

## 基于网络药理学和分子对接探讨痛风舒片治疗痛风的作用机制

王海坤<sup>1</sup>, 苏丹<sup>2</sup>, 吴娜<sup>1</sup>, 张玉慧<sup>3\*</sup>

1. 亳州市人民医院 药学部, 安徽 亳州 236800

2. 中国科学技术大学附属第一医院 安徽省立医院 药剂科, 安徽 合肥 230001

3. 亳州市人民医院 风湿免疫科, 安徽 亳州 236800

**摘要:** **目的** 采用网络药理学和分子对接探讨痛风舒片治疗痛风的潜在作用机制。**方法** 检索中药系统药理学分析平台挖掘痛风舒片关键成分和对应靶点; 检索 PharmGKB、GeneCards、OMIM、TTD、DrugBank 数据库, 筛选痛风疾病靶点, 使用 R 软件 Venn 包, 获取痛风舒片与痛风的交集靶点基因。使用 Cytoscape 3.8.0 软件构建“中药复方成分-靶点”网络图并筛选药物核心成分; 使用 String 平台获取交集靶点基因的蛋白互作 (PPI) 网络, 并使用 Cytoscape 3.8.0 软件筛选核心靶点基因。应用 R 软件对交集靶点基因进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析, 应用 AutoDock Vina 软件进行分子对接。**结果** 共挖掘出痛风舒片关键成分 38 种, 对应靶点 164 个, 痛风疾病靶点 1 554 个, 二者交集靶点基因 66 个。筛选出核心成分 6 种 (槲皮素、β-谷甾醇、芦荟大黄素、高车前素、泽兰黄醇素、海波拉亭), 核心靶点基因 6 种 [V-rel 网状内皮细胞过多症病毒癌基因同源物 A (RELA)、白细胞介素-1β (IL-1β)、蛋白激酶 B1 (AKT1)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、NF-κB 抑制因子 α (NFKBIA)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)]。GO 功能共富集 1 963 个条目, 其中生物过程 1 830 个 (涉及对脂多糖的反应等), 细胞组分 27 个 (涉及膜筏等), 分子功能 106 个 (涉及磷酸酶结合等); KEGG 通路共富集 154 个条目, 如白细胞介素 (IL)-17、肿瘤坏死因子 (TNF) 等信号通路。所有核心成分与核心靶点蛋白的结合能均 < -5 kcal/mol, 大部分结合能 < -7 kcal/mol。**结论** 痛风舒片中核心成分槲皮素、β-谷甾醇、芦荟大黄素等可通过作用于 RELA、IL-1β、AKT1 等核心靶点基因, 对 IL-17、TNF 等信号通路进行调控, 从而发挥治疗痛风的作用。

**关键词:** 痛风舒片; 痛风; 网络药理学; 分子对接; 槲皮素、β-谷甾醇、芦荟大黄素、高车前素、泽兰黄醇素、海波拉亭  
**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)05-0952-09

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.05.005

## Mechanism of Tongfengshu Tablets in treatment of gout based on network pharmacology and molecular docking

WANG Hai-kun<sup>1</sup>, SU Dan<sup>2</sup>, WU Na<sup>1</sup>, ZHANG Yu-hui<sup>3</sup>

1. Department of Pharmacy, The People's Hospital of Bozhou, Bozhou 236800, China

2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of USTC, Anhui Provincial Hospital, Hefei 230001, China

3. Department of Rheumatology and Immunology, The People's Hospital of Bozhou, Bozhou 236800, China

**Abstract: Objective** To explore the potential mechanism of Tongfengshu Tablets in treatment of gout by network pharmacology and molecular docking. **Methods** Key components and corresponding targets of Tongfengshu Tablets were explored by searching pharmacology analysis platform of TCM system. Target genes of gout disease were obtained by searching PharmGKB, GeneCards, OMIM, TTD, and DrugBank databases, the intersection target genes of Tongfengshu Tablets and gout were obtained by Venn package of R software. The network diagram of “TCM compound component-target” was constructed and the drug core components was screened by Cytoscape 3.8.0 software. The protein interaction network of intersecting target genes was obtained using String platform, and the core target genes were screened by Cytoscape 3.8.0 software. GO function and KEGG pathway enrichment analysis were performed on the intersection target genes by R software and molecular docking was performed by AutoDock Vina software. **Results** A total of 38 key components and 164 corresponding targets of Tongfengshu Tablets were excavated, 1 554 targets of gout disease were

收稿日期: 2022-01-20

基金项目: 亳州市重点研发计划项目 (bzzc2020020)

作者简介: 王海坤, 副主任药师, 硕士, 研究方向为中药药效学物质基础和临床药学。E-mail: 290414568@qq.com

\*通信作者: 张玉慧, 副主任医师, 博士, 研究方向为风湿免疫性疾病的基础与临床研究。E-mail: clearhui18@126.com

excavated, there were 66 intersection target genes. Six core components (quercetin,  $\beta$ -sitosterol, aloe-emodin, dinatin, eupatin, and hypolaetin) and six core target genes (RELA, IL-1 $\beta$ , AKT1, MAPK1, NFKBIA, and TP53) were screened out. A total of 1 963 items were enriched in GO function, including 1 830 biological processes (involving reaction to lipopolysaccharide, etc.), 27 cell components (involving membrane raft, etc.) and 106 molecular functions (involving phosphatase binding, etc.). A total of 154 items were enriched in KEGG pathway, such as interleukin (IL-17), tumor necrosis factor (TNF) and other signaling pathways. The binding energies of all core components and core target proteins were  $< -5$  kcal/mol, and most of them were  $< -7$  kcal/mol. **Conclusion** The core components of Tongfengshu Tablets, including quercetin,  $\beta$ -sitosterol, aloe-emodin, etc., can regulate IL-17, TNF and other signaling pathways by acting on core target genes such as RELA, IL-1 $\beta$ , AKT1, etc., so as to play a role in the treatment of gout.

