

基于网络药理学与分子对接技术探讨齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的作用机制

张婉婉¹, 张子建², 张旭¹, 张洁茹¹, 王伟然¹, 王春英^{1,3*}

1. 河北医科大学 药学院 药物分析教研室, 河北 石家庄 050017

2. 河北省中医院 口腔科, 河北 石家庄 050011

3. 新疆科技学院 医学院, 新疆 库尔勒 841000

摘要: 目的 基于网络药理学与分子对接方法探究齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的活性成分及潜在靶点, 并探讨其可能的作用机制。方法 通过TCMSP数据库、ETCM数据库并结合文献报道筛选齿痛消炎灵颗粒潜在的活性成分及靶点, 利用Cytoscape 3.9.1构建“中药-活性成分-靶点”的网络图; 在GeneCards、TTD、OMIM、DisGeNET、DrugBank数据库获取牙周炎疾病相关靶点, 利用Cytoscape 3.9.1构建“化合物-靶点-疾病”相互作用网络; 采用STRING数据平台构建蛋白相互作用(PPI)网络并使用Cytoscape 3.9.1软件对其进行拓扑学分析; 进一步利用Metascape网站对筛选得到的靶点进行基因本体(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 选取degree值排名前5位的关键靶点和有效成分作为受体蛋白和配体小分子, 使用AutoDockTools 1.5.6对配体和受体进行分子对接, 并使用Pymol将分子对接结果可视化。

结果 共筛选得到齿痛消炎灵颗粒的264个潜在活性成分, 得到齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的作用靶点157个; 拓扑学分析发现关键活性成分以槲皮素、山柰酚、β-谷甾醇、柚皮素、木犀草素等为主; PPI网络中关键靶点为肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1β(IL-1β)、蛋白激酶B1(Akt1)、肿瘤蛋白p53(TP53)、血管内皮生长因子A(VEGFA)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(CASP3)、丝裂原活化蛋白激酶3(MAPK3)、表皮生长因子受体(EGFR)、低氧诱导因子-1(HIF-1A)、前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)等。GO富集分析筛选出2137个条目, 涉及生物过程1884条, 细胞组成93条, 分子功能160条; KEGG富集到基因通路206条; 分子对接结果发现核心成分与核心靶点能够较好的结合。**结论** 首次预测了齿痛消炎灵颗粒多成分、多靶点、多通路治疗牙周炎的作用机制, 为齿痛消炎灵颗粒的药效物质基础研究提供了理论依据。

关键词: 齿痛消炎灵颗粒; 牙周炎; 网络药理学; 槲皮素; 山柰酚; β-谷甾醇; 柚皮素

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)09-2163-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.09.007

Mechanism of Chitong Xiaoyanling Granules in treatment of periodontitis based on network pharmacology and molecular docking technology

ZHANG Wan-wan¹, ZHANG Zi-jian², ZHANG Xu¹, ZHANG Jie-ru¹, WANG Wei-ran¹, WANG Chun-ying^{1,3}

1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

2. Department of Stomatology, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China

3. Medical College, Xinjiang University of Science & Technology, Kuerle 841000, China

Abstract: Objective To explore the active ingredients and potential targets of Chitong Xiaoyanling Granules in treatment of periodontitis based on network pharmacology and molecular docking technology, and to explore its possible mechanism of action.

Methods Potential active ingredients and targets in Chitong Xiaoyanling Granules were screened by TCMSP database, ETCM database and literature reports. The “traditional Chinese medicine - active components - targets” network was constructed by the software of Cytoscape 3.9.1. GeneCards, TTD, OMIM, DisGeNET, and DrugBank databases were used to obtain periodontitis targets. The “compound - target - disease” interaction network was constructed by the software of Cytoscape 3.9.1. The PPI network was constructed by STRING data platform and the topological analysis was performed by Cytoscape 3.9.1. Metascape website was used to enrich and analyze the gene oncology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways of the selected targets.

收稿日期: 2023-07-12

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(H2020206404); 河北省中医药管理局2020年度中医药类科研计划课题(2020162)

作者简介: 张婉婉, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: 1915194917@qq.com

*通信作者: 王春英, 女, 博士, 教授, 研究方向为从事中药质量控制和体内过程研究。E-mail: wangcy730301@163.com

Top five key targets and active components were selected as receptor proteins and ligand small molecules, AutoDockTools1.5.6 was used to dock ligands and receptors, and Pymol was used to visualize the molecular docking results. **Result** A total of 264 potential active ingredients of Chitong Xiaoyanling Granules were screened, and 157 targets of Chitong Xiaoyanling Granules were obtained for treating periodontitis. Topological analysis showed that the main active components were quercetin, kaempferol, β -sitosterol, naringenin, luteolin and so on. TNF, IL-6, IL1 β , Akt1, TP53, VEGFA, CASP3, MAPK3, EGFR, HIF-1A, PTGS2 were the key targets in PPI network. 2 137 Items were screened by GO enrichment analysis, including 1 884 biological processes, 93 cellular components, and 160 molecular functions. KEGG was enriched to 206 gene pathways. Molecular docking showed that the core constituents were well bound to the core targets. **Conclusion** This study for the first time predicted the "multi-component, multi-target, multi-pathway" mechanism of Chitong Xiaoyanling Granules in treatment of periodontitis, which provided a theoretical basis for the material basic research of Chitong Xiaoyanling Granules efficacy.

Key words: Chitong Xiaoyanling Granules; periodontitis; network pharmacology; quercetin; kaempferol; β -sitosterol; naringenin;

牙周炎是一种慢性多因素炎症性疾病，与牙菌斑的堆积有关，其特征是牙齿支持器官的进行性破坏，包括对牙周韧带和牙槽骨的破坏^[1]，其临床表现主要为牙龈炎症、牙槽骨吸收、牙周袋形成及牙齿松动^[2]。作为全世界第 6 大最流行的疾病，严重的牙周炎影响着大约 10% 的人口，牙周炎还被证实与心血管疾病、高血压、糖尿病、癌症和炎症性疾病在内的全身性疾病等多种系统性疾病的风险增加有关^[3]。因此，其预防与治疗工作非常重要。

