersected with the disease target to obtain the drug and disease common target. PPI was constructed for the intersection targets using String database. Gene ontology (GO) biological process analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed for the common targets using David database, and the results were visualized. **Results** A total of 191 active components of Qubi Tongfeng Yin were predicted in this study, and 87 common targets of Qubi Tongfeng Yin were predicted. The results of GO biological process showed that it was related to inflammatory response, cellular response to lipopolysaccharide, and positive regulation of gene expression. KEGG pathway enrichment analysis showed that it mainly involved Toll-like receptor signaling pathway, NOD-like receptor signaling pathway, NF- κ B signaling pathway and so on. **Conclusion** Qubi Tongfeng Yin may play a role in treatment of gout by promoting uric acid excretion and inhibiting the release of inflammatory factors to reduce inflammatory response, which provides a theoretical basis for the further study of the mechanism of Qubi Tongfeng Yin in treatment of gout.

Key words: Qubi Tongfeng Yin; gout; network pharmacology; Toll-like receptor signaling pathway

收稿日期: 2021-06-15

基金项目: 国家中医药管理局全国名中医崔公让传承工作室建设项目 (国中医药办人教函[2018]119 号); 河南省首批青苗人才培养项目 (豫中医科教[2018]16 号); 河南省中医药科学研究专项课题 (2019JDZX2103)

作者简介: 李彦平 (1997-), 女, 2019 级在读硕士研究生, 研究方向为中西医结合防治周围血管疾病。E-mail: 2806330368@qq.com

***通信作者:** 崔 炎 (1963-), 男, 主任医师, 研究方向为中西医防治周围血管疾病。E-mail: cuiyan5510@foxmail.com

痛风是指与高尿酸血症、尿酸盐沉积密切相关的进展性代谢疾病,由于血尿酸水平升高导致尿酸盐结晶沉积在组织、关节以及肾脏等部位,严重者可造成关节破坏、肾功能受损^[1-2]。尿酸与冠心病、糖尿病、帕金森病、银屑病、阿尔茨海默病等多系统疾病密切相关^[3]。随着我国经济水平的进一步提高及膳食结构的多样化,痛风发病率逐年增加。据报道,美国有超过 200 万人患有痛风;在中国,痛风和高尿酸血症患病率分别为 1.1%、13.3%^[4],而且呈现明显上升和年轻化趋势^[5]。现代医学治疗高尿酸血症和痛风的途径主要包括抑制尿酸合成和增加尿酸排泄,但是目前的抗痛风药物包括别嘌醇、非布司他、丙磺舒、苯溴马隆等都具有一定的不良反应,如皮疹、肝毒性和诱发尿结石等^[6],而且治疗靶点单一,停药后痛风易复发。近年来中药在治疗痛风方面的优势逐渐凸显,关于其治疗痛风的经验日渐增多,但其治疗的内在机制尚需进一步分析验证。

痛风属于中医“痹证”“白虎历节”等范畴^[7]。痛风病名首见于《格致余论》^[8]:“彼痛风者,大率因血受热已自沸腾,其后或涉冷水,或立湿地,或扇取凉,或卧当风,寒凉外搏,热血得寒,汗浊凝涩,所以作痛;夜则痛甚,行于阴也”。崔公让教授总结多年临床经验,据《金匱要略》:“诸肢节疼痛身体魁羸,脚肿如脱,头眩短气”提出“魁羸论”^[9],认为痛风患者体质为本虚标实,将痛风的病因病机归纳为以脾肾虚为本,湿热血瘀为标。在痛风的临床治疗中,崔公让教授以祛痹痛风饮为基础方进行辨证加减^[10-13],其组方精良,由柴胡、黄芩、葛根、山慈菇、两头尖、薏苡仁、木贼、大黄、甘草 9 味中药组成。该方以柴胡、黄芩、葛根为君药,清热解毒、疏肝通络、活血通经;山慈菇、大黄为臣药,助君药以清热化痰,借大黄利湿泄浊,使湿热浊邪从二便而出,尿酸排泄有道;木贼、两头尖为佐药,既可温阳祛湿,又可防黄芩、山慈菇、大黄寒凉伤脾胃;甘草调和诸药。诸药合用,共奏清泄湿热、化痰通络之效。痛风急性期治以清热消肿止痛,慢性期则健脾温肾,培补气血生化之源,临床中以祛痹痛风饮随证加减效如桴鼓。本课题组前期研究证明此方可以显著降低患者尿酸盐结晶,促进尿液中尿酸排出^[13],但其具体作用机制尚未完全阐明,仍然需要进一步探索来扩大其应用。

网络药理学是一门融合了蛋白组学、基因组

学、系统生物学等多学科理论的新兴学科,综合运用生物学及计算机技术,从整体分析中药的成分、靶点,揭示其药效物质基础、作用的分子机制^[14-15],与中医整体观及辨证论治原则相契合。因此本研究拟通过网络药理学对祛痹痛风饮治疗痛风的成分和靶点进行挖掘,探析其药理作用机制,为后续临床相关基础研究提供思路。

1 材料与方法

1.1 活性成分及其作用靶点信息的收集

通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)平台(<https://tcmispw.com/tcmisp.php>),以口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18为筛选条件^[16],检索出柴胡、黄芩、葛根、山慈菇、两头尖、薏苡仁、木贼、大黄、甘草等药物的活性成分和对应靶点。通过 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org>),设定研究程度为 reviewed、限定物种为 Homo sapiens 为筛选条件,将收集到的活性成分靶点转化为相应的基因名称。

1.2 痛风靶点收集

通过 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)、TTD 数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)、DRUGBANK 数据库(<https://go.drugbank.com/>),以“gout”为检索词进行检索,筛选收集痛风相关靶点,并将 4 个疾病数据库的结果进行整合。