**Key words:** Tongfengshu Tablets; gout; network pharmacology; molecular docking; quercetin;  $\beta$ -sitosterol; aloe-emodin; dinatin; eupatin; hypolaetin

痛风是一种常见而复杂的炎症性关节疾病,临床症状表现为关节肿胀、发红、剧烈疼痛等。嘌呤代谢紊乱及尿酸结晶是痛风的发病机制,尿酸的沉积是导致关节内外急性炎症主要因素<sup>[1]</sup>。痛风若得不到及时医治,常会并发肾脏损害、2型糖尿病、高血压、高血脂及代谢综合征等疾病,对个人健康及医疗保健系统造成严重影响<sup>[2-3]</sup>。西医治疗痛风的药物主要有别嘌醇、曲尼司特、秋水仙碱、非甾体抗炎药等,需长期服药,不良反应较大,导致患者依从性较差,临床应用受限<sup>[4]</sup>。

中医认为痛风属“痹症”范畴,又称“湿病”“白虎历节”等<sup>[5]</sup>。中药在治疗痛风方面具有安全性高、作用靶点多、疗效确切等优点,在缓解痛风症状、降低尿酸水平方面具有独特的优势<sup>[6]</sup>。痛风舒片临床用于湿热瘀阻型痛风,具有利湿、清热、解毒之功效<sup>[7]</sup>。现代药理学研究提示,痛风舒制剂可促进大鼠体内尿酸的排泄,减轻关节组织局部的肿胀<sup>[8]</sup>;合用非甾体抗炎药能明显降低患者关节炎及血清中肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、前列腺素(PG)E<sub>2</sub>、白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 等炎症因子的水平<sup>[7]</sup>。由于中成药成分复杂,痛风舒片抗痛风的作用机制依旧没有得到清晰的阐述。本研究拟采用网络药理学方法,探讨痛风舒片治疗痛风的多组分、多靶点、多途径的整体调节机制,筛选出核心药效成分和靶点基因进行分子对接,验证核心成分和靶点蛋白的亲合性,为该药治疗痛风的进一步研究提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 痛风舒片关键成分筛选及靶点基因提取

痛风舒片为车前子、川牛膝、大黄、防己、泽泻组方制成的中药制剂。使用中药系统药理学分析平台数据库(TCMSP, <https://www.tcmsp-e.com>)筛选组方中药关键成分,筛选条件为类药性(DL)  $\geq 0.18$ ,口服生物利用度(OB)  $\geq 30\%$ <sup>[9]</sup>;继续使用该

数据库查询上一步所得关键成分对应的靶点;使用UniProt数据库(<http://www.uniprot.org>)检索上述靶点对应的人类基因官方简称,删除重复项,即得痛风舒片关键成分的对应该靶点基因。

### 1.2 痛风疾病靶点基因的筛选

以“gout”为关键词,检索PharmGKB(<http://www.pharmgkb.org>)、GeneCards(<https://www.genecards.org>)、OMIM(<http://omim.org>)、TTD(<http://db.idrblab.net/ttd>)、DrugBank([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca))数据库,搜集痛风的相关靶点,去重后,即得疾病靶点基因。使用R软件调用Venn程序包绘制韦恩图,获得痛风舒片与痛风的交集靶点基因。

### 1.3 “中药复方成分-靶点”网络的构建

将痛风舒片关键成分、交集靶点基因信息导入Cytoscape 3.8.0软件中,绘制“中药复方成分-靶点”网络图。使用Network Analyzer插件对上述网络中的成分节点进行拓扑分析,以中介中心性(betweenness centrality, BC)、紧密中心性(closeness centrality, CC)、度中心性(degree centrality, DC)3个参数筛选关键节点,3个参数皆大于各自均值的成分即为痛风舒片的核心成分<sup>[10]</sup>。

### 1.4 蛋白互作(PPI)网络的构建与分析

将痛风舒片与痛风的交集基因导入String平台(<https://www.string-db.org>),选项设为“Multiple proteins”,种属设为“Homo sapiens”,置信度设为“ $\geq 0.7$ ”,并隐藏不连续节点,构建交集基因的PPI网络,并导出tsv格式文件。将tsv文件导入Cytoscape 3.8.0软件,使用CytoNCA插件进行拓扑分析,以BC、CC、DC、特征向量中心性(eigenvector centrality, EC)、局部边连通性(local average connectivity, LAC)、网络中心性(network centrality, NC)等参数筛选网络关键节点,保留上述参数皆大于各自均值的节点,筛选2次后,所剩节点即为核

心靶点基因。

### 1.5 GO 功能与 KEGG 通路富集分析

使用 R 软件调用 org.Hs.eg.db 程序包，将痛风舒片与痛风的交集靶点基因简称转换为 entrez ID。将转换后的基因 ID，使用 R 软件，调用 clusterProfiler、enrichplot、ggplot2 程序包，进行 GO 功能与 KEGG 通路富集分析。按 *P* 值及校正后的 *P* 值 (*q* 值) 均 < 0.05 的标准进行筛选，按 *q* 值由小到大排序，分别选取 GO 分析前 10 位、KEGG 分析前 20 位的结果进行绘图。同时绘制 KEGG 关键通路的信号通路图。

