

基于网络药理学及分子对接技术探讨小白菊内酯治疗肺癌的分子机制

孙杨¹, 谷光宇², 贾正虎³, 孟洁⁴, 高森^{5*}

1. 天津医科大学中新生态城医院 药剂科, 天津 300467
2. 天津医科大学第二医院 全科医学科, 天津 300211
3. 暨南大学 生物医学转化研究院, 广东 广州 510632
4. 天津市宁河区医院 妇科, 天津 301500
5. 天津医科大学总医院 药剂科, 天津 300052

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探究小白菊内酯治疗肺癌的分子机制。**方法** 从 Swiss Target Prediction、SuperPred 和 HERB 数据库筛选小白菊内酯的作用靶基因。通过 GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 和 DisGeNET 数据库收集肺癌的疾病靶基因。使用 Cytoscape 软件构建“药物-靶基因-疾病”网络, 利用 STRING 数据库构建蛋白互作网络 (PPI); 通过 Bioconductor 平台进行基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析, 利用分子对接技术确定小白菊内酯与核心靶基因结合作用。**结果** 小白菊内酯靶基因共 88 个, 肺癌相关基因 8 814 个, 取交集得到小白菊内酯-肺癌共同靶基因 68 个。在 PPI 网络中, 组蛋白去乙酰化酶 2 (HDAC2)、细胞色素 P450 (CYP) 2D6、CYP3A4、CYP2A6、前列腺素内过氧化物酶 2 (PTGS2)、Toll 样受体 4 (TLR4)、溴结构域包含蛋白 (BRD) 2、BRD4、单胺氧化酶 A (MAOA)、无嘌呤/无嘧啶核酸内切酶-1 (APEX1) 是小白菊内酯作用于肺癌的 10 个核心基因。共同靶基因的 GO 分子功能主要涉及对外源性刺激的反应、花生四烯酸代谢过程、质膜外侧、氧化还原酶活性加入分子氧的掺入或还原, 作用于成对供体、p53 结合和 G 蛋白偶联受体活性等 623 个生物学过程。KEGG 信号通路主要富集在化学致癌作用-DNA 加合物、药物代谢-细胞色素 P450、细胞色素 P450 对异种物质的代谢等 11 个信号通路。分子对接分析表明, 小白菊内酯与 10 核心基因之间均有良好的结合活性, 氢键和 $\pi-\pi$ 堆叠是相互作用的主要形式。**结论** 小白菊内酯能通过多个靶点和多条信号通路治疗肺癌。

关键词: 小白菊内酯; 肺癌; 网络药理学; 分子对接; 作用机制; 细胞色素 P450

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)05-1062-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.05.005

Molecular mechanism of parthenolide in treatment of lung cancer based on network pharmacology and molecular docking technology

SUN Yang¹, GU Guang-yu², JIA Zheng-hu³, MENG Jie⁴, GAO Sen⁵

1. Department of Pharmacy, Sino-Singapore Eco-city Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300467, China
2. Department of General Practice, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China
3. Biomedical Translational Research Institute, Jinan University, Guangzhou 510632, China
4. Department of Gynecology, Tianjin Ninghe District Hospital, Tianjin 301500, China
5. Department of Pharmacy, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Abstract: Objective To study the molecular mechanism of parthenolide in treatment of lung cancer based on network pharmacology and molecular docking methods. **Methods** The potential targets of parthenolide were obtained from the Swiss Target Prediction, SuperPred, and HERB databases, and the relevant targets of lung cancer were screened from the DisGeNET, GeneCards, PharmGkb, TTD, DrugBank, and OMIM databases. The drug-target-disease network was constructed by Cytoscape software. The protein-protein interaction (PPI) network was drawn through the STRING database. Gene Ontology (GO) and pathway enrichment analyses of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were performed by the Bioconductor platform. Molecular docking

收稿日期: 2023-02-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (8207091525, 81872236)