1.3 “活性成分-靶点”网络图的绘制

通过 Venny2.1 软件(<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)将祛痹痛风饮有效化合物靶点与痛风相关的疾病靶点进行映射构建韦恩图,交集靶点可能为祛痹痛风饮治疗痛风的关键靶点。对活性成分靶点和疾病靶点取交集,利用 Cytoscape 3.7.2 软件绘制“活性成分-靶点”网络图,使用其内置工具 Network Analyzer 计算出度值(degree),筛选出主要活性化合物。

1.4 蛋白相互作用(PPI)网络的构建

通过 String 数据库在线平台(<https://string-db.org/>)构建交集靶点的 PPI 网络模型,蛋白种属设置为“Homo sapiens”,基本设置选择分子作用并将最低相互作用阈值设为中等“mediumconfidence”(≥0.4),其他参数保持默认设置,获得 PPI 网络。

1.5 关键靶点基因功能注释和通路富集分析

通过 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov>)对交集靶点进行基因本体(GO)富集分析和京都基

因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析^[17-18], 筛选 $P < 0.05$ 的通路, 并将得到的通路经在线绘图软件: 微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 应用气泡图及柱状图进行可视化。

2 结果

2.1 成分及靶点收集

通过 TCMSP 平台以 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 为筛选条件, 检索柴胡、黄芩、葛根、山慈菇、两头

尖、薏苡仁、木贼、大黄、甘草等药物的活性成分, 共收集到活性成分 191 个, 共收集到 3 364 个靶点。利用 Uniprot 数据库对靶点进行基因名称转化得到 266 个靶点基因, 去除未找到靶点基因的成分, 共得到 163 个活性成分, 其中有 9 个为共有成分, 柴胡 12 个、黄芩 32 个、葛根 3 个、山慈菇 3 个、两头尖 3 个、薏苡仁 6 个、木贼 9 个、大黄 7 个、甘草 88 个, 见表 1。

表 1 祛痹痛风饮活性成分表
Table 1 Active ingredients of Qubi Tongfeng Yin

TCMSP 编码	活性成分	OB/%	DL	中药名称来源
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	柴胡、木贼、甘草
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	柴胡、木贼、甘草
MOL000449	stigmastrol	43.83	0.76	柴胡、黄芩、山慈菇、薏苡仁
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	黄芩、葛根、山慈菇、大黄、木贼
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	黄芩、两头尖、薏苡仁、甘草
MOL002879	diop	43.59	0.39	黄芩、木贼
MOL000392	formononetin	69.67	0.21	葛根、甘草
MOL001494	mandenol	42.00	0.19	薏苡仁、木贼
MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	柴胡、甘草
MOL000490	petunidin	30.05	0.31	柴胡
MOL001645	linoleyl acetate	42.10	0.20	柴胡
MOL004598	3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl) chromone	31.97	0.59	柴胡
MOL004609	areapillin	48.96	0.41	柴胡
MOL004624	longikaurin A	47.72	0.53	柴胡
MOL004653	(+)-anomalinal	46.06	0.66	柴胡
MOL004718	α -spinasterol	42.98	0.76	柴胡
MOL013187	cubebin	57.13	0.64	柴胡
MOL000073	ent-epicatechin	48.96	0.24	黄芩
MOL000173	wogonin	30.68	0.23	黄芩
MOL000228	(2R)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.23	0.2	黄芩
MOL000525	norwogonin	39.40	0.21	黄芩
MOL000552	5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.71	0.35	黄芩
MOL001458	coptisine	30.67	0.86	黄芩
MOL001490	bis[(2S)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate	43.59	0.35	黄芩
MOL001689	acacetin	34.97	0.24	黄芩
MOL002714	baicalein	33.52	0.21	黄芩
MOL002897	epiberberine	43.09	0.78	黄芩
MOL002909	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.82	0.45	黄芩
MOL002910	carthamidin	41.15	0.24	黄芩
MOL002913	dihydrobaicalin_qt	40.04	0.21	黄芩
MOL002914	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24	黄芩
MOL002915	salvigenin	49.07	0.33	黄芩
MOL002917	5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.05	0.33	黄芩

续表 1

TCMSP 编码	活性成分	OB/%	DL	中药名称来源
MOL002925	5,7,2',6'-tetrahydroxyflavone	37.01	0.24	黄芩
MOL002927	skullcapflavone II	69.51	0.44	黄芩
MOL002928	oroxylin a	41.37	0.23	黄芩
MOL002932	panicolin	76.26	0.29	黄芩
MOL002933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27	黄芩
MOL002934	NEOBAICALEIN	104.34	0.44	黄芩
MOL002937	DIHYDROOROXYLIN	66.06	0.23	黄芩
MOL008206	moslosooflavone	44.09	0.25	黄芩
MOL010415	11,13-eicosadienoic acid, methyl ester	39.28	0.23	黄芩
MOL012245	5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavanone	36.63	0.27	黄芩
MOL012246	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavanone	74.24	0.26	黄芩
MOL012266	rivularin	37.94	0.37	黄芩
MOL002959	3'-methoxydaidzein	48.57	0.24	葛根
MOL007991	2-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-4,5-diol	44.97	0.18	山慈菇
MOL000546	diosgenin	80.88	0.81	两头尖
MOL000548	raddeanin C	41.71	0.76	两头尖
MOL000953	CLR	37.87	0.68	薏苡仁
MOL001323	sitosterol alpha1	43.28	0.78	薏苡仁
MOL008121	2-monoolein	34.23	0.29	薏苡仁
MOL000006	luteolin	36.16	0.25	木贼
MOL002823	herbacetin	36.07	0.27	木贼
MOL004020	gossypetin	35.00	0.31	木贼
MOL011949	allopseudococain	34.93	0.23	木贼
MOL000096	(-)-catechin	49.68	0.24	大黄
MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24	大黄
MOL002235	EUPATIN	50.80	0.41	大黄
MOL002268	rhein	47.07	0.28	大黄
MOL002281	toralactone	46.46	0.24	大黄
MOL002297	daucosterol_qt	35.89	0.70	大黄
MOL000211	mairin	55.38	0.78	甘草
MOL000239	jaranol	50.83	0.29	甘草
MOL000417	calycosin	47.75	0.24	甘草
MOL000497	licochalcone a	40.79	0.29	甘草
MOL000500	vestitol	74.66	0.21	甘草
MOL001484	inermine	75.18	0.54	甘草
MOL001792	DFV	32.76	0.18	甘草
MOL002311	glycyrol	90.78	0.67	甘草
MOL002565	medicarpin	49.22	0.34	甘草
MOL003656	lupiwighteone	51.64	0.37	甘草
MOL003896	7-methoxy-2-methyl isoflavone	42.56	0.20	甘草
MOL004328	naringenin	59.29	0.21	甘草
MOL004805	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4-one	31.79	0.72	甘草
MOL004806	euchrenone	30.29	0.57	甘草
MOL004808	glyasperin B	65.22	0.44	甘草
MOL004810	glyasperin F	75.84	0.54	甘草