齿痛消炎灵颗粒由防风、牡丹皮、青皮、荆芥、青黛、地黄、白芷、甘草、细辛、石膏组成，具有疏风清热，凉血止痛的功效。用于脾胃积热、风热上攻所致头痛身热、口干口臭、便秘燥结、牙龈肿痛；急性齿根尖周炎、智齿冠周炎、急性牙龈（周）炎、急性牙髓炎见上述证候者^[4]。临幊上多与其他药物联合治疗牙周炎，且疗效确切，安全性好^[5-7]。

随着生物信息学的快速发展，新兴的网络药理学以大数据库为基础，已成为从分子水平到途径水平详细描述复杂药物系统作用机制的有用工具^[8]。网络药理学契合了中医整体哲学的核心思想，作为一种最先进的技术，该方法将研究范式从目前的一靶一药模式更新为新的“网络靶向多组分”模式。它通过提供详细的化合物 - 靶点和靶点 - 通路网络，有助于评价中药的合理性和配伍。本研究拟从网络药理学的角度出发，预测齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的药效成分和潜在靶点，并通过基因本体（GO）功能分析以及京都基因和基因组百科全书（KEGG）通路分析得到与齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎相关的信号通路和代谢途径，再通过分子对接技术验证活性成分与核心靶点的结合能力。为深入研究齿痛消炎灵颗粒的作用机制及药效物质基础提供了一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 齿痛消炎灵颗粒有效成分与靶点的收集

利用中药系统药理学数据库^[9]（TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>）平台检索齿痛消炎灵颗粒中防风、牡丹皮、青皮、荆芥、甘草、青黛、白芷、细辛、地黄、石膏 10 味中药的成分，由于地黄在 TCMSP 中检索不到，故利用 ETCM 数据库^[10]（<https://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/Index/>）进行补充，石膏为矿物药在数据库中检索不到，本研究暂不考虑。根据口服利用度（OB） $\geq 30\%$ 且类药性（DL） ≥ 0.18 的药动学（ADME）属性值筛选活性成分及其作用的蛋白靶点，并根据已发表的文献报道补充加入 OB 值和 DL 值相对较低，但在文献报道中提到的有明确的药理活性的 5-O-甲基维斯阿米醇苷^[11]、补骨脂素^[12]、7-去甲基软木花椒素^[11]、花椒毒酚^[13]、丹皮酚^[14]、橙皮苷^[15]、柚皮苷^[16]、薄荷酮^[17]、胡薄荷酮^[18]、环辛醇^[17]、色胺酮^[19]、甲基丁香酚^[20]及其靶点。筛选后统一在 Uniprot 蛋白数据库^[21]（<https://www.uniprot.org>）将化合物作用的靶点进行规范。

1.2 牙周炎相关靶点的获取

以“periodontitis”为关键词，在 GeneCards 数据库（<http://www.genecards.org/>）、OMIM 数据库（<https://www.omim.org/>）、TherapeuticTargetDatabase 数据库（TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>）、DrugBank 数据库（<https://www.drugbank.ca/>）、DisGeNET 数据库（<https://www.disgenet.org>）中进行检索及筛选靶点基因，得到与牙周炎相关的靶点，将搜集到的靶点合并并删除重复值。运用 Venny 2.1.0（<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>）将齿痛消炎灵颗粒活性成分靶点与牙周炎疾病靶点取交集，得到齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的潜在靶点。

1.3 “中药 - 活性成分 - 靶点” 网络及“化合物 - 靶点 - 疾病” 网络的构建

将齿痛消炎灵颗粒的中药、活性成分、靶点及中药、化学成分与疾病共有靶点分别导入 Cytoscape 3.9.1 软件，进行“中药 - 成分 - 靶点”“化合物 - 靶点 - 疾病”网络图的构建，利用 Network Analyzer 计算网络拓扑参数，包括 degree 值、介度中心性 (BC)、接近中心性 (CC)。

1.4 蛋白相互作用 (PPI) 网络的构建

将共有靶点上传至 STRING 数据库 (<https://string-db.org>)，设定 Organism 为 “Homo sapiens”，设置靶点关联的置信度为 0.40，以此构建靶点之间的 PPI 网络，并将 STRING 中得到的结果以 TSV 格式下载并保存，导入 Cytoscape 3.9.1 软件，利用其中的“Network Analyzer”功能进行网络拓扑分析。

1.5 GO 分析与 KEGG 通路富集分析

将药物、疾病共同靶点导入 Metascape 平台，分别进行 GO 生物功能分析和 KEGG 通路富集分析，设置 $P<0.01$ ，将获得的数据结果应用微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn>) 进行可视化，并将排行前 20 位的条目绘制成 GO 生物功能分析柱状图和 KEGG 通路富集分析气泡图。

1.6 成分 - 靶点 - 通路网络的构建

应用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“药物成分 - 靶点 - 信号通路”网络，然后应用网络分析仪 Network Analyzer 功能获得各成分、靶点的网络拓扑参数，

获得齿痛消炎灵颗粒发挥治疗牙周炎作用的重要活性成分及核心靶点。

1.7 分子对接评估

选取 PPI 网络中 degree 值排名前 5 位的关键靶点和“中药 - 活性成分 - 靶点”中 degree 值前 5 位的核心成分作为受体蛋白和配体小分子。在 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 中获取受体蛋白的晶体结构并下载其 pdb 格式文件，从 TCMSP 数据库下下载配体小分子的 MOL2 结构式，使用 AutoDock Tools 1.5.6 对配体和受体进行分子对接，并使用 Pymol 将分子对接结果可视化。

2 结果

2.1 齿痛消炎灵颗粒有效成分与靶点

共筛选到防风化学成分 22 个、牡丹皮化学成分 7 个、青皮化学成分 7 个、荆芥化学成分 12 个、白芷化学成分 20 个、青黛化学成分 9 个、地黄化学成分 9 个、甘草化学成分 88 个、细辛化学成分 9 个，去重后共得到化学成分 264 个，见表 1 (由于甘草成分较多，展示 OB、DL 值较高的成分)。将中药、活性成分、靶点关系导入至 Cytoscape 3.9.1 后得网络图，如图 1 所示，共包含 667 个节点，2759 条边，每个中药活性成分的平均靶点数目为 10.45 个。利用网络分析仪 Network Analyzer 计算网络拓扑参数，化合物的平均 degree 值为 14.6，作用靶点较多的化合物有槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、柚皮素、豆甾醇、木犀草素等。