作者简介: 孙杨, 男, 本科, 主管药师, 研究方向为医院药学和药物评价。E-mail: 337325219@qq.com

*通信作者: 高森, 男, 硕士, 主任药师, 研究方向为中西药物质量控制、医院药学和药物评价。E-mail: yjkgaoen@163.com

was used to determine the binding of parthenolide to core target genes. **Results** A total of 88 potential targets of parthenolide were chosen, 8 814 lung cancer-related targets were identified, and 68 overlapping targets were obtained. In the PPI network, HDAC2, CYP2D6, CYP3A4, CYP2A6, PTGS2, TLR4, BRD2, BRD4, MAOA, and APEX1 were the core targets. GO molecular functions of common target genes mainly involve 623 biological processes, such as the response to exogenous stimuli, arachidonic acid metabolism, outer plasma membrane, the addition or reduction of REDOX enzyme activity with molecular oxygen, the action of paired donor, p53 binding and G protein-coupled amine receptor activity. KEGG signaling pathway is mainly concentrated in 11 signaling pathways, including chemical carcinogenesis-DNA adducts, drug metabolism-cytochrome P450, and cytochrome P450 metabolism of heterogeneous substances. Molecular docking analysis showed that there was good binding activity between parthenolide and 10 core genes, and hydrogen bond and π - π stacking were the main forms of interaction. **Conclusion** Parthenolide can treat lung cancer through multi-target and multi-pathway.

Key words: parthenolide; lung cancer; network pharmacology; molecular docking; mechanism; cytochromeP450

肺癌是世界上最常见的癌症，占所有癌症的 12.3%，估计每年有 120 万新病例^[1]。肺癌是世界上最致命的肿瘤因为其高发病率和高死亡率。癌症患者的总体生存率约为 17%，5 年生存率仅占 5%^[2]。手术是肺癌的主要治疗手段，但是当癌细胞被留下时肺癌可能复发^[3]，化疗和放射治疗是最常见的临床治疗策略，但始终是与许多不良反应有关^[4]。因此，寻找低毒而又有效得化疗药物与新的药物作用靶点一直是近年来研究的方向。从天然产物中获取治疗疾病的小分子化合物，一直是抗肿瘤药物研发的重要途径。小白菊内酯是一种倍半萜内酯，最初从小白菊 *Tanacetum parthenium* (L.) Sch.-Bup. 的嫩枝中提纯而成，临床上常用于治疗偏头痛、类风湿性关节炎等疾病^[5]。近年来的研究发现，小白菊内酯具有强大的抗癌活性，包括胆管癌、胰腺癌、胃癌、肝癌和结肠癌等^[6-7]。研究表明，小白菊内酯对肿瘤细胞具有细胞毒性，而在类似浓度下几乎不影响健康细胞。此外，它是少数几个选择性靶向癌症干细胞的小分子之一，这些干细胞目前不仅很难治疗，同时也是肿瘤复发的原因^[8]。因此小白菊内酯是非常有前途的抗癌药物，目前正在进行癌症临床试验。近些年来其对肺癌的治疗作用也受到了广泛的关注，但具体的作用机制仍未完全阐明，本研究拟运用网络药理学及分子对接技术探讨小白菊内酯治疗肺癌的可能作用机制^[9]，为进一步的临床研究提供思路。

1 材料与方法

1.1 小白菊内酯靶点的筛选

从 SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、SuperPred (<http://prediction.charite.de/>) 和 HERB (<http://herb.ac.cn/>) 数据库筛选小白菊内酯潜在作用靶点。

1.2 获取肺癌相关靶点

以“lung cancer”为关键词，检索 Genecards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)、TTD (<http://www.db.idrblab.net/ttd/>)、PharmGkb (<https://www.pharmgkb.org/>) 和 DrugBank (<https://www.drugbank.ca/>) 疾病数据库，将 6 个数据库获取相关疾病基因整理，绘制韦恩 (Venn) 图。将得到的肺癌基因与小白菊内酯的靶基因录入，利用 Venny 2.1 软件，取两者取交集，得到小白菊内酯 - 肺癌靶点，并绘制 Venn 图。

1.3 构建“药物 - 靶基因 - 疾病”网络

将 1.2 获取的潜在靶点导入 Cytoscape 3.9.1 软件构建“药物 - 靶基因 - 疾病”网络，并描述各节点之间的联系。

1.4 靶点蛋白相互作用网络 (PPI) 的构建和核心基因的获取

使用 STRING 数据库 (<https://www.string-db.org/>) 和 Cytoscape 3.9.1 软件构建 PPI 网络。将 1.2 项下获取的潜在靶点输入到 STRING 数据库中限定物种为人类，置信度为中置信度 0.4，获得 PPI 网络。使用 Cytoscape 3.9.1 软件中的 CytoNCA 插件构建核心 PPI 网络，具体方法参照文献报道^[10]。