续表 1

TCMSP 编码	活性成分	OB/%	DL	中药名称来源
MOL004811	glyasperin C	45.56	0.40	甘草
MOL004814	isotrifoliol	31.94	0.42	甘草
MOL004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	39.62	0.35	甘草
MOL004820	kanzonols W	50.48	0.52	甘草
MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	60.25	0.63	甘草
MOL004827	semilicoisoflavone B	48.78	0.55	甘草
MOL004828	glepidotin A	44.72	0.35	甘草
MOL004829	glepidotin B	64.46	0.34	甘草
MOL004833	phaseolinisoflavan	32.01	0.45	甘草
MOL004835	glypallichalcone	61.60	0.19	甘草
MOL004838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.44	0.38	甘草
MOL004841	licochalcone B	76.76	0.19	甘草
MOL004848	licochalcone G	49.25	0.32	甘草
MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.62	0.43	甘草
MOL004855	licoricone	63.58	0.47	甘草
MOL004856	gancaonin A	51.08	0.40	甘草
MOL004857	gancaonin B	48.79	0.45	甘草
MOL004863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	66.37	0.41	甘草
MOL004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	30.49	0.41	甘草
MOL004866	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl)chromone	44.15	0.41	甘草
MOL004879	glycyrin	52.61	0.47	甘草
MOL004882	licocoumarone	33.21	0.36	甘草
MOL004883	licoisoflavone	41.61	0.42	甘草
MOL004884	licoisoflavone B	38.93	0.55	甘草
MOL004885	licoisoflavanone	52.47	0.54	甘草
MOL004891	shinpterocarpin	80.3	0.73	甘草
MOL004898	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	46.27	0.31	甘草
MOL004903	liquiritin	65.69	0.74	甘草
MOL004904	licopyranocoumarin	80.36	0.65	甘草
MOL004907	glyzaglabrin	61.07	0.35	甘草
MOL004908	glabridin	53.25	0.47	甘草
MOL004910	glabranin	52.90	0.31	甘草
MOL004911	glabrene	46.27	0.44	甘草
MOL004912	glabrone	52.51	0.50	甘草
MOL004913	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	48.14	0.43	甘草

续表 1

TCMSP 编码	活性成分	OB/%	DL	中药名称来源
MOL004914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	62.90	0.53	甘草
MOL004915	eurycarpin A	43.28	0.37	甘草
MOL004924	(-)-medicocarpin	40.99	0.95	甘草
MOL004935	sigmoidin-B	34.88	0.41	甘草
MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.12	0.18	甘草
MOL004945	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	36.57	0.32	甘草
MOL004948	isoglycyrol	44.70	0.84	甘草
MOL004949	isolicoflavanol	45.17	0.42	甘草
MOL004957	HMO	38.37	0.21	甘草
MOL004959	1-methoxyphaseollidin	69.98	0.64	甘草
MOL004961	quercetin der.	46.45	0.33	甘草
MOL004966	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin	43.71	0.57	甘草
MOL004974	3'-methoxyglabridin	46.16	0.57	甘草
MOL004978	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	36.21	0.52	甘草
MOL004980	inflacoumarin A	39.71	0.33	甘草
MOL004985	icos-5-enoic acid	30.70	0.20	甘草
MOL004988	kanzonol F	32.47	0.89	甘草
MOL004989	6-prenylated eriodictyol	39.22	0.41	甘草
MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	83.71	0.27	甘草
MOL004991	7-acetoxy-2-methylisoflavone	38.92	0.26	甘草
MOL004993	8-prenylated eriodictyol	53.79	0.40	甘草
MOL004996	gadelaidic acid	30.70	0.20	甘草
MOL005000	gancaonin G	60.44	0.39	甘草
MOL005001	gancaonin H	50.10	0.78	甘草
MOL005003	licoagrocarpin	58.81	0.58	甘草
MOL005007	glyasperins M	72.67	0.59	甘草
MOL005008	glycyrrhiza flavonol A	41.28	0.60	甘草
MOL005012	licoagroisoflavone	57.28	0.49	甘草
MOL005016	odoratin	49.95	0.30	甘草
MOL005017	phaseol	78.77	0.58	甘草
MOL005018	xambioona	54.85	0.87	甘草
MOL005020	dehydroglyasperins C	53.82	0.37	甘草