### 1.6 “成分 - 靶点” 分子对接验证

由 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 下载 1.3 项所得核心成分的化合物 2D 结构，使用 Chem3D 软件将结构转换为 3D，以最小自由能对结构进行优化，保存为 “Mol2” 格式，即为小分子配体。由 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>) 下载 1.4 项所得核心靶点基

因对应的蛋白 3D 结构，使用 PyMol 软件去除水和异质分子，以 “pdb” 格式保存，即为蛋白受体。使用 AutoDock Tools 软件确定小分子配体可扭转键，并对蛋白受体进行加氢等处理，将小分子配体和蛋白受体均转存为 “pdbqt” 格式文件，使用 Gird 模块设置对接盒子参数：Spacing (angstrom) 设为 1.000，盒子大小调整为可覆盖所有活性位点和整个受体。使用 AutoDock vina 软件<sup>[11]</sup>将小分子配体和蛋白受体进行分子对接并统计结合能，结合能越小，对接越稳定[结合能 < 0 kcal/mol (1 cal = 4.2 J) 说明配体和受体可自发结合；结合能 < -5 kcal/mol 说明二者具有良好的结合活性；结合能 < -7 kcal/mol 说明二者具有强烈的结合活性]<sup>[12]</sup>。使用 PyMol 软件对部分分子对接结果进行可视化。

## 2 结果

### 2.1 痛风舒片关键成分的筛选结果

共筛选出痛风舒片中抗痛风活性较高的 42 种成分，去重后得 38 种关键成分，见表 1。

表 1 痛风舒片中关键成分  
Table 1 Key ingredients of Tongfengshu Tablets

MOL 编号	有效成分	OB/%	DL	来源
MOL001663	(4a <i>S</i> ,6a <i>R</i> ,6a <i>S</i> ,6b <i>R</i> ,8a <i>R</i> ,10 <i>R</i> ,12a <i>R</i> ,14b <i>S</i> )-10-hydroxy-2,2,6a,6b,9,9,12a-heptamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydricene-4a-carboxylic acid	32.03	0.76	车前子
MOL001735	dinatin	30.97	0.27	车前子
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	车前子、泽泻
MOL005869	daucostero_qt	36.91	0.75	车前子
MOL007813	dihydrotricetin	58.12	0.28	车前子
MOL007819	hypolaetin	33.24	0.28	车前子
MOL007835	orobanchoside_qt	55.99	0.82	车前子
MOL007836	plantagin_in_qt	54.04	0.24	车前子
MOL012286	betavulgarin	68.75	0.39	川牛膝
MOL012298	rubrosterone	32.69	0.47	川牛膝
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	川牛膝、车前子
MOL002235	eupatin	50.80	0.41	大黄
MOL002251	mutatochrome	48.64	0.61	大黄
MOL002259	physciondiglucoside	41.65	0.63	大黄
MOL002260	procyanidin B-5,3'- <i>O</i> -gallate	31.99	0.32	大黄
MOL002268	rhein	47.07	0.28	大黄
MOL002276	sennoside E_qt	50.69	0.61	大黄
MOL002280	torachryson-8- <i>O</i> -beta- <i>D</i> -(6'-oxayl)-glucoside	43.02	0.74	大黄
MOL002281	toralactone	46.46	0.24	大黄
MOL002288	emodin-1- <i>O</i> -beta- <i>D</i> -glucopyranoside	44.81	0.80	大黄
MOL002293	sennoside <i>D</i> _qt	61.06	0.61	大黄
MOL002297	daucostero_l_qt	35.89	0.70	大黄
MOL002303	palmidin A	32.45	0.65	大黄
MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24	大黄
MOL000554	gallic acid-3- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -galloyl)-glucoside	30.25	0.67	大黄
MOL000096	(-)-catechin	49.68	0.24	大黄
MOL002333	tetraneurin A	35.40	0.31	防己

续表 1

MOL 编号	有效成分	OB/%	DL	来源
MOL002341	hesperetin	70.31	0.27	防己
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	防己、大黄、川牛膝
MOL000830	alisol B	34.47	0.82	泽泻
MOL000831	alisol B monoacetate	35.58	0.81	泽泻
MOL000832	alisol,b,23-acetate	32.52	0.82	泽泻
MOL000849	16 $\beta$ -methoxyalisol B monoacetate	32.43	0.77	泽泻
MOL000853	alisol B	36.76	0.82	泽泻
MOL000854	alisol C	32.70	0.82	泽泻
MOL000856	alisol C monoacetate	33.06	0.83	泽泻
MOL002464	1-monolinolein	37.18	0.30	泽泻
MOL000862	[(1S,3R)-1-[(2R)-3,3-dimethyloxiran-2-yl]-3-[(5R,8S,9S,10S,11S,14R)-11-hydroxy-4,4,8,10,14-pentamethyl-3-oxo-1,2,5,6,7,9,11,12,15,16-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]butyl] acetate	35.58	0.81	泽泻

## 2.2 “中药复方成分 - 靶点” 网络的分析结果

共获得痛风舒片关键成分的对靶点基因 490 个，去重后数目为 164；共筛选出痛风疾病靶点基因 1 554 个。二者取交集后，获得痛风舒片与痛风交集靶点基因 66 个，见图 1。