1.5 关键靶点的基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

以 $P < 0.05$ 为筛选条件，利用 Bioconductor 平台 (<http://bioconductor.org/biocLite.R>) 对靶基因进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析，获得可视化圈图和柱状图。

1.6 分子对接

使用 Autodock Vina 选择核心靶点与小白菊内酯进行分子对接分析。结合能 (亲和力) 越小，目

标蛋白和活性成分之间相互作用越稳定。

2 结果

2.1 小白菊内酯靶点筛选

去除重复序列后,共筛选出小白菊内酯 88 个潜在作用靶点。

2.2 小白菊内酯治疗肺癌的交集靶点

利用 Genecards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 和 DisGeNET 疾病数据库分别筛选出肺癌相关的疾病靶点 8 688、170、283、164、131、151,与小白菊内酯对应的靶点基因取交集,获得 68 个共同基因靶点,为小白菊内酯治疗肺癌的关键靶点。利用 Venny 2.1 软件绘制 Venn 图,见图 1。

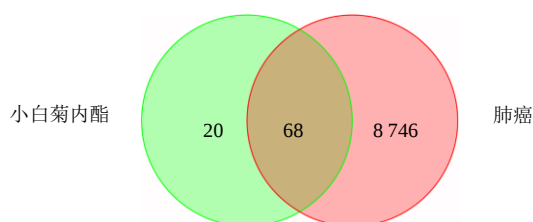


图 1 小白菊内酯 - 肺癌交集靶点 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of parthenolide and lung cancer intersection target

2.3 “药物 - 靶基因 - 疾病”网络

通过 Cytoscape 软件分析 68 个潜在靶基因,构建活性成分靶基因相互作用网络改成构建药物 - 靶基因 - 疾病相互作用网络。结果包括 71 个节点和 160 条边,见图 2。

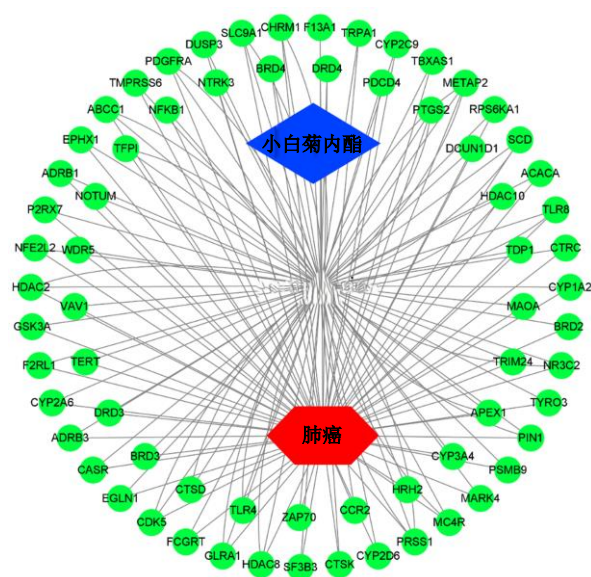


图 2 小白菊内酯 - 肺癌靶标调控网络

Fig. 2 Targets regulation network of parthenolide and lung cancer

2.4 关键靶点 PPI 网络

排除 4 个游离的无相互作用蛋白, PPI 网络共涉及 64 个节点,165 个边缘以及平均节点度为 8.25 (图 3A)。根据 degree 值绘制了前 10 个目标蛋白的条形图 (图 3B)。其中,组蛋白去乙酰化酶 2 (HDAC2)、细胞色素 P450 (CYP) 2D6、CYP3A4、前列腺素内过氧化物酶 2 (PTGS2)、Toll 样受体 4 (TLR4)、溴结构域包含蛋白 (BRD) 2、CYP2A6、单胺氧化酶 A (MAOA)、无嘌呤/无嘧啶核酸内切酶-1 (APEX1) 和 BRD4 degree 值分别为 18、14、14、14、14、12、12、12、10、10,它们是核心靶点,这表明小白菊内酯可能在通过它们治疗肺癌方面发挥重要作用。