2.2 疾病共同作用靶点获取

通过 TTD、DRUGBANK、OMIM 和 GeneCards 数据库检索痛风的疾病相关靶点，并对各个数据库中得到的治疗靶点取交集、去重复项后，最后共获得 1 133 个治疗靶点。将之前得到的祛痹痛风饮的作用靶点和痛风疾病靶点分别输入 Venny 2.1.0 在

线工具绘制韦恩图，取交集得到 87 个共同靶点，见图 1。

2.3 “活性成分-靶点”网络图的绘制

将祛痹痛风饮的中药化学成分及 87 个交集靶点导入 Cytoscape 软件 (3.7.2 版本) 构建中药活性成分-靶点网络图，见图 2。Network Analyzer 计算

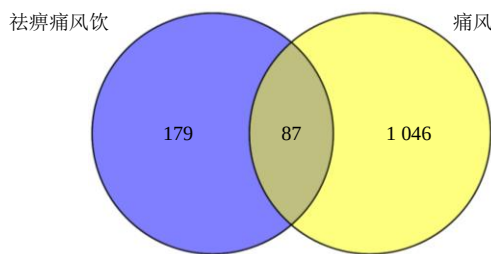


图 1 祛痹痛风饮治疗痛风靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of target of Qubi Tongfeng Yin for gout

分析得到 229 个节点, 1 193 条边, 药物活性成分的平均度值为 8.38, 根据度值筛选出 15 个大于平均值的活性成分, 见表 2。

2.4 PPI 网络构建与分析

将 87 个祛痹痛风饮治疗痛风的共同靶点输入到 String 数据库, 构建出共同靶点的 PPI 网络模型, 见图 3。该 PPI 网络共包含 87 个节点 (即共同作用靶点), 1 416 条节点连接线 (连接线表示 2 个节点之间存在相互作用, 粗细代表相互作用关系的强

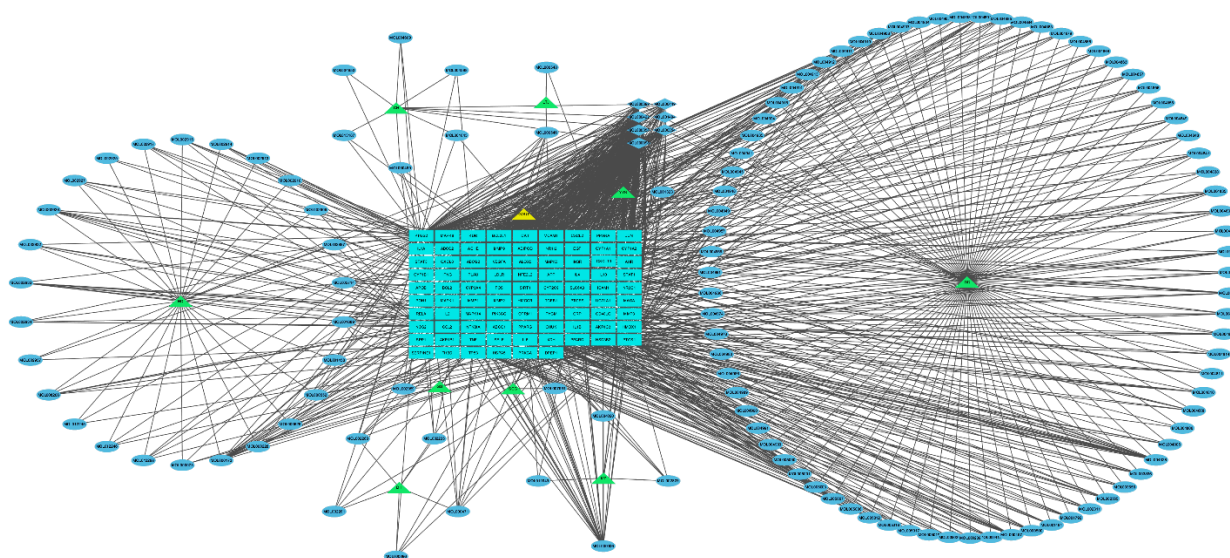


图 2 祛痹痛风饮治疗痛风的活性成分 - 靶点相互作用网络

Fig. 2 Active component-target interaction network of Qubi Tongfeng Yin for gout

表 2 祛痹痛风饮度值排名前 15 活性成分

Table 2 Top 15 active ingredients in Qubi Tongfeng Yin

TCMSP 编码	化学物名称	所属中药	度值
MOL000098	quercetin	柴胡、木贼、甘草	186
MOL000422	kaempferol	柴胡、木贼、甘草	86
MOL000358	beta-sitosterol	黄芩、葛根、山慈菇、大黄、木贼	50
MOL000449	stigmasterol	柴胡、黄芩、山慈菇、薏苡仁	28
MOL000392	formononetin	葛根、甘草	28
MOL000006	luteolin	木贼	28
MOL000354	isorhamnetin	柴胡、甘草	26
MOL004328	naringenin	甘草	18
MOL000173	wogonin	黄芩	17
MOL000497	licochalcone a	甘草	11
MOL002714	baicalein	黄芩	11
MOL000471	aloe-emodin	大黄	9
MOL003896	7-methoxy-2-methyl isoflavone	甘草	9
MOL002928	oroxylin a	黄芩	9
MOL001689	acacetin	黄芩	9