表 1 齿痛消炎灵颗粒活性成分

Table 1 Active components of Chitong Xiaoyanling Granules

MOL ID	ID	化合物名称	OB/%	DL	来源
MOL000011	FF1	(2R,3R)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-5-methoxy-2-methylol-2,3-dihydropyrano[5,6-h][1,4]benzodioxin-9-one	68.83	0.66	防风
MOL011730	FF2	11-hydroxy-sec-o-beta-d-glucosylhamaudol_qt	50.24	0.27	防风
MOL011732	FF3	anomalin	59.65	0.66	防风
MOL011737	FF4	divaricatacid	87.00	0.32	防风
MOL011740	FF5	divaricatol	31.65	0.38	防风
MOL011747	FF6	ledebouriellol	32.05	0.51	防风
MOL011749	FF7	phelloptorin	43.39	0.28	防风
MOL011753	FF8	5-O-methylvisamminol	37.99	0.25	防风
MOL000173	FF9	wogonin	30.68	0.23	防风
MOL003588	FF10	prangenidin	36.31	0.22	防风
MOL007514	FF11	methylcosa-11,14-dienoateicos-11,14-dienoateicos-11,14-dienoate	39.67	0.23	防风
MOL013077	FF12	decursin	39.27	0.38	防风
MOL001950	FF13	psoralen	33.06	—	防风
MOL000373	FF14	(2S)-4-methoxy-7-methyl-2-[1-methyl-1-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-methylol-tetrahydropyran-2-yl]oxy-ethyl]-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-5-one	—	0.18	防风
MOL006592	FF15	7-demethylsuberosin	41.19	—	防风
MOL001954	FF16	xanthotoxol	—	—	防风

续表1

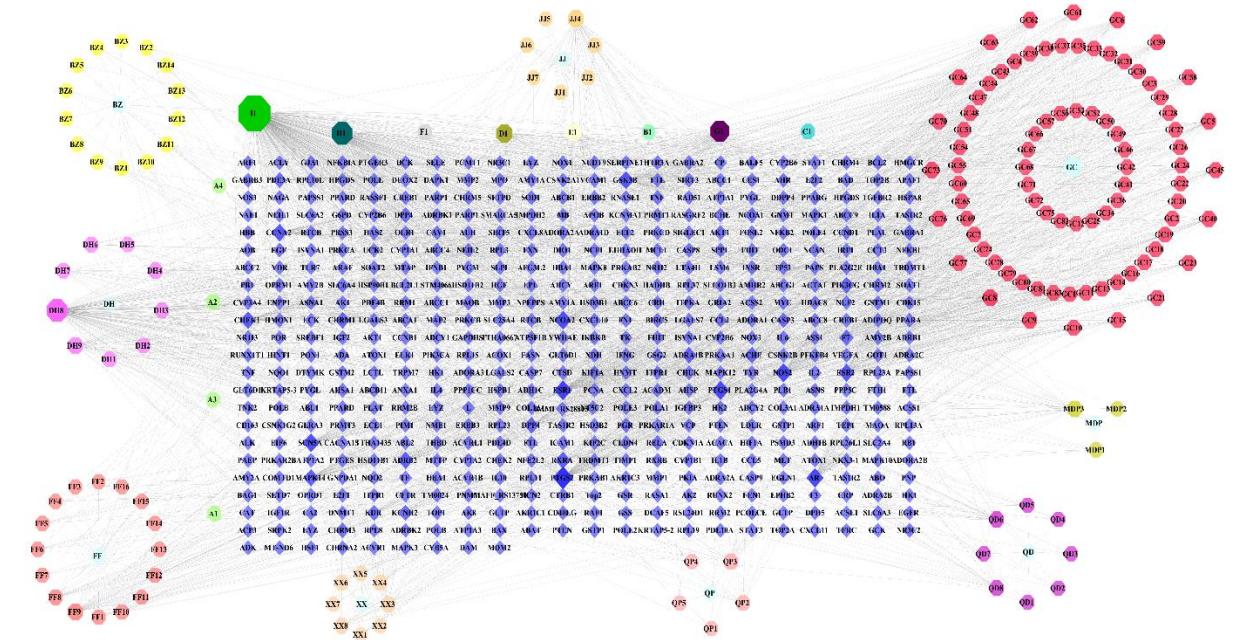
MOL ID	ID	化合物名称	OB/%	DL	来源
MOL000492	MDP1	(+)-catechin	54.83	0.24	牡丹皮
MOL007374	MDP2	5-[[5-(4-methoxyphenyl)-2-furyl]methylene] barbituric acid	43.44	0.30	牡丹皮
MOL000874	MDP3	paeonol	28.79	0.34	牡丹皮
MOL001798	QP1	neohesperidin_qt	71.17	0.27	青皮
MOL001803	QP2	sinensetin	50.56	0.45	青皮
MOL005828	QP3	nobiletin	61.67	0.52	青皮
MOL007930	QP4	hesperidin	13.33	0.67	青皮
MOL005812	QP5	naringin	36.92	0.78	青皮
MOL011849	JJ1	schizonepetoside B	31.02	0.28	荆芥
MOL011856	JJ2	schkuhrin I	54.45	0.52	荆芥
MOL002881	JJ3	diosmetin	31.14	0.27	荆芥
MOL000006	JJ4	luteolin	36.16	0.25	荆芥
MOL005043	JJ5	campest-5-en-3beta-ol	37.58	0.71	荆芥
MOL001972	JJ6	pulegone	51.60	—	荆芥
MOL011872	JJ7	(S)-matsutakealcohol	57.90	—	荆芥
MOL001939	BZ1	alloisoimperatorin	34.80	0.22	白芷
MOL001956	BZ2	cnidilin	32.69	0.28	白芷
MOL002883	BZ3	ethyloleate (NF)	32.40	0.19	白芷
MOL005789	BZ4	neobyakangelicol	36.18	0.31	白芷
MOL005792	BZ5	{5-[2'(R)-hydroxy-3'-methyl-3'-butenyl-oxy]furocoumarin}	42.85	0.26	白芷
MOL005800	BZ6	byakangelicol	41.42	0.36	白芷
MOL005806	BZ7	4-[(2S)-2,3-dihydroxy-3-methylbutoxy]furo[3,2-g]chromen-7-one	39.99	0.29	白芷
MOL005807	BZ8	sen-byakangelicol	58.00	0.61	白芷
MOL000953	BZ9	CLR	37.87	0.68	白芷
MOL001749	BZ10	ZINC03860434	43.59	0.35	白芷
MOL003588	BZ11	prangenidin	36.31	0.22	白芷
MOL003791	BZ12	linolein, 2-mono	37.28	0.30	白芷
MOL007514	BZ13	methylcosa-11,14-dienoate	39.67	0.23	白芷
MOL013430	BZ14	prangenin	43.60	0.29	白芷
MOL011105	QD1	indican	34.90	0.23	青黛
MOL011332	QD2	10H-indolo,[3,2-b],quinoline	54.57	0.22	青黛
MOL011335	QD3	isoindigo	94.30	0.26	青黛
MOL001781	QD4	indigo	38.20	0.26	青黛
MOL001810	QD5	6-(3-oxoindolin-2-ylidene)indolo[2,1-b] quinazolin-12-one	45.28	0.89	青黛
MOL002309	QD6	indirubin	48.59	0.26	青黛
MOL002322	QD7	isovitexin	31.29	0.72	青黛
MOL001808	QD8	tryptanthrin	—	0.29	青黛
MOL012140	XX1	4,9-dimethoxy-1-vinyl-\$b\$-carboline	65.30	0.19	细辛
MOL012141	XX2	caribine	37.06	0.83	细辛
MOL001460	XX3	cryptopin	78.74	0.72	细辛
MOL001558	XX4	sesamin	56.55	0.83	细辛
MOL002501	XX5	[(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl] (1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	62.52	0.31	细辛
MOL002962	XX6	(3S)-7-hydroxy-3-(2,3,4-trimethoxyphenyl) chroman-4-one	48.23	0.33	细辛
MOL009849	XX7	ZINC05223929	31.57	0.83	细辛
MOL000207	XX8	methyleugenol	73.36	—	细辛
—	DH1	stachyose	—	—	地黄
—	DH2	D-mannitol	—	—	地黄
—	DH3	alexandrin	—	—	地黄
—	DH4	fructose	—	—	地黄
—	DH5	aucubin	—	—	地黄
—	DH6	D-glucose	—	—	地黄
—	DH7	raffinose	—	—	地黄
—	DH8	adenine	—	—	地黄
—	DH9	sucrose	—	—	地黄
MOL001484	GC1	inermine	75.18	0.54	甘草
MOL001792	GC2	DFV	32.76	0.18	甘草