2.5 GO 富集分析

GO 富集分析得到相关条目共 624 条,生物学过程 (BP) 主要表现在对外源性刺激的反应、花生

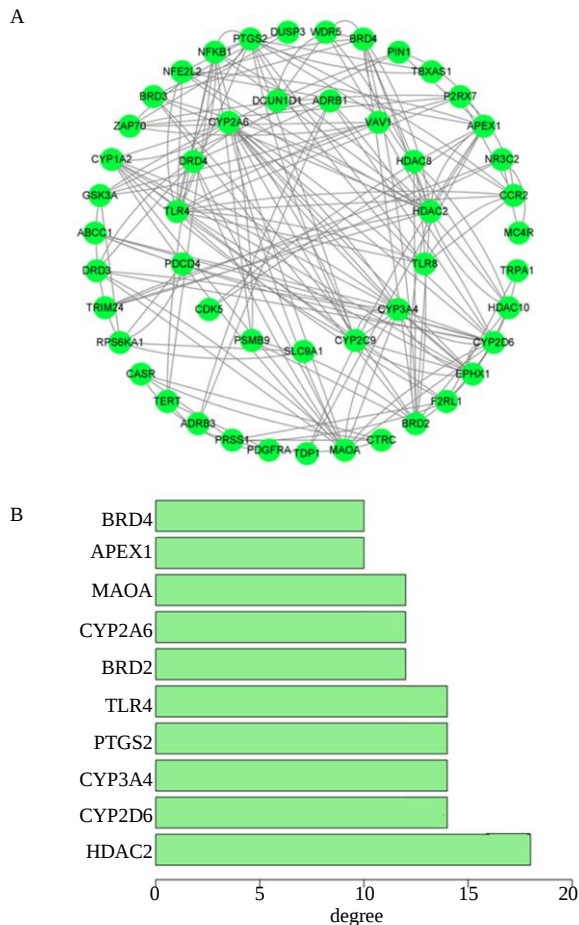


图 3 小白菊内酯治疗肺癌相关靶点的 PPI 图(A)以及 PPI 网络中度值排名前 10 靶点 (B)

Fig. 3 PPI network diagram of parthenolide in treatment of lung cancer (A) and the bar graph of the top 10 intersecting targets with degree values in the PPI network (B)