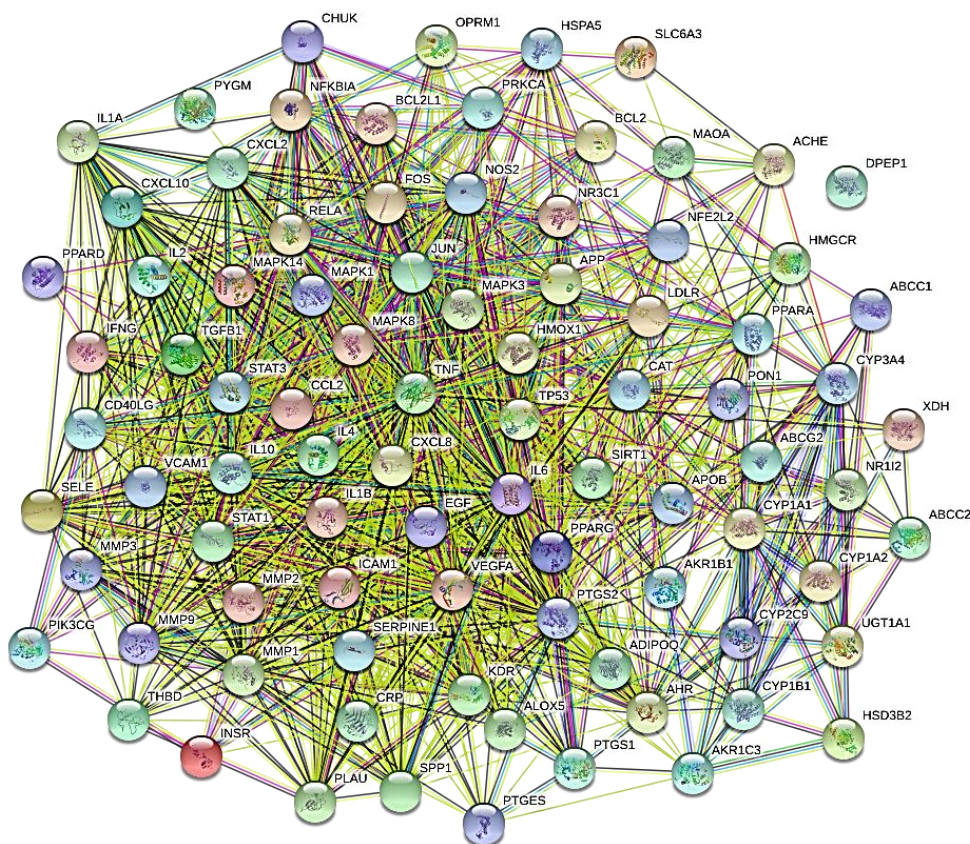


图 3 祛痹痛风饮治疗痛风的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of Qubi Tongfeng Yin for gout

弱)。经计算分析,该网络平均度值为 32.6,白细胞介素-6 (IL-6)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、肿瘤坏死因子 (TNF)、前列腺素 G/H 合成酶 2 (PTGS2)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 等节点的度值显著高于平均度值,可能为该网络关键靶点,见表 3。

2.5 GO 富集分析

通过 David 数据平台对 87 个共同靶点进行 GO 富集分析,获得 $P < 0.05$ 的 GO 条目 453 个,其中生物学过程 (BP) 条目 357 个、细胞学组分 (CC) 条目 32 个、分子生物学功能 (MF) 条目 64 个,将 P 值由小到大排列,展示 BP、CC 和 MF 排名前 10 的条目,见图 4。这 87 个共同靶点主要参与的生物学过程主要有药物反应 (response to drug)、RNA 聚合酶 II 启动子转录调控 (positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter)、炎症反应 (inflammatory response)、细胞对脂多糖的应答 (cellular response to lipopolysaccharide)、对脂多糖的应答 (response to lipopolysaccharide)、基因表

达的正调控 (positive regulation of gene expression)、DNA 转录的正调控 (positive regulation of transcription, DNA-templated)、凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process)、老化 (aging)、血管生成 (angiogenesis) 等。

2.6 KEGG 信号通路富集分析

通过 DAVID 数据平台对 87 个共同靶点进行 KEGG 信号通路富集分析,根据 $P < 0.05$ 筛选到 112 条信号通路。根据 P 值由小到大排列,列出排名前 20 名的通路,见图 5。87 个共同靶点涉及到的信号通路类型主要有 TNF 信号通路 (TNF signaling pathway)、TOLL 样受体信号通路 (Toll-like receptor signaling pathway)、癌症相关通路 (Pathways in cancer)、NOD 样受体信号通路 (NOD-like receptor signaling pathway)、HIF-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、T 细胞受体信号通路 (T cell receptor signaling pathway)、NF- κ B 信号通路 (NF-kappa B signaling pathway) 等。

表 3 祛痹痛风饮治疗痛风相关靶点

Table 3 Relevant targets of Qubi Tongfeng Yin in treatment of gout

度值	靶点	度值	靶点	度值	靶点	度值	靶点
70	IL-6	45	FOS	35	AHR	15	CYP1A2
65	VEGFA	45	VCAM1	33	CD40LG	15	CYP1B1
64	TNF	45	MAPK14	32	NR3C1	15	PTGES
62	PTGS2	44	MMP2	32	CXCL2	14	UGT1A1
61	IL-1B	43	SERPINE1	32	IL1A	14	CYP2C9
60	TP53	43	IL-2	31	PLAU	13	ACHE
59	MAPK3	43	IFNG	26	CYP3A4	13	AKR1C3
59	CXCL8	43	CRP	26	NFE2L2	13	CHUK
58	CCL2	41	SPP1	25	LDLR	12	AKR1B1
57	JUN	40	SIRT1	24	APOB	10	BCL2
55	MAPK8	39	CXCL10	24	PPARA	10	ABCC2
55	IL-10	38	ADIPOQ	24	ALOX5	9	MAOA
53	STAT3	38	MMP3	22	ABCG2	9	INSR
52	IL-4	38	NOS2	22	CYP1A1	7	ABCC1
52	ICAM1	38	STAT1	21	HSPA5	7	PIK3CG
52	MMP9	38	TGFB1	18	PON1	6	XDH
51	EGF	37	APP	18	OPRM1	6	HSD3B2
51	MAPK1	37	SELE	18	PRKCA	5	SLC6A3
50	CAT	37	MMP1	17	HMGCR	4	PPARD
49	PPARG	36	BCL2L1	16	PTGS1	1	PYGM
46	HMOX1	36	KDR	16	THBD	0	DPEP1
46	RELA	36	NFKBIA	15	NR1I2		