续表1

MOL ID	ID	化合物名称	OB/%	DL	来源
MOL002311	GC3	glycyrol	90.78	0.67	甘草
MOL000239	GC4	jaranol	50.83	0.29	甘草
MOL002565	GC5	medicarpin	49.22	0.34	甘草
MOL000354	GC6	isorhamnetin	49.60	0.31	甘草
MOL003656	GC7	lupiwighteone	51.64	0.37	甘草
MOL003896	GC8	7-methoxy-2-methyl isoflavone	42.56	0.2	甘草
MOL000392	GC9	formononetin	69.67	0.21	甘草
MOL000417	GC10	calycosin	47.75	0.24	甘草
MOL004805	GC11	(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	GC12	euchrenone	30.29	0.57	甘草
MOL001941	A1	ammidin	34.55	0.22	防风、白芷
MOL002644	A2	phellopterin	40.19	0.28	防风、白芷
MOL011749	A3	phelloptorin	43.39	0.28	防风、白芷
MOL001942	A4	isoimperatorin	45.46	0.23	防风、白芷
MOL000211	B1	mairin	55.38	0.78	牡丹皮、甘草
MOL005100	C1	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) chroman-4-one	47.74	0.27	青皮、荆芥
MOL004328	D1	naringenin	59.29	0.21	青皮、甘草
MOL000449	E1	stigmasterol	43.83	0.76	荆芥、白芷
MOL000359	F1	sitosterol	36.91	0.75	防风、荆芥、甘草、牡丹皮
MOL000358	G1	beta-sitosterol	36.91	0.75	防风、荆芥、白芷、青黛
MOL000422	H1	kaempferol	41.88	0.24	细辛、甘草、牡丹皮
MOL000098	I1	quercetin	46.43	0.28	牡丹皮、甘草、荆芥

—为数据库中未筛选出，但文献中提到的成分

— refers to the ingredients not screened out in the database but mentioned in the literature



FF-防风 MDP-牡丹皮 QP-青皮 JJ-荆芥 BZ-白芷 QD-青黛 XX-细辛 DH-地黄 GC-甘草

FF - *Saposhnikoviae Radix* MDP - *Moutan Cortex* QP - *Citri Reticulatae Pericarpium Viride* JJ - *Schizonepetiae Herba* BZ - *Angelicae Dahuricae Radix* XX - *Asari Radix et Rhizoma* DH - *Rehmanniae Radix Praeparata* GC - *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

图1 中药 - 活性成分 - 靶点网络图

Fig. 1 Traditional Chinese medicine - active ingredients - target network diagram

2.2 牙周炎相关靶点

以“periodontitis”为关键词，通过 GeneCards、TTD、OMIM、DisGeNET、DrugBank 数据库进行检索，合并去除重复值后收集到牙周炎相关靶点 1 581 个。运用 Venny 2.1.0 将潜在活性成分的作用靶点与牙周炎疾病靶点合并后取交集，见图 2，最终获得 157 个齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的潜在靶点。

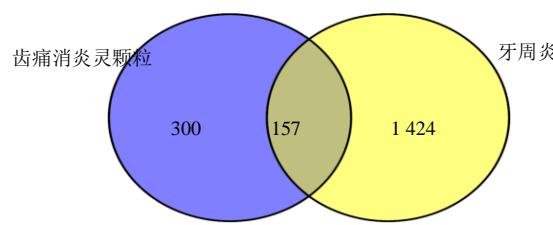


图 2 “药物 - 疾病” 共有靶点韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of the common target of “drugs - disease”

2.3 化合物 - 靶点 - 疾病网络

将齿痛消炎灵颗粒活性成分、157 个共有靶点等数据导入 Cytoscape 3.9.1，构建化合物 - 靶点 - 疾病网络，见图 3，共包含 322 个节点，1 400 条边，不同活性成分对应不同作用靶点，体现齿痛消炎灵颗粒多成分、多靶点的特点。利用网络分析仪 Network Analyzer 计算网络拓扑参数，其中 degree 值较大的化合物为槲皮素、山柰酚、木犀草素、汉黄芩素、川陈皮素、柚皮素、 β -谷甾醇等，预测其为齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的较为重要活性成分，见表 2。