四烯酸代谢过程等。细胞组分 (CC) 主要表现在质膜外侧。分子功能 (MF) 主要表现在氧化还原酶活

性加入分子氧的掺入或还原, 作用于成对供体, p53 结合和 G 蛋白偶联受体活性等, 见图 4。

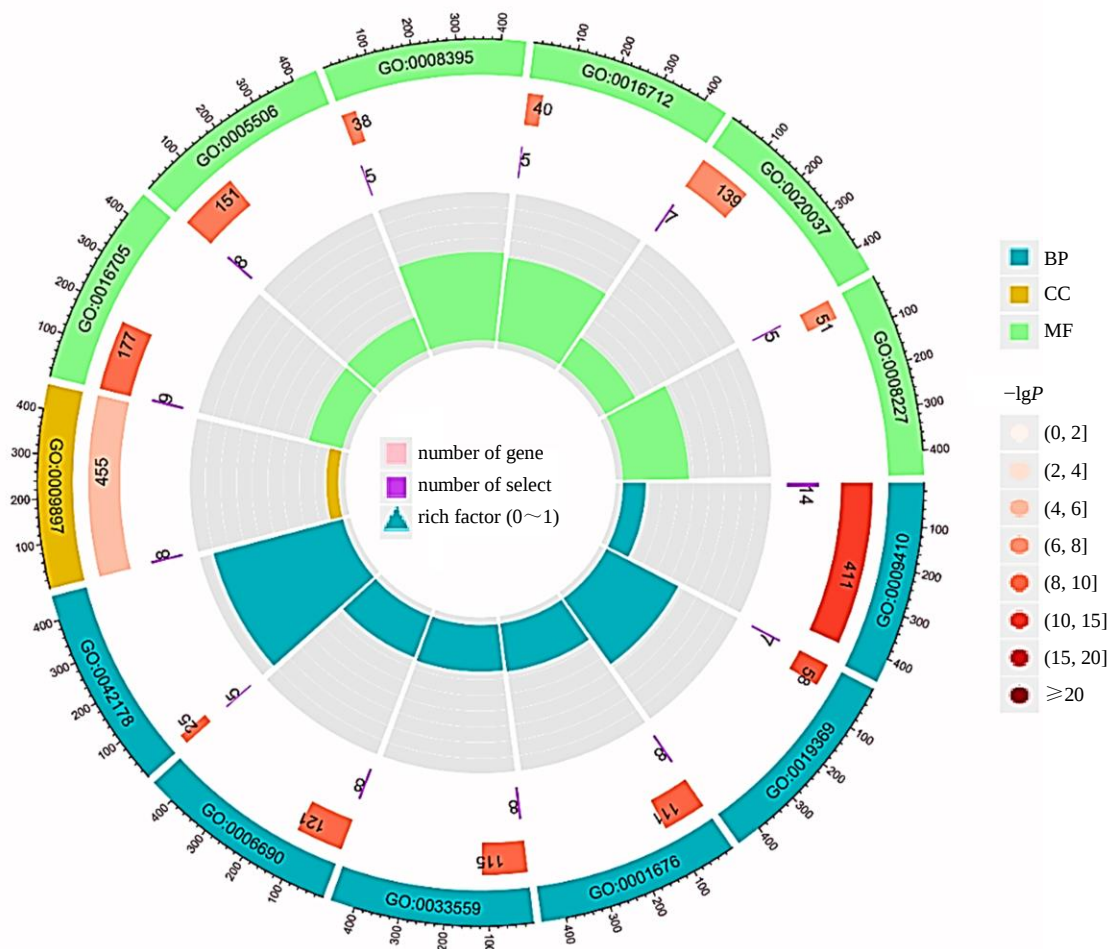


图 4 GO 富集分析

Fig. 4 GO enrichment analysis

2.6 KEGG 通路富集分析

KEGG 分析显示, 68 个潜在关键靶点基因通过 11 条通路, 包括化学致癌作用 - DNA 加合物、药物代谢 - CYP、CYP 对异种物质的代谢等, 见图 5。图中颜色越红的气泡表示此通路 P 值越小, 表示富集越显著。对 CYP 在肺癌中的信号通路进行分析, 见图 6。

2.7 药物成分 - 核心靶点分子对接

将小白菊内酯和 10 个核心靶点分别进行分子对接, 对接结合能见图 7, 对接结构见图 8。结果表明, 小白菊内酯与靶点之间具有良好对接活性, 氢键和 $\pi-\pi$ 堆叠是相互作用的主要形式。其中, 小白菊内酯与 CYP2A6、CYP2D6 和 CYP3A4 结合能最低, 进一步证实小白菊内酯可以通过 10 个核心基因治疗肺癌。

3 讨论

肺癌已成为癌症死亡的主要原因。诊断出肺癌时, 约 70% 的患者已经是恶性肿瘤晚期, 使得治疗将变得很困难。化疗、放疗和靶向治疗是晚期肺癌的常规治疗, 但是耐药及其 5 年生存率为 16.1%, 治疗效果不理想^[11]。近年来, 随着中医药抗肿瘤的发展和进步, 中医药以其治疗效果明显, 不良反应少等优势受到了广泛的关注。中药可以影响肺癌细胞的周期、抑制肺癌细胞的凋亡、抑制肺癌细胞的自噬以及促进肺癌新生血管的生成^[12-13]。因此, 许多中药已经运用于临床上治疗肺癌, 且疗效良好。

天然植物提取物可提供多种候选药物用于癌症治疗。小白菊内酯由菊科植物产生的次级代谢产物, 通过抑制能量代谢和蛋白质合成来抑制细胞增殖, 干扰细胞的正常结构, 促进细胞凋亡, 从而可