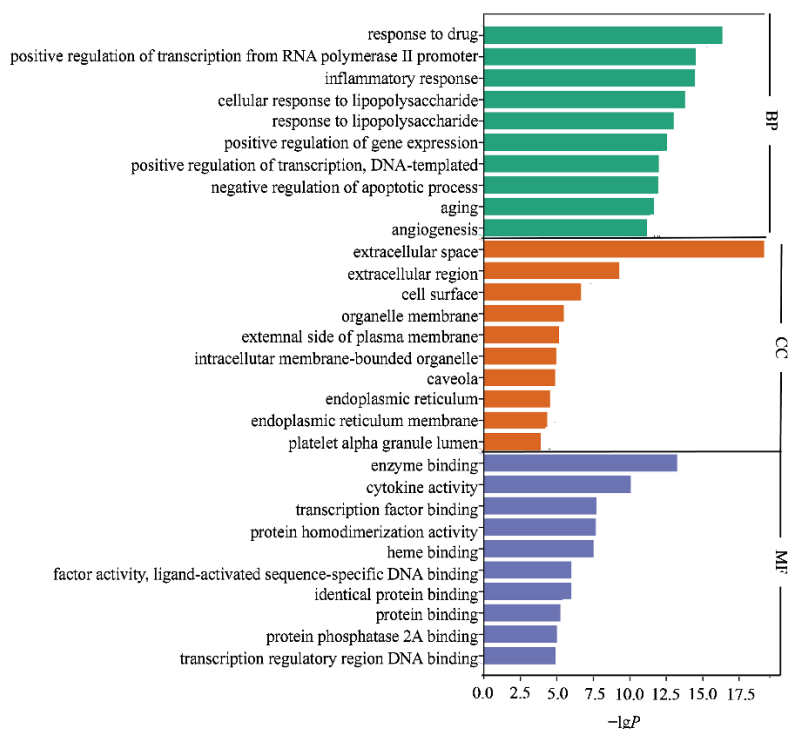


图 4 祛痹痛风饮治疗痛风 GO 富集分析

Fig. 4 GO enrichment analysis of Qubi Tongfeng Yin in treatment of gout

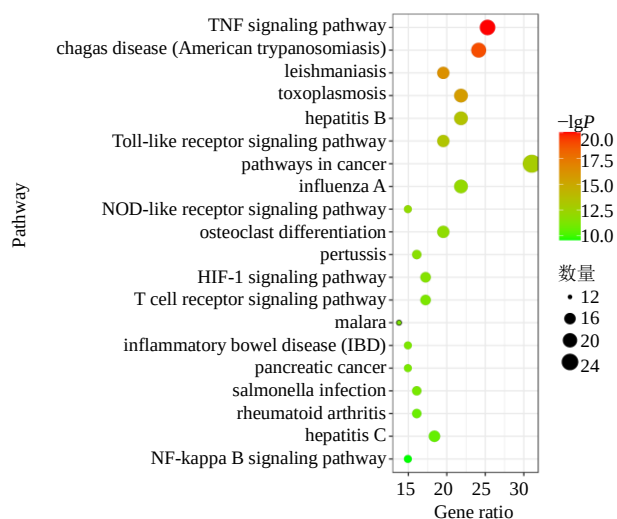


图 5 祛痹痛风饮治疗痛风 KEGG 富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment analysis of Qubi Tongfeng Yin in treatment of gout

3 讨论

根据祛痹痛风饮中药活性成分-靶点网络,利用 Cytoscape 分析度值较高的活性成分包括槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、豆甾醇、刺芒柄花素、木犀草素等。槲皮素是一种黄酮类化合物,研究表明^[19-20],槲皮素可抑制单钠尿酸盐晶体 (MSU) 引起的机械痛觉过敏、白细胞聚集、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 和白细胞介素 (IL)-1 β 的产生、炎症小体的激活、抗氧化剂水平的降低和炎症小体成分 mRNA 的表达,从而抑制炎症反应,以减轻患者疼痛感。山柰酚通过抑制诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和一氧化氮表达水平、抑制 ERK、p38 和 JNK 通路的激活、NF- β p65 亚基的移位,减少炎症因子如 TNF- α 、白细胞介素-1 等的产生而发挥抗炎作用,并具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌及预防心血管疾病等药理活性^[21-22]。 β -谷甾醇及豆甾醇均为植物甾醇,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、降低胆固醇、抗焦虑及抑郁、改善记忆等作用^[23-24]。NLRP3 炎症小体可引起痛风性关节炎的急性发作,刺芒柄花素可抑制 NF- κ B 信号通路的激活和 NLRP3 炎症小体的激活^[25]。研究显示,木犀草素可通过下调 Toll 样受体 (TLR) /MyD88/NF- κ B 通路减轻急性痛风性关节炎大鼠的炎症反应,抑制急性痛风性关节炎大鼠 TLR2、TLR4、MyD88、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达水平,具有与秋水仙碱相当的抑制效果^[26]。

通过 PPI 网络分析交集靶点发现,其中 IL-6、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、TNF、前列腺素