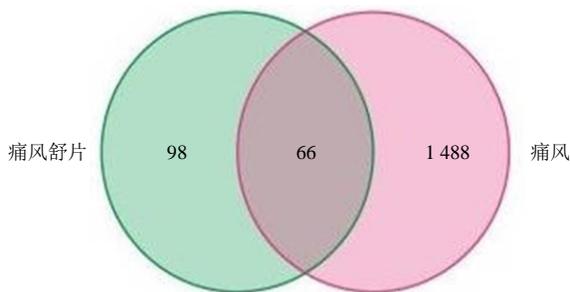


图 1 痛风舒片与痛风交集靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn map of intersection target of Tongfengshu Tablets and gout

“中药复方成分 - 靶点” 网络见图 2 (左边环形上的节点代表痛风舒片关键成分，节点编号为成分对应的分子编号，饼图字母表示该成分来源于何种中药，A 表示来源于大黄，B 表示来源于川牛膝，C 表示来源于车前子，D 表示来源于防风，E 表示来源于泽泻，多个字母表示该成分来源于多种中药；右边矩阵代表“药物 - 痛风” 交集靶点基因)。在建立痛风舒片关键成分与痛风疾病之间的关系时，发现有 22 个成分所对应的靶点基因与痛风疾病靶点基因没有重合，即这 22 个成分与痛风疾病不相关，绘制网络图时不纳入。因此图中只显示 16 种成分。基因节点的大小表示与其相关的成分的多少，包括 82 个节点和 134 条边。

通过拓扑分析得出，该网络的平均 BC 值为 0.004 7，平均 CC 值为 0.371 6，平均 DC 值为 5.00。进一步分析发现有 6 种成分的 BC、CC、DC 值均

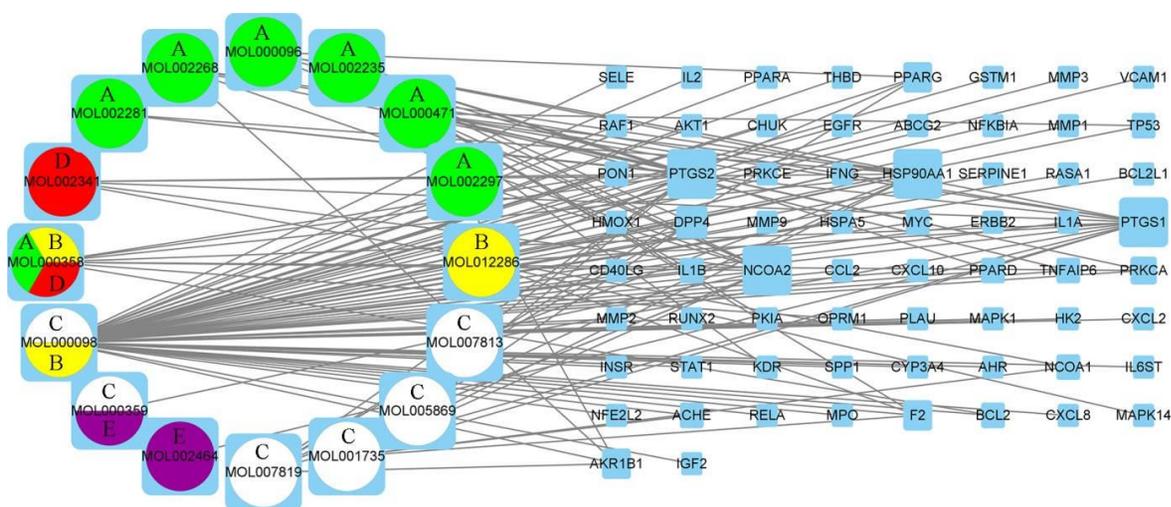


图 2 “中药复方 - 成分 - 靶点” 网络图

Fig. 2 Network diagram of “Chinese herbal compound - component - target”

大于其平均值，分别为槲皮素 (quercetin)、β-谷甾醇 (beta-sitosterol)、芦荟大黄素 (aloe-emodin)、高车前素 (dinatin)、泽兰黄醇素 (eupatin)、海波拉亭 (hypolaetin)，推测它们可能是痛风舒片治疗痛风的核心成分，拓扑参数见表 2。

表 2 核心成分拓扑参数

Table 2 Topological parameters of core components

MOL 编号	核心成分	BC	CC	DC
MOL000098	槲皮素	0.845 9	0.750 0	60.00
MOL000358	β-谷甾醇	0.034 4	0.382 1	8.00
MOL000471	芦荟大黄素	0.068 2	0.397 1	12.00
MOL001735	高车前素	0.022 8	0.382 1	8.00
MOL002235	泽兰黄醇素	0.030 4	0.375 0	7.00
MOL007819	海波拉亭	0.006 4	0.378 5	7.00

### 2.3 PPI 网络的绘制及分析结果

PPI 网络共包含 63 个节点，294 条边。使用 CytoNCA 插件筛选 2 次后，共获得 6 个核心靶点基因，分别为 V-rel 网状内皮细胞过度增殖病毒癌基因同源物 A (RELA)、白细胞介素-1β (IL-1β)、蛋白激酶 B1 (AKT1)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、NF-κB 抑制因子 α (NFKBIA)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)，拓扑参数 BC、CC、DC、EC、LAC、NC 皆大于各自均值 6.627 0、0.692 3、10.00、0.230 5、5.80、6.75，见图 3。