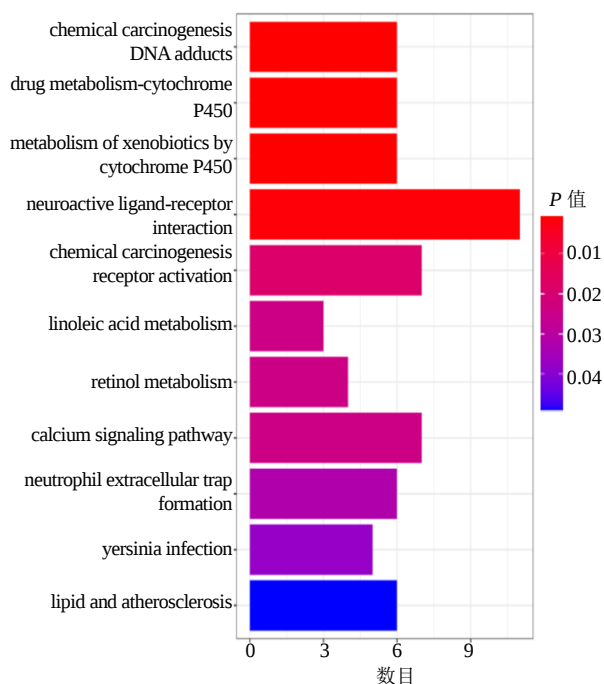


图 5 KEGG 富集分析柱状图

Fig. 5 Bar diagram of KEGG enrichment analysis

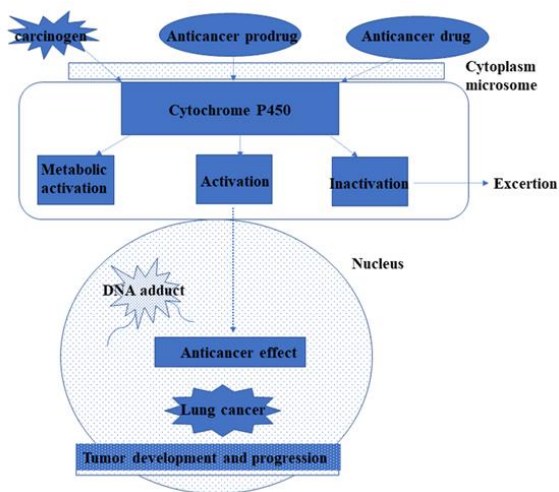


图 6 细胞色素 P450 (CYP) 在肺癌中的信号通路

Fig. 6 Signal pathway of cytochrome P450 (CYP) in lung cancer

起到抗肿瘤细胞生长的作用^[14-15]。尽管关于小白菊内酯抗肿瘤的药理作用已有许多报道,但是小白菊内酯治疗肺癌的研究比较少,作用机制不明确。因此,本研究通过网络药理学和分子对接技术探索小白菊内酯治疗肺癌靶点和信号通路。

在 PPI 拓扑网络中,得到 10 个核心基因。表明小白菊内酯可能通过这 10 个核心基因对肺癌有治疗作用。HDAC2 对胚胎发育至关重要,影响与免疫

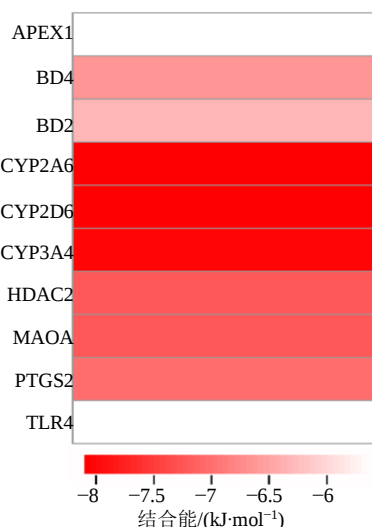


图 7 分子对接结合能

Fig. 7 Molecular docking binding energy

应答相关的细胞因子信号,并且通常在实体瘤中过度表达。Jung 等^[16]报道,HDAC2 的异常调节及其对细胞凋亡和细胞周期成分中基因转录的表观遗传调控在肺癌的发生发展中起着重要作用。人体呼吸道上皮与化学致癌物和毒素直接接触吸入空气。因此,CYP 依赖的单加氧酶的代谢激活可以调节呼吸毒性和致癌作用。CYP2D6、CYP3A4 和 CYP2A6 这 3 个核心基因在许多肺致癌物的代谢激活中起着重要作用,因此它们的表达和分布可能决定肺对代谢激活致癌物和随后的癌症发展的敏感性^[17]。PTGS2 是一种将花生四烯酸转化为前列腺素的诱导酶。Lin 等^[18]发现 PTGS2 介导了 B 淋巴细胞 2 (BCL2) 的表达,在肺癌细胞中形成耐药表型过程中 PTGS2 发挥正反馈调节作用。TLRs 是一个模式识别受体家族。TLR 也在许多肿瘤细胞系或肿瘤组织中被检测到,并对癌症免疫监测产生了重大影响。小鼠 Lewis 肺癌细胞 TLR4 信号通路促进 TGF-1 和 IL-10 的表达及肿瘤细胞迁移^[19]。BET 蛋白 BRD2、BRD3 和 BRD4 在转录调节中发挥重要作用,并可通过 BET 蛋白的蛋白水解靶向嵌合体 (PROTAC) 降解。BRD2 和 BRD4 是谷胱甘肽过氧化物酶 8 (GPX8) 的潜在转录调节因子。溴代多巴胺末端外抑制剂 JQ1 下调 GPX8 表达并抑制肺癌细胞迁移^[20]。APEX1 是一种重要的氧化还原调节剂,可将氧化的半胱氨酸还原为特定的转录激活剂。APEX1 在癌症细胞中高度表达,并被用作肺癌和其他癌症的生物标记物^[21]。MAOA 是线粒体结合酶,