G/H 合成酶 2 (PTGS2)、IL-1 β 等靶蛋白度值显著高于平均度值。IL-6 是一种多功能细胞因子,在痛风性关节炎急性期呈明显高表达,能引起炎症急性期反应^[27-28],而且有研究发现,IL-6 与痛风石、关节畸形的形成有关,并且可能作为痛风性关节炎的预后指标^[29]。IL-1 β 在痛风的发病机制和急性痛风性关节炎的病理过程中起关键作用^[30],可增强巨噬细胞与粒细胞活性作用,能促进 IL-6、TNF- α 等炎症因子的分泌,加重炎症反应,造成软骨细胞外基质降解,引发关节功能障碍^[31]。TNF- α 作为重要的前炎症细胞因子,可以激活巨噬细胞、间质细胞,编码炎症相关细胞因子基因的启动子,诱发多细胞相互作用形成正反馈,使炎症迅速放大并且持续存在^[32-33]。有研究表明,TNF 拮抗剂不仅可以缓解痛风性关节炎的急性炎症反应,而且可以保证降尿酸治疗的实施^[34]。PTGS2 又称为环氧化酶 (COX),前列腺素 E₂ (PGE₂) 由花生四烯酸 (AA) 经 COX 转化而成,有助于产生 IL-1 β ,这是痛风的重要中介因子^[35]。环氧合酶-2 (COX-2) 抑制剂已被临床用于治疗痛风性关节炎^[36]。三磷酸腺苷结合盒转运蛋白 G2 (ABCG2) 是目前研究较多的尿酸转运蛋白,ABCG2 可介导肾脏和肾外尿酸排泄,其功能障碍可引起高尿酸血症^[37]。

从 KEGG 通路富集结果分析可知,祛痹痛风饮治疗痛风的关键通路主要涉及 TNF 信号通路、Toll 样受体信号通路、NOD 样受体信号通路、HIF-1 信号通路、T 细胞受体信号通路、NF- κ B 信号通路等。TNF 信号通路及通路中的相关因子在炎症反应过程中发挥重要的调控作用。TLR 是存在于免疫细胞膜上的一种模式识别体,参与机体免疫过程,可放大细胞信号级联反应,最终产生一系列炎症因子,引起炎症反应^[38-39]。TLR2 和 TLR4 是 TLR 家族的重要成员,尿酸盐晶体可以直接与单核巨噬细胞表面的 TLR2 和 TLR4 结合,通过 MyD88 激活下游转录因子如 NF- κ B,进而诱导 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 等炎症细胞因子的表达。这些细胞因子可促进内皮细胞黏附因子的表达,进而导致更多的中性粒细胞聚集于尿酸盐结晶沉积部位,使炎症反应进一步放大^[40]。NOD 样受体 (NOD-like receptor, NLR) 主要参与调控细胞免疫应答反应,维持宿主细胞内环境的稳态^[41],研究表明^[42-43],NLRP3 与痛风的发作相关,是痛风发生的危险因素,单钠尿酸盐晶体 (MSU) 可以激活 NLRP3 炎症小体,ASC 是 NLRP3

炎性体重要组成部分, 能够与 Caspase-1 CARD 结构域结合使 Caspase-1 活化, 进而活化 IL-1 β , 造成炎症反应增强, 使关节滑膜通透性增强, 关节红肿, 诱发急性痛风性关节炎。NF- κ B 信号通路是调节炎症和免疫的经典信号通路, NF- κ B 是 TNF 和 Toll 样受体信号通路下游的核因子, 可诱导 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子的产生从而促进炎症反应^[44]。

综上所述, 祛痹痛风饮治疗痛风是一个涉及多成分、多靶点、多通路的过程。祛痹痛风饮可能通过槲皮素、山柰酚、豆甾醇、木犀草素等活性成分, 作用于 IL-6、TNF、IL-1 β 、CXCL8、CCL2 等靶点, 调控 Toll 样受体信号通路、NOD 样受体信号通路、NF- κ B 信号通路等多通路促进肾脏和肾外尿酸排泄、减少尿酸盐晶体的沉积, 抑制炎症因子的释放减轻炎症反应来治疗痛风。由于本研究仅依托于网络数据库, 未考虑中药的剂量、炮制、煎煮方法对有效成分的影响, 预测结论可能有偏差, 因此后期需要运用中药指纹图谱技术及生物学实验对所测的活性成分、靶点和通路进行验证, 为后期药物研发及疾病治疗提供一定的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 曹雯, 陈国芳, 刘超. 基于指南的痛风诊治进展 [J]. 中国全科医学, 2018, 21(32): 3920-3923.
- [2] 黄晶, 杨婷, 王雨, 等. 痛风病的国内外认识及治疗进展与思考 [J]. 世界中医药, 2021, 16(1): 1-7.
- [3] 赖娜, 庞雅玲, 王养维. 高尿酸血症与多系统疾病关系的研究进展 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(1): 151-155, 160.
- [4] Liu R, Han C, Wu D, et al. Prevalence of hyperuricemia and gout in mainland China from 2000 to 2014: A systematic review and meta-analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2015: 762820.
- [5] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019) [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(1): 1-13.
- [6] 李红星, 张信岳, 武柠子, 等. 代谢组学技术在痛风类疾病研究中的应用进展 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(1): 122-128.
- [7] 陆妍, 孟凤仙, 刘慧. 中医痛风相关病名的演变与发展 [J]. 世界中医药, 2015, 10(4): 609-612.
- [8] 朱彦修. 格致余论 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 23.
- [9] 王坤, 崔炎, 徐潇, 等. 崔公让诊治痛风性关节炎经验采撷 [J]. 中国民间疗法, 2020, 28(1): 21-22.
- [10] 崔公让, 崔炎, 张榜. 崔公让临证经验辑要 [M]. 郑州: 中原农民出版社, 2015: 168-170.
- [11] 崔炎, 李玉凤. 崔公让教授治疗痛风性关节炎经验介绍 [J]. 新中医, 2009, 41(10): 12-13.
- [12] 王永志, 刘阳, 崔炎. 崔公让运用祛痹痛风饮治疗痛风性关节炎经验 [J]. 河南中医, 2019, 39(10): 1493-1496.
- [13] 吴建萍, 张榜, 魏柯, 等. 崔公让祛痹痛风饮加减治疗急性痛风性关节炎 [J]. 河南中医, 2019, 39(8): 1170-1173.
- [14] 庄延双, 蔡宝昌, 张自力. 网络药理学在中药研究中的应用进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(1): 156-160.
- [15] 任艳, 邓燕君, 马焱彬, 等. 网络药理学在中药领域的研究进展及面临的挑战 [J]. 中草药, 2020, 51(18): 4789-4797.
- [16] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [17] Gene Ontology Consortium. Gene Ontology Consortium: Going forward [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D1049-D1056.
- [18] Kanehisa M, Goto S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1): 27-30.
- [19] 黄敬群, 孙文娟, 王四旺, 等. 槲皮素对大鼠痛风性关节炎抗炎抗氧化活性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 169-173.
- [20] Ruiz-Miyazawa K W, Staurengo-Ferrari L, Mizokami S S, et al. Quercetin inhibits gout arthritis in mice: induction of an opioid-dependent regulation of inflammasome [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25: 555-570.
- [21] 雷晓青, 陈鳌, 刘毅, 等. 山柰酚药理作用的研究进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2017, 34(2): 61-62.
- [22] Devi K P, Malar D S, Nabavi S F, et al. Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99: 1-10.
- [23] 周志远, 卢群, 刘洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展 [J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17.
- [24] 刘威良, 姬昱, 黄艾祥. β -谷甾醇的研究及开发进展 [J]. 农产品加工, 2019(1): 77-79, 82.
- [25] Liu G, Zhao W, Bai J, et al. Formononetin protects against concanavalin-A-induced autoimmune hepatitis in mice through its anti-apoptotic and anti-inflammatory properties [J]. *Biochem Cell Biol*, 2021, 99(2): 231-240.
- [26] 沈瑞明, 马丽辉, 郑颜萍. 木犀草素通过 TLR/MyD88/NF- κ B 通路参与急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2020, 45(2): 115-122.