### 2.4 GO 功能与 KEGG 通路富集分析结果

GO 功能富集分析共得到 1 963 个条目，其中生物过程 (BP) 1 830 个，细胞组分 (CC) 27 个，

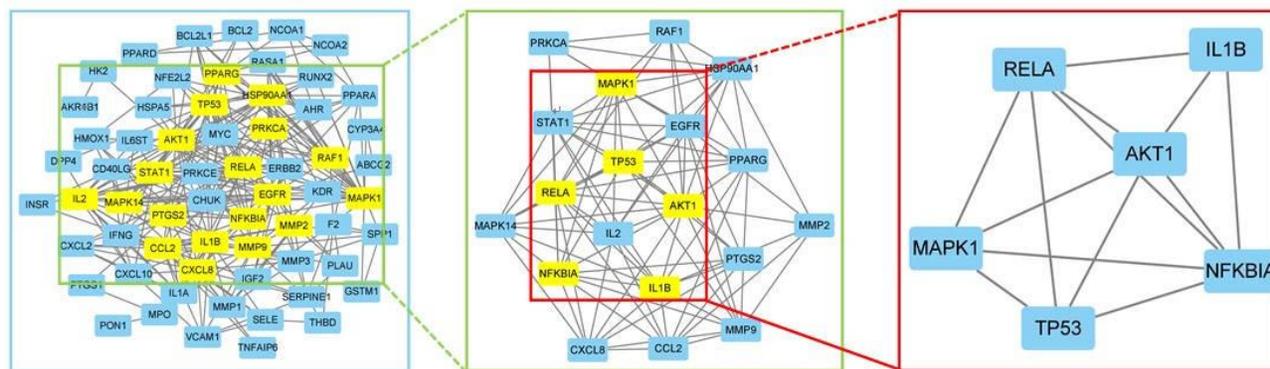


图 3 PPI 网络中核心靶点基因的筛选流程

Fig. 3 Screening process of core target genes in PPI network

分子功能 (MF) 106 个。BP 主要涉及对脂多糖的反应 (response to lipopolysaccharide)、对细菌源分子的反应 (response to molecule of bacterial origin)、对营养水平的反应 (response to nutrient levels) 等；CC 主要涉及膜筏 (membrane raft)、膜微区 (membrane microdomain)、膜区域 (membrane region) 等；MF 主要涉及磷酸酶结合 (phosphatase binding)、细胞因子受体结合 (cytokine receptor binding)、抑制转录因子结合 (repressing transcription factor binding) 等，见图 4。

KEGG 通路富集分析共得到 154 个条目，排名前几位的通路主要包括脂质与动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、流体剪切应力与动脉粥样硬化 (fluid shear stress and atherosclerosis)、糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、白细胞介素-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway)、肿瘤坏死因子

信号通路 (TNF signaling pathway) 等，见图 5。

### 2.5 分子对接结果

6 个核心药效分子与 6 个核心靶点基因蛋白的分子对接结合能见表 3。由表 3 可知，各组合结合能均 < -5 kcal/mol，表明具有良好的结合活性；多数组合结合能 < -7 kcal/mol，表明具有强烈的结合活性。该结果显示，痛风舒片的核心药效成分与痛风的核心靶点基因之间的关联性很强，这些药效成分与核心靶点基因可能是痛风舒片治疗痛风的主要作用靶点。

使用 PyMol 软件对每个核心靶点蛋白结合能最低的分子对接结果进行可视化，见图 6。氢键是促进配体和活性位点相结合的主要作用力<sup>[13]</sup>。由图 6 可见，芦荟大黄素可与 RELA 编码蛋白 (PDB id: 3qxy) 的活性位点 TYR-285、HIS-252 形成氢键；海波拉亭可与 IL-1β 编码蛋白 (PDB id: 1hib) 的活性位点 PRO-78、LEU-134、SER-125 形成氢键；泽