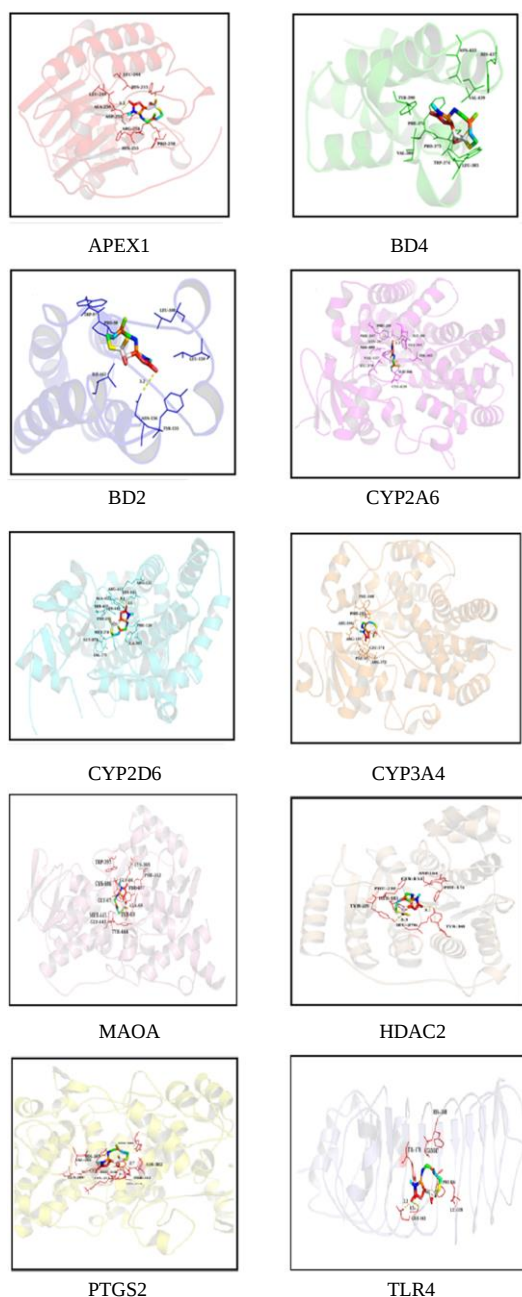


图 8 小白菊内酯与核心靶点对接图

Fig. 8 Docking diagram of feverolactone and core targets

可以催化单胺类神经递质的降解。Huang 等^[22]报道了 MAOA 可作为紫杉醇耐药肺癌治疗的潜在治疗靶点。

在 KEGG 网络分析中,核心靶基因主要参与药物代谢 - CYP、细胞色素 CYP 对异种物质的代谢等通路。这些活化反应主要由 CYP 酶催化。异源生物代谢 CYP 酶主要在人肺的支气管和细支气管上皮、Clara 细胞、II 型肺细胞和肺泡巨噬细胞中表达^[23]。尽管肺含有几种能够进行异种代谢的酶途径,但普

遍认为 CYP 超家族是催化大多数毒物的氧化代谢和代谢活化的主要系统^[24]。在本研究中,通过网络药理学和分子对接技术,探索小白菊内酯治疗肺癌靶点和信号通路。结果表明,小白菊内酯通过 HDAC2、CYP2D6、CYP3A4、CYP2A6、PTGS2、TLR4、BRD2、BRD4、MAOA 和 APEX1 治疗肺癌。核心靶基因主要参与药物代谢 - CYP、CYP 对异种物质的代谢等途径。