2.4 PPI 网络

将药物、疾病共有靶点录入 STRING 平台构建 PPI 网络，将上述结果以 TSV 格式下载并保存，导入 Cytoscape 3.9.1，构建 PPI 网络模型，结果如图 4 所示。该网络共含有靶蛋白节点 155 个，靶点蛋白

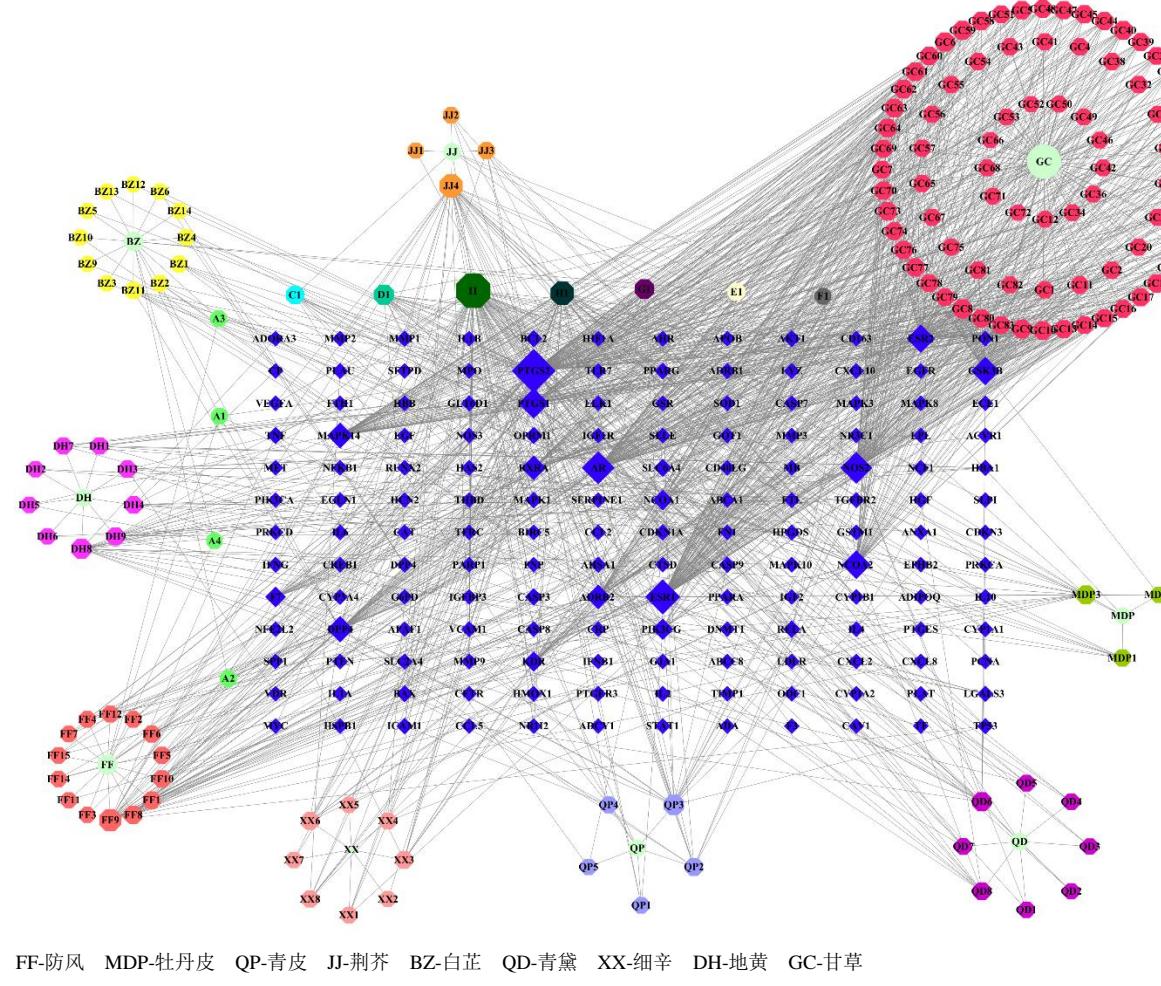


图 3 化合物 - 靶点 - 疾病网络图

Fig. 3 Network diagram of compound - target - disease

表2 齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的活性成分(前10位)

Table 2 Active components of Chitong Xiaoyanling Granules in treatment of periodontitis (top 10)

MOL ID	ID	化合物	degree
MOL000098	I1	quercetin	87
MOL000422	H1	kaempferol	36
MOL000006	JJ4	luteolin	35
MOL000173	FF9	wogonin	30
MOL005828	QP3	nobiletin	22
MOL004328	D1	naringenin	21
—	DH8	adenine	20
MOL000358	G1	beta-sitosterol	18
MOL003896	GC8	7-methoxy-2-methyl isoflavone	17
MOL000734	DH6	D-glucose	16

—为数据库中未筛选出,但文献中提到的成分

— refers to the ingredients not screened out in the database but mentioned in the literature

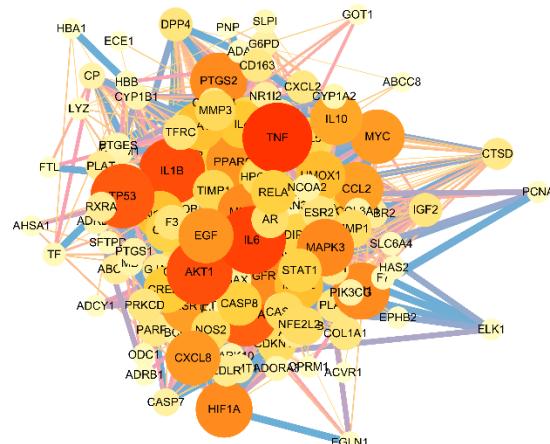


图4 靶点PPI网络

Fig. 4 Network of PPI

间的相互作用关系连线3163条,平均degree值40.8,选取degree值、BC、CC均大于中位数的节点作为核心靶点,包括肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1β(IL-1β)、蛋白激酶B1(Akt1)、肿瘤蛋白p53(TP53)、血管内皮生长因子A(VEGFA)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(CASP3)、丝裂原活化蛋白激酶3(MAPK3)、表皮生长因子受体(EGFR)、低氧诱导因子-1(HIF-1A)、前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)等33个核心靶点,见表3。