- [27] Estevez-Garcia I O, Gallegos-Nava S, Vera-Pérez E, *et al.* levels of cytokines and MicroRNAs in individuals with asymptomatic hyperuricemia and ultrasonographic findings of gout: A bench-to-bedside approach [J]. *Arthritis Care Res* (Hoboken), 2018, 70(12): 1814-1821.
- [28] Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 6(10): a016295.
- [29] Cavalcanti N G, Marques C D, Lins E Lins T U, *et al.* Cytokine profile in gout: Inflammation driven by IL-6 and IL-18? [J]. *Immunol Invest*, 2016, 45(5): 383-395.
- [30] Gong Q Y, Chen Y. Correlation between P2X7 receptor gene polymorphisms and gout [J]. *Rheumatol Int*, 2015, 35(8): 1307-1310.
- [31] 牛燕运, 郑娜, 胡翠平, 等. 祛湿清热法治疗痛风性关节炎的临床研究 [J]. *中国中医急症*, 2020, 29(1): 76-78, 94.
- [32] Nakae S, Lunderius C, Ho L H, *et al.* TNF can contribute to multiple features of ovalbumin-induced allergic inflammation of the airways in mice [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 119(3): 680-686.
- [33] Wilson S J, Wallin A, Della-Cioppa G, *et al.* Effects of budesonide and formoterol on NF-kappaB, adhesion molecules, and cytokines in asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(6): 1047-1052.
- [34] Zhang Y, Pan R Z, Xu Y, *et al.* Treatment of refractory gout with TNF- α antagonist etanercept combined with febuxostat [J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9(6): 4332-4338.
- [35] Wang Q, Lin B F, Li Z F, *et al.* Cichoric acid ameliorates monosodium urate-induced inflammatory response by reducing NLRP3 inflammasome activation via inhibition of NF-kB signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021: 8868527.
- [36] van Durme C M, Wechalekar M D, Buchbinder R, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs for acute gout [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014(9): CD010120.
- [37] Matsuo H, Takada T, Nakayama A, *et al.* ABCG2 dysfunction increases the risk of renal overload hyperuricemia [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2014, 33(4/5/6): 266-274.
- [38] Tang A C, Rahavi S M, Fung S Y, *et al.* Combination therapy with proteasome inhibitors and TLR agonists enhances tumour cell death and IL-1 β production [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 162.
- [39] Liu S, Jia H, Hou S, *et al.* Recombinant Mtb9.8 of Mycobacterium bovis stimulates TNF- α and IL-1 β secretion by RAW264.7 macrophages through activation of NF-kappaB pathway via TLR2 [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1928.
- [40] 董鹏, 宋慧. 痛风发病机制研究进展 [J]. *基础医学与临床*, 2015, 35(12): 1695-1699.
- [41] 马瑞仙, 李向茸, 冯若飞. NLRs 的免疫调控作用研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(11): 2019-2028.
- [42] Jhang J J, Cheng Y T, Ho C Y, *et al.* Monosodium urate crystals trigger Nrf2- and heme oxygenase-1-dependent inflammation in THP-1 cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2015, 12(4): 424-434.
- [43] Pirzada R H, Javaid N, Choi S. The roles of the NLRP3 inflammasome in neurodegenerative and metabolic diseases and in relevant advanced therapeutic interventions [J]. *Genes(Basel)*: 2020, 11(2): 131.
- [44] Lan L, Tao J, Chen A, *et al.* Electroacupuncture exerts anti-inflammatory effects in cerebral ischemia-reperfusion injured rats via suppression of the TLR4/NF-kappaB pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(1): 75-80.

[责任编辑 高源]