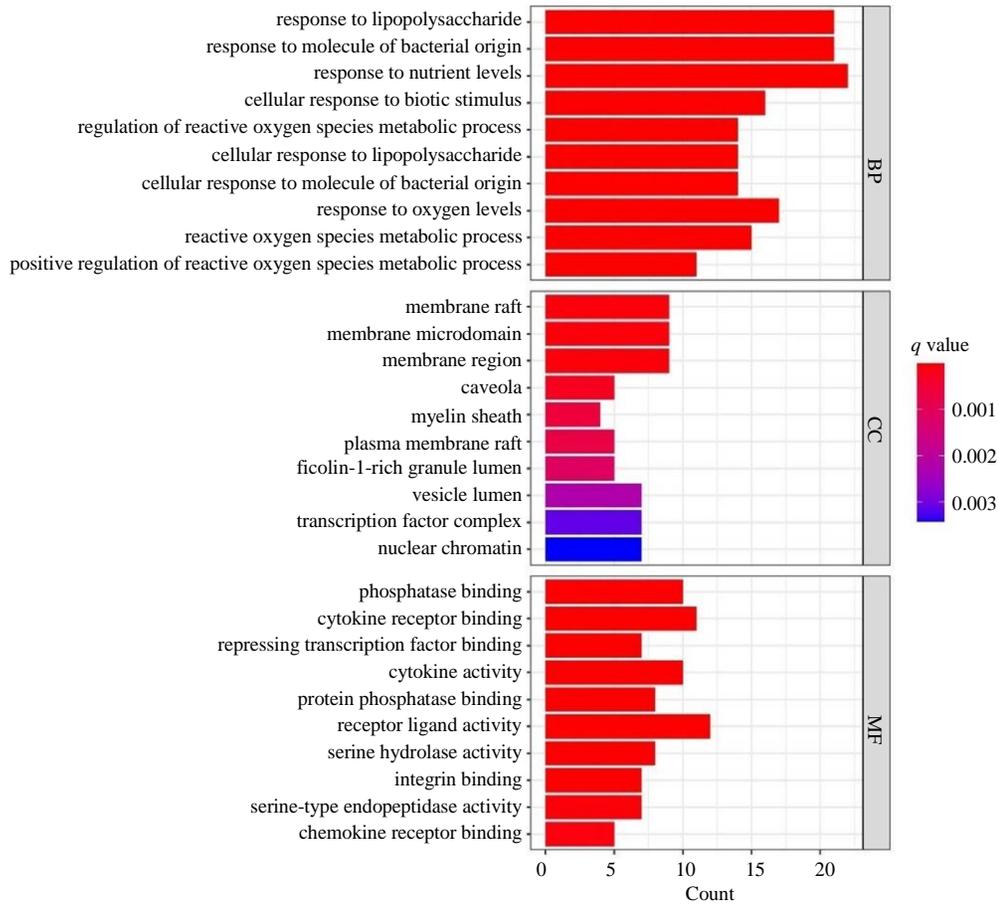


图 4 GO 功能富集

Fig. 4 GO functional enrichment analysis

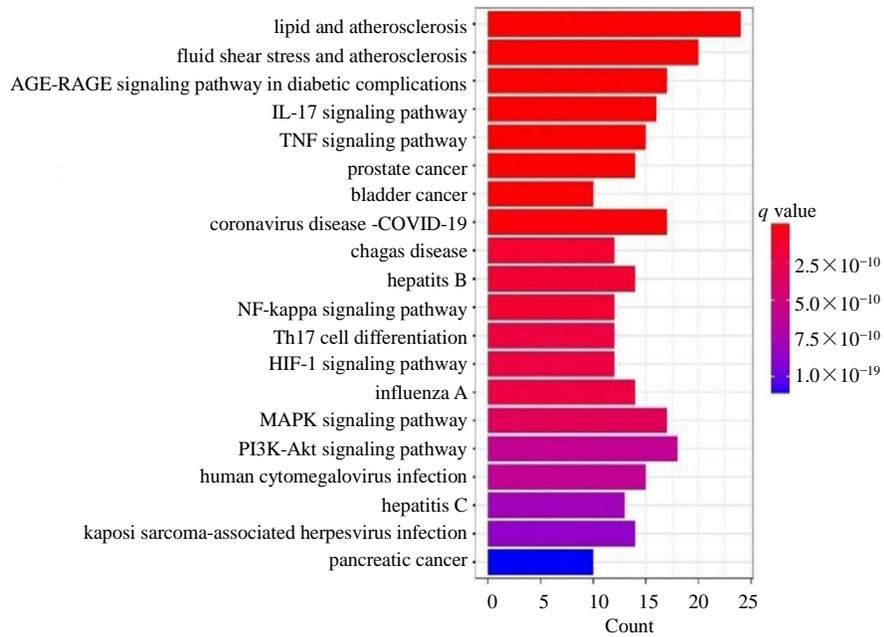


图 5 KEGG 通路富集

Fig. 5 KEGG pathways enrichment analysis

表 3 核心成分与靶点基因蛋白的分子对接结合能  
Table 3 Molecular docking energy of core component and core target gene protein

药效成分	结合能/(kcal·mol <sup>-1</sup> )					
	RELA	IL-1 $\beta$	AKT1	MAPK1	NFKBIA	TP53
槲皮素	-9.2	-6.5	-6.2	-8.4	-8.5	-8.0
$\beta$ -谷甾醇	-7.7	-6.6	-6.2	-8.2	-7.8	-7.8
芦荟大黄素	-9.6	-6.5	-6.5	-8.6	-8.7	-8.4
高车前素	-9.4	-6.3	-6.2	-8.2	-8.1	-7.6
泽兰黄醇素	-9.1	-6.2	-6.5	-8.5	-8.2	-7.9
海波拉亭	-9.2	-6.7	-6.4	-8.4	-8.6	-8.3

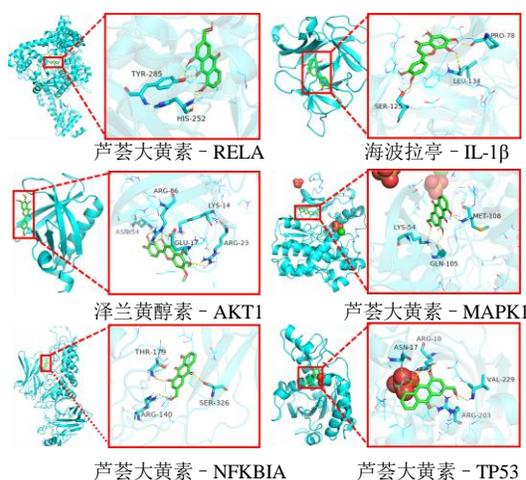


图 6 分子对接示意图

Fig. 6 Schematic diagram of molecular docking

兰黄醇素可与 AKT1 编码蛋白 (PDB id: 1h10) 的活性位点 ARG-86、LYS-14、ASN-54、GLU-17、ARG-23 形成氢键；芦荟大黄素可与 MAPK1 编码蛋白 (PDB id: 6g54) 的活性位点 LYS-54、MET-108、GLN-105 形成氢键；芦荟大黄素可与 NFKBIA 编码蛋白 (PDB id: 1ikn) 的活性位点 THR-179、SER-326、ARG-140 形成氢键；芦荟大黄素可与 TP53 编码蛋白 (PDB id: 3dcy) 的活性位点 ASN-17、ARG-10、VAL-229、ARG-203 形成氢键。