2.5 GO功能富集和KEGG通路富集

将药物、疾病共同靶点导入Metascape平台,进行GO生物功能分析和KEGG通路富集分析,以

表3 核心靶点及其拓扑学参数

Table 3 Topological parameters of core targets

靶点	degree	BC	CC
TNF	123	0.052 692 044	0.832 432 432
IL-6	118	0.043 565 532	0.810 526 316
IL-1β	114	0.036 723 840	0.793 814 433
Akt1	113	0.047 282 119	0.789 743 590
TP53	109	0.038 837 062	0.773 869 347
VEGFA	107	0.026 271 333	0.766 169 154
CASP3	94	0.013 382 462	0.716 279 070
MAPK3	93	0.018 964 245	0.709 677 419
MMP9	91	0.012 691 086	0.706 422 018
FN1	91	0.022 450 324	0.709 677 419
PTGS2	91	0.014 305 796	0.706 422 018
HIF1A	91	0.022 291 145	0.706 422 018
EGFR	91	0.027 829 633	0.706 422 018
PPARG	87	0.021 580 009	0.696 832 579
EGF	87	0.016 653 822	0.696 832 579
CXCL8	86	0.013 672 982	0.693 693 694
MYC	85	0.013 453 149	0.684 444 444
ESR1	84	0.022 208 140	0.681 415 929
CCL2	83	0.008 790 300	0.684 444 444
IL-10	80	0.008 173 843	0.675 438 596
HMOX1	73	0.016 871 358	0.649 789 030
MMP2	72	0.006 697 570	0.649 789 030
NOS3	71	0.017 681 375	0.649 789 030
CAT	71	0.016 341 185	0.647 058 824
PTEN	68	0.007 592 180	0.639 004 149
CREB1	66	0.013 085 926	0.562 237 762
CRP	64	0.011 986 481	0.631 147 541
IL-2	63	0.007 028 748	0.623 481 781
MAPK8	62	0.005 593 383	0.620 967 742
PPARA	59	0.007 328 322	0.618 473 896
MPO	55	0.005 614 075	0.603 921 569
KDR	48	0.006 888 433	0.587 786 260
HPGDS	48	0.005 285 229	0.003 816 794

$P<0.01$ 为筛选标准,获得GO生物功能条目2137条,其中生物过程(BP)1884条,主要涉及对无机物的反应(response to inorganic substance)、细胞对化学胁迫的反应(cellular response to chemical stress)、对氧化应激的反应(response to oxidative stress)、对活性氧物种的反应(response to reactive oxygen species)、细胞对氧化应激的反应(cellular response to oxidative stress)等;细胞组分(CC)93条,主要涉及膜筏(membrane raft)、膜微区(membrane microdomain)、质膜筏(plasma membrane raft)、局部黏连(focal adhesion)、细胞-基质结(cell-substrate junction)等;分子功能(MF)

160 条，主要涉及 DNA 结合转录因子结合（DNA-binding transcription factor binding）、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合、核受体结合

(nuclear receptor binding)、染色质结合 (chromatin binding)、核雌激素受体结合 (nuclear estrogen receptor binding) 等，见图 5。

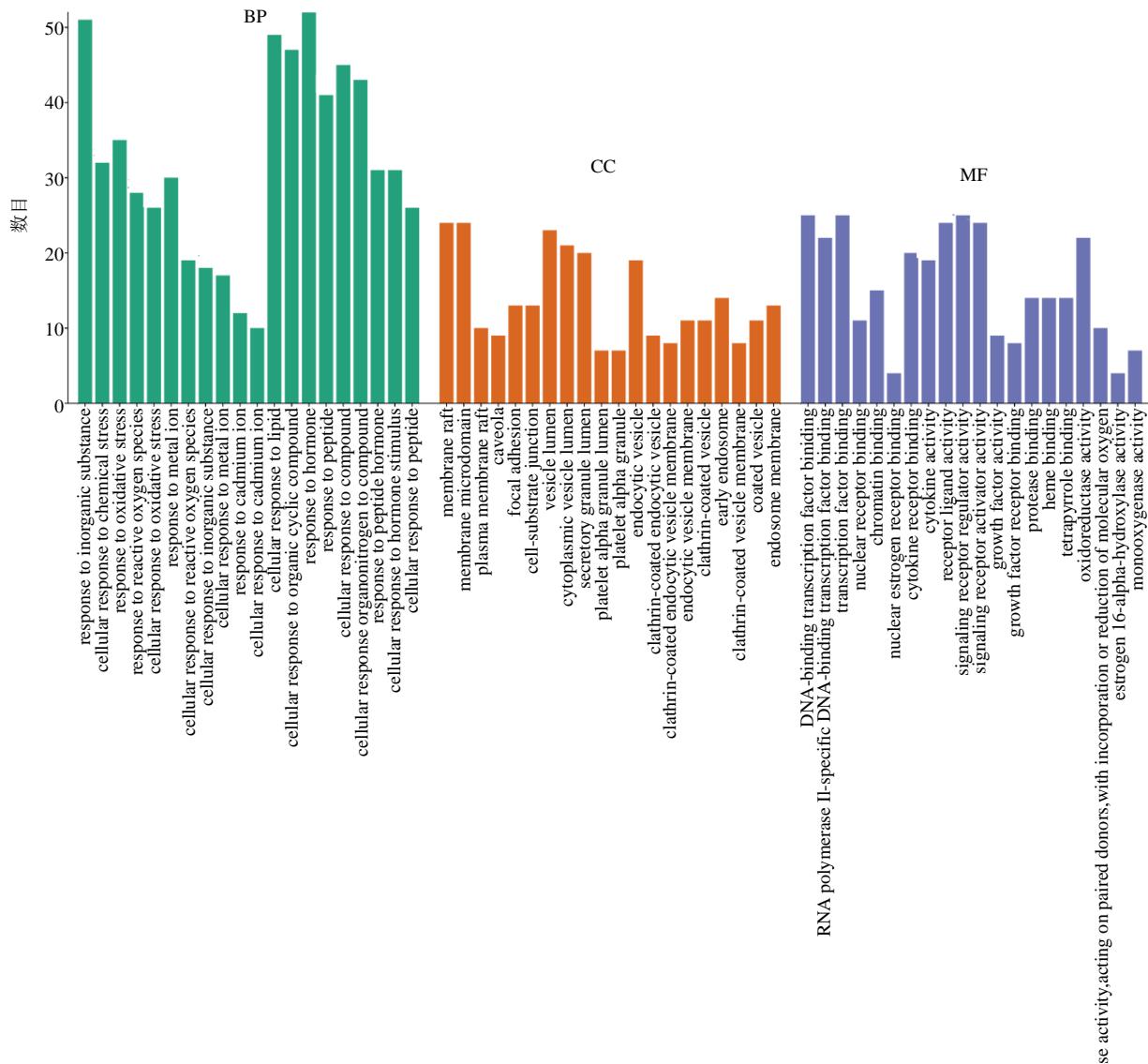


图 5 GO 富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis

KEGG 通路富集分析共获得 206 个信号通路，主要涉及癌症信号通路 (pathways in cancer)、脂质与动脉粥样硬化通路 (lipid and atherosclerosis)、乙型肝炎 (hepatitis B)、IL-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 6。

2.6 “药物成分 - 靶点 - 通路” 网络

应用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“药物成分 - 靶点 - 通路” 网络图，如图 7 所示，该网络共有 255 个节点，1350 条边。网络拓扑学分析结果显示，槲

皮素、木犀草素、汉黄芩素、山柰酚、柚皮素等为主要活性成分，见表 4。主要靶点的网络拓扑学分析结果显示，degree 值最高靶点基因为 PTGS2、雌激素受体 α (ESR1)、雄激素受体 (AR)、一氧化氮合酶 2 (NOS2)、糖原合酶激酶 3B (GSK3B)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK14)、雌激素受体 2 (ESR2)、视黄酸受体 α (RXRA) 等，见表 5。

2.7 分子对接结果

将 PPI 网络中 degree 值排名前 5 位的靶点与齿痛消炎灵颗粒中 degree 值靠前的活性成分进行分子

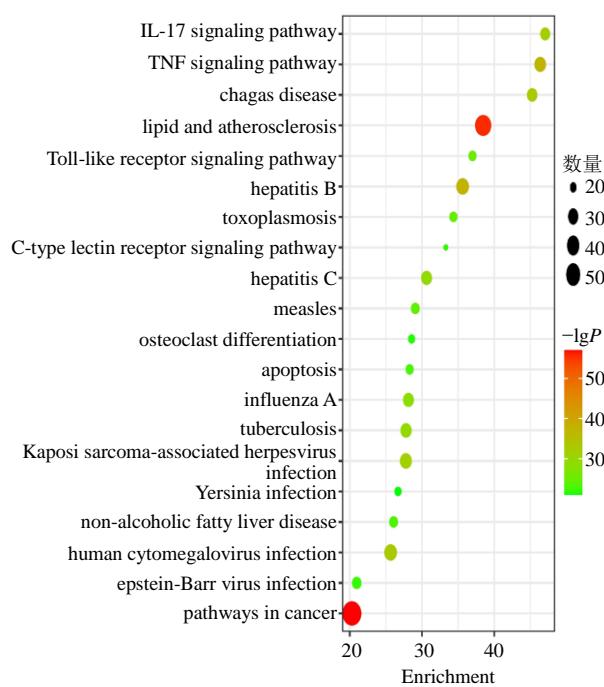


图 6 KEGG 通路富集分析
Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis

对接,见表6。由表可见,分子对接结合能均 $<-5\text{ kJ/mol}$,对接结果具有较好的可靠性。选氢键数 >2 的结合构象的相互作用进行可视化展示,见图8。

3 讨论

本研究共筛选出齿痛消炎灵颗粒的264个潜在成分、预测出457个作用靶点,构建了“中药-活性成分-靶点”的网络,根据degree值筛选出关键成分;构建“化合物-靶点-疾病”网络得出治疗牙周炎的关键成分和靶点多与炎症有关,揭示了齿痛消炎灵颗粒并不是通过单一成分、单一靶点治疗牙周炎,而是通过多成分、多靶点的作用方式;治疗牙周炎的潜在作用靶点富集得2 137个GO条目和206条KEGG通路中,包括与炎症、免疫系统、心血管系统等相关的条目和通路,如对氧化应激的反应、DNA结合转录因子结合、局部粘连、脂质与动脉粥样硬化通路、乙型肝炎、IL-17信号通路、肿瘤坏死因子信号通路等。通过“药物-靶点-通路”网络的构建并通过其内置工具分析齿痛消炎灵颗粒干预牙周炎靶点网络拓扑学参数,得到核心成分

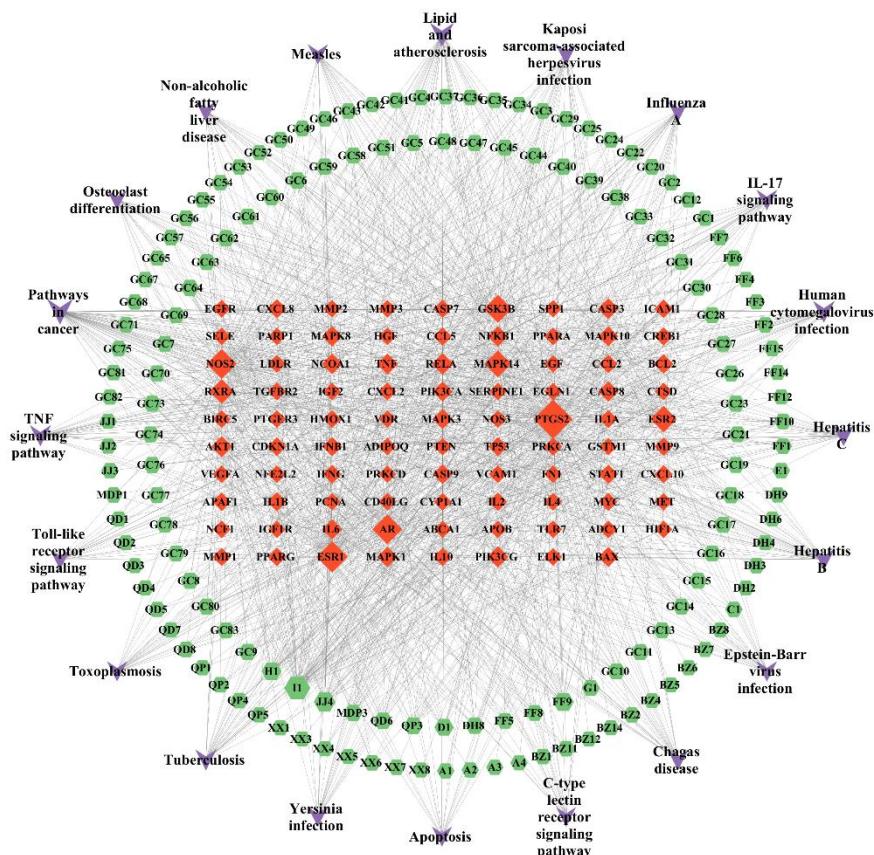


图 7 “药物成分-靶点-通路”网络图
Fig. 7 “Drug composition - target - pathway” network diagram

表 4 齿痛消炎灵颗粒活性成分网络拓扑学分析 (degree 值前 10 位)