综上所述,小白菊内酯通过调控多个基因靶点和多条信号通路,抑制肺癌细胞的增殖,发挥抗肿瘤的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Parkin D M, Bray F I, Devesa S S. Cancer burden in the year 2000. The global picture [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(8): 4-66.
- [2] Islami F, Ward E M, Sung H, *et al.* Annual report to the nation on the status of cancer, Part 1: National cancer statistics [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2021, 113(12): 1648-1669.
- [3] Kanzaki M. Current status of robot-assisted thoracoscopic surgery for lung cancer [J]. *Surg Today*, 2019, 49(10): 795-802.
- [4] Lalla R V, Brennan M T, Gordon S M, *et al.* Oral mucositis due to high-dose chemotherapy and/or head and neck radiation therapy [J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2019, 2019(53): lgz011.
- [5] Ghantous A, Sinjab A, Herceg Z, *et al.* Parthenolide: From plant shoots to cancer roots [J]. *Drug Discov Today*, 2018, 18(17-18): 894-905.
- [6] Mathema V B, Koh Y S, Thakuri B C, *et al.* Parthenolide, a sesquiterpene lactone, expresses multiple anti-cancer and anti-inflammatory activities [J]. *Inflammation*, 2012, 35(2): 560-565.
- [7] 慈小燕, 谷元, 李薇, 等. 小白菊内酯衍生物 ACT001 对 P450 酶的诱导作用研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(6): 1424-1429.
- [8] Freund R R A, Gobrecht P, Fischer D, *et al.* Advances in chemistry and bioactivity of parthenolide [J]. *Nat Prod Rep*, 2020, 37(4): 541-565.
- [9] 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.
- [10] 王松, 陈娟娟, 赵院霞, 等. 基于网络药理学和靶向验证探讨木犀草素治疗结肠癌的作用机制 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(4): 788-794.
- [11] Li T M, Yu Y H, Tsai F J, *et al.* Characteristics of Chinese herbal medicine usage and its effect on survival of lung

- cancer patients in Taiwan [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 213: 92-100.
- [12] Xu W R, Yang G W, Xu Y M, *et al*. The possibility of traditional Chinese medicine as maintenance therapy for advanced nonsmall cell lung cancer [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014: 278917.
- [13] Zhang L, Zhang F Y, Li G F. Traditional Chinese medicine and lung cancer-From theory to practice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137: 111381.
- [14] Morel K L, Ormsby R J, Solly E L, *et al*. Chronic low-dose ethanol induces an aggressive metastatic phenotype in TRAMP mice, which is counteracted by parthenolide [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2018, 35(7): 649-661.
- [15] Kreuger M R O, Grootjans S, Biavatti M W, *et al*. Sesquiterpene lactones as drugs with multiple targets in cancer treatment: Focus on parthenolide [J]. *Anticancer Drug*, 2012, 23(9): 883-896.
- [16] Jung K H, Noh J H, Kim J K, *et al*. HDAC2 overexpression confers oncogenic potential to human lung cancer cells by deregulating expression of apoptosis and cell cycle proteins [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(6): 2167-2177.
- [17] Mace K, Bowman E D, Vautravers P, *et al*. Characterisation of xenobiotic-metabolising enzyme expression in human bronchial mucosa and peripheral lung tissues [J]. *Eur J Cancer*, 1998, 34(6): 914-920.
- [18] Lin X M, Luo W, Wang H, *et al*. The role of prostaglandin-endoperoxide synthase-2 in chemoresistance of non-small cell lung cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 836-849.
- [19] Li C, Li H X, Jiang K, *et al*. TLR4 signaling pathway in mouse Lewis lung cancer cells promotes the expression of TGF- β 1 and IL-10 and tumor cells migration [J]. *Biomed Mater Eng*, 2014, 24(1): 869-875.
- [20] Xu Y L, Yuan L W, Jiang X M, *et al*. Glutathione peroxidase 8 expression on cancer cells and cancer-associated fibroblasts facilitates lung cancer metastasis [J]. *Med Commun*, 2020, 3(3): e152-e158.
- [21] Ullah A, Leong S Z, Wang J J, *et al*. Cephalomannine inhibits hypoxia-induced cellular function via the suppression of APEX1/HIF-1 α interaction in lung cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(5): 490.
- [22] Huang B Y, Zhou Z Y, Liu J, *et al*. The role of monoamine oxidase A in HPV-16 E7-induced epithelial-mesenchymal transition and HIF-1 α protein accumulation in non-small cell lung cancer cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(14): 2692-2703.
- [23] Hukkanen J, Pelkonen O, Hakkola J, *et al*. Expression and regulation of Xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 (CYP) enzymes in human lung [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2002, 32(5): 391-411.
- [24] Oyama T, Sugio K, Isse T, *et al*. Expression of cytochrome P450 in non-small cell lung cancer [J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 5787-5793.

[责任编辑 高源]