### 3 讨论

痛风舒片中君药为大黄，臣药为车前子、泽泻，佐药为防己，使药为川牛膝，5 味中药均有良好的抗痛风作用<sup>[14]</sup>。大黄中的大黄酸可通过干扰 Nod 样受体蛋白 3 (NLRP3) 的合成，从而抑制半胱氨酸蛋白酶-1 (Caspase-1) 蛋白和 IL-1 $\beta$  因子活性<sup>[15]</sup>，对痛风和痛风性关节炎具有良好的治疗潜力。车前子和泽泻属健脾利湿药，可促进体内尿素和尿酸的

排泄，此外车前子水煎液还能下调大鼠 NLRP3、Caspase-1 和凋亡相关点样蛋白的相对表达量<sup>[16]</sup>，减轻痛风炎症反应。防己属祛风除湿药，其有效成分粉防己碱可抑制 TNF- $\alpha$ 、PGE<sub>2</sub> 等炎症因子合成。川牛膝可引药下行、通淋涩，抑制核因子 (NF)- $\kappa$ B 蛋白的活性<sup>[17]</sup>，具有一定的抗炎作用，可减轻局部炎症反应。以上诸药合用，共奏解毒、利湿、清热之功效，对湿热引起的痛风效果较好。

由“中药复方成分-靶点”网络可知，槲皮素、 $\beta$ -谷甾醇、芦荟大黄素、高车前素、泽兰黄醇素和海波拉亭是痛风舒片的主要核心成分。槲皮素可显著抑制黄嘌呤氧化酶诱导的脂质过氧化反应 (呈剂量相关性)，且可促进尿酸排泄<sup>[18-19]</sup>。 $\beta$ -谷甾醇可使细胞中 IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等因子减少<sup>[20]</sup>，从而减轻痛风的炎症反应。芦荟大黄素和高车前素均对黄嘌呤氧化酶有抑制作用<sup>[21-22]</sup>，泽兰黄醇素具有较好抗炎作用<sup>[23]</sup>。表明痛风舒片的主要核心成分在治疗痛风方面具有明显的优势。

由 PPI 网络可知，RELA、IL-1 $\beta$ 、AKT1、MAPK1、NFKBIA、TP53 是痛风舒片治疗痛风的核心靶点基因。RELA 是 NF- $\kappa$ B 家族的 5 个成员之一，NF- $\kappa$ B 是 TLR/NF- $\kappa$ B 信号通路下游的中心蛋白，与痛风疾病相关炎症因子的激活和转录密切相关<sup>[24]</sup>。IL-1 $\beta$  可驱动 IL-1 信号通路和骨髓分化因子 88 依赖性 NF- $\kappa$ B 信号通路，从而促进 TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达<sup>[25]</sup>，是痛风的炎症调节剂和始动因素。AKT1 是蛋白激酶 B (AKT) 的一个亚型，在人外周血单核细胞中，过高的尿酸水平可激活 AKT-PRAS40 信号通路，增加炎症因子 IL-1 $\beta$  的表达<sup>[26]</sup>。MAPK1 为炎症的评价指标之一，其与炎症密切相关，常常是炎症各种通路的一份子<sup>[27]</sup>。NFKBIA 与血浆 IL-6 炎症因子相关<sup>[28]</sup>。TP53 可调节软骨细胞凋亡，减轻痛风性关节炎患者的关节疼痛，延缓关节退变<sup>[29]</sup>。

GO 功能富集分析结果表明，痛风舒片可通过多种途径对痛风疾病进行调控。KEGG 通路富集分析结果显示，脂质和动脉粥样硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化、糖尿病并发症 AGE-RAGE、IL-17、TNF、前列腺癌等信号通路是主要的调控途径，表明不同疾病间的调控机制可能有相同的部分。AGE-RAGE 通路可使 MAPK 磷酸化水平上调，增加 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  等因子的表达<sup>[29]</sup>，这些因子可使痛风症状加重。IL-17 是体内炎症反应的一个

特征性细胞因子,由 TH17 细胞分泌,研究表明<sup>[30]</sup>,通过中和 IL-17 因子,可使痛风动物的相关症状,比如组织炎性浸润和关节肿胀等得到改善。TNF 通路可诱导激活 NF- $\kappa$ B 信号通路,使得 NF- $\kappa$ B 等因子上调,从而增加 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等多种炎性因子的生成,使得白细胞聚集、痛风炎症反应放大<sup>[31]</sup>。分子对接结果显示,痛风舒片核心药效成分与核心靶点基因蛋白均有良好的对接活性(结合能 < -5 kcal/mol),且大部分对接结合活性强烈(结合能 < -7 kcal/mol),进一步表明了痛风舒片主要药效成分可通过调控 RELA、IL-1 $\beta$ 、AKT1 等核心靶点基因发挥治疗痛风的作用,初步验证了通过网络药理学探讨作用机制的可靠性,为后续痛风舒片治疗痛风的分子机制研究提供一定的参考。