Table 4 Network topology analysis of main active components of Chitong Xiaoyanling Granules (top 10)

ID	化合物	degree	BC	CC
I1	quercetin	57	0.100 271	0.515 213
JJ4	luteolin	29	0.028 662	0.462 659
FF9	wogonin	24	0.023 975	0.456 014
H1	kaempferol	20	0.015 451	0.447 972
D1	naringenin	14	0.015 796	0.437 177
QP3	nobiletin	14	0.007 855	0.437 177
QD6	indirubin	11	0.005 999	0.431 239
DH8	tryptanthrin	11	0.004 732	0.346 521
GC6	isorhamnetin	11	0.004 464	0.432 709
MDP3	paeonol	10	0.003 769	0.428 331

表 5 靶点网络拓扑学分析结果 (degree 度值前 10 位)

Table 5 Results of topological analysis of target network (top 10)

靶点	degree	BC	CC
PTGS2	141	0.372 388	0.638 191
ESR1	92	0.064 729	0.477 444
AR	82	0.070 217	0.482 890
NOS2	82	0.062 110	0.475 655
GSK3B	70	0.059 903	0.465 201
MAPK14	63	0.056 554	0.445 614
ESR2	61	0.020 774	0.415 033
RXRA	48	0.041 259	0.433 447
RELA	29	0.012 038	0.412 338
PIK3CG	28	0.015 716	0.396 875

表 6 分子对接结合能

Table 6 Molecular docking binding energy

化合物	结合能/(kJ mol ⁻¹)				
	TNF	IL-6	IL-1β	Akt1	TP53
quercetin	-18.2	-8.5	-7.4	-6.5	-7.2
kaempferol	-16.3	-7.6	-11.1	-6.9	-9.8
β-sitosterol	-17.7	-19.0	-16.8	-18.1	-14.6
naringenin	-17.4	-11.6	-13.3	-9.4	-10.6
luteolin	-17.8	-7.6	-10.8	-13.4	-11.9

及核心作用靶点，再次体现了齿痛消炎灵颗粒含的多种成分，可能通过多靶点干预牙周炎。最后，经过分子对接证实了部分关键成分，可以很好地与部分关键靶点相结合。

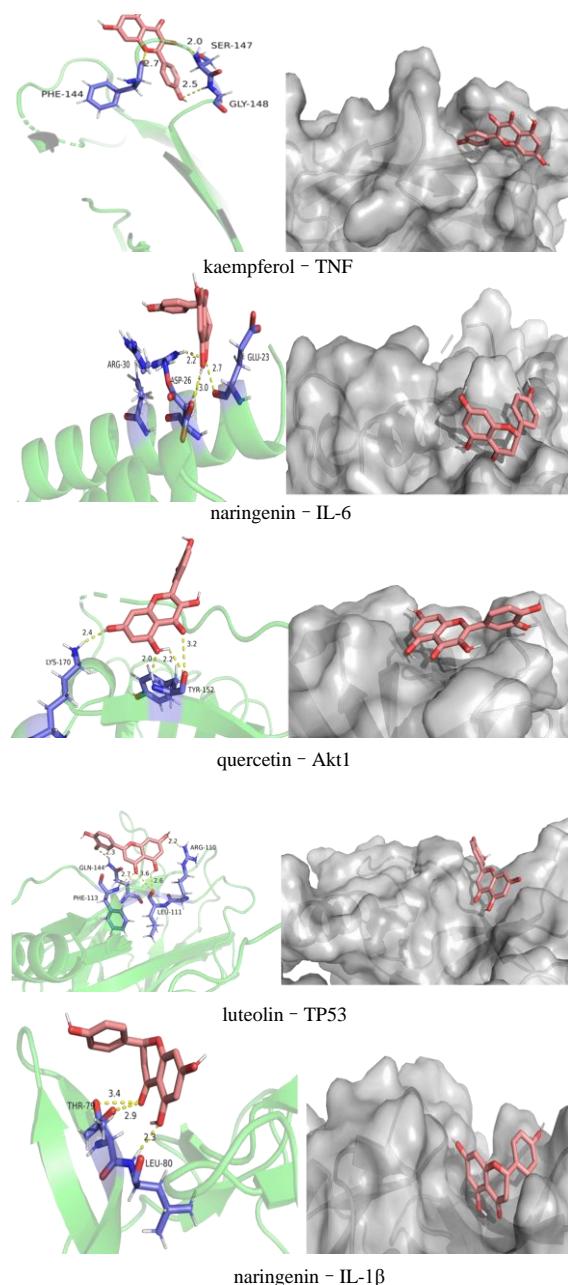


图 8 分子对接结果

Fig. 8 Molecular docking result

经分析得关键成分为槲皮素、山柰酚、β-谷甾醇、柚皮素、木犀草素。其中槲皮素是一种不含碳水化合物的类黄酮，是蔬菜和水果中含量最丰富的类黄酮，具有抗炎、抗菌、抗氧化、镇痛的作用^[22]，Cheng 等^[23]通过评估槲皮素对大鼠实验性牙周破坏的作用，证明槲皮素可以减少脂多糖 (LPS) 诱导的破骨细胞形成以及结扎增强的牙周炎症和骨质流失，得出结论槲皮素可能对牙周破坏具有改善作用。山柰酚是一种存在于多种植物中的天然黄酮类

化合物，具有广泛的治疗特性，如抗氧化、抗癌和抗炎。它的作用机制是诱导细胞凋亡、降低细胞活力、下调磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 和人类 T 细胞白血病/淋巴瘤病毒-I 信号通路，抑制上皮间质转化 (EMT) 相关标志物的蛋白质表达^[24]。 β -谷甾醇具有抗肿瘤、解热、免疫调节、抗炎、止痛、抗溃疡等作用^[25]；Valerio 等^[26]证实 β -谷甾醇通过增强巨噬细