综上所述,痛风舒片中的槲皮素、 $\beta$ -谷甾醇、芦荟大黄素、高车前素、泽兰黄酮素、海波拉亭等药效成分可通过作用于 RELA、IL-1 $\beta$ 、AKT1、MAPK1、NFKBIA、TP53 等靶点基因,对 AGE-RAGE、IL-17、TNF 等信号通路进行调控,从而发挥治疗痛风的作用。其作用机制涉及到多个药效成分、靶点基因和信号通路,这与中药“多组分、多靶点、多途径”的治疗特点相符合。然而,对本研究探讨的痛风舒片治疗痛风的潜在靶点基因及信号通路,尚需相关实验予以进一步验证。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Oh K K, Adnan M, Cho D H. Network pharmacology study on *Morus alba* L. leaves: Pivotal functions of bioactives on ras signaling pathway and its associated target proteins against gout [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9372.
- [2] 朱剑, 赵毅, 徐东, 等. 痛风相关知识问答(四): 并发症和伴发疾病 [J]. *中华内科杂志*, 2018, 57(12): 930-931.
- [3] Punzi L, Scanu A, Galozzi P, et al. One year in review 2020: Gout [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2020, 38(5): 807-821.
- [4] 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.
- [5] 王佰灵, 罗伦, 戈振凯, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨金钱草治疗痛风的作用机制 [J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(5): 859-867.
- [6] 李树冬, 谢芳, 刘永利, 等. 口服中成药治疗痛风性关节炎的网状 Meta 分析 [J]. *中草药*, 2021, 52(13): 3980-3993.
- [7] 展俊平, 孟庆良, 杜敏, 等. 痛风舒联合双氯芬酸治疗痛风性关节炎湿热瘀阻证 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2018, 37(8): 472-477.
- [8] 王新亚, 杨莉. 痛风舒合剂抗大鼠急性痛风性关节炎的实验研究 [J]. *中药材*, 2010, 33(3): 435-437.
- [9] 李沿鑫, 王爱国, 陆贵琪, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨活络效灵丹治疗骨关节炎的作用机制 [J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(4): 708-718.
- [10] Barabási A L, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: A network-based approach to human disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(1): 56-68.
- [11] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2): 455-461.
- [12] 凌晓颖, 陶嘉磊, 孙逊, 等. 基于网络药理学的连花清瘟方抗冠状病毒的物质基础及机制探讨 [J]. *中草药*, 2020, 51(7): 1723-1730.
- [13] 黄友, 杨莎莎, 林夏, 等. 基于网络药理-分子对接研究附子理中丸治疗溃疡性结肠炎的作用机制 [J]. *药学报*, 2020, 55(8): 1812-1822.
- [14] 唐春萍, 江涛, 田伟, 等. 痛风舒胶囊对痛风模型动物抗炎作用及机制的研究 [J]. *中草药*, 2007(8): 1225-1228.
- [15] Chang W C, Chu M T, Hsu C Y, et al. Rhein, an anthraquinone drug, suppresses the NLRP3 inflammasome and macrophage activation in urate crystal-induced gouty inflammation [J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(1): 135-151.
- [16] 赵宏, 柴桂芳, 刘颖斐, 等. 车前子水煎液对痛风性肾病大鼠的肾保护作用及机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(20): 108-114.
- [17] 单玮, 阙华发. 三妙丸类方及川牛膝对急性痛风性关节炎大鼠炎症反应的作用机制研究 [J]. *世界中医药*, 2013, 8(2): 189-193.
- [18] Irondi E A, Agboola S O, Oboh G, et al. Guava leaves polyphenolics-rich extract inhibits vital enzymes implicated in gout and hypertension *in vitro* [J]. *J Interact Ethnopharmacol*, 2016, 5(2): 122-130.
- [19] Hu Q H, Zhang X, Wang X, et al. Quercetin regulates organic ion transporter and uromodulin expression and improves renal function in hyperuricemic mice [J]. *Eur J Nutr*, 2012, 51(5): 593-606.
- [20] 陈元堃, 曾奥, 罗振辉, 等.  $\beta$ -谷甾醇药理作用研究进展 [J]. *广东药科大学学报*, 2021, 37(1): 148-153.
- [21] Shi D H, Huang W, Li C, et al. Design, synthesis and molecular modeling of aloe-emodin derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 75: 289-296.

- [22] 刘佩, 史玉聪, 邓力, 等. 车前草治疗痛风及高尿酸血症机制探讨 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(10): 172-175.
- [23] Chou C H, Hsu K C, Lin T E, *et al.* Anti-inflammatory and tau phosphorylation-inhibitory effects of eupatin [J]. *Molecules*, 2020, 25(23): 5652.
- [24] 柳松, 王晓倩, 廖广辉, 等. NLRP3 炎症小体及 I $\kappa$ B、IKK 在痛风性关节炎中的作用机制研究进展 [J]. 现代免疫学, 2019, 39(4): 332-336.
- [25] Dang W T, Xie W G, Zhou J G. Expression of PYCARD gene transcript variant mRNA in peripheral blood mononuclear cells of primary gout patients with different Chinese medicine syndromes [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(1): 24-31.
- [26] Crişan T O, Cleophas M C P, Novakovic B, *et al.* Uric acid priming in human monocytes is driven by the AKT-PRAS40 autophagy pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(21): 5485-5490.
- [27] 郭璐, 夏道宗, 骆叶姣, 等. 基于网络药理学探讨土茯苓治疗痛风的作用机制 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1413-1418.
- [28] 赖红梅. NFKBIA、NFKB1 基因多态性与冠心病及血浆 IL-6 水平相关性研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2015.
- [29] 章晓云, 李华南, 陈锋, 等. 网络药理学结合分子对接技术揭示桂枝芍药知母汤治疗痛风性关节炎的潜在分子机制 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(2): 245-252.
- [30] Raucci F, Iqbal A J, Saviano A, *et al.* IL-17A neutralizing antibody regulates monosodium urate crystal-induced gouty inflammation [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 147: 104351.
- [31] 马遥, 姜兆伟, 靳云轶, 等. 大鼠牙周炎正畸牙移动初期 TNF 信号通路的基因本体分析 [J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(11): 695-702.

[责任编辑 高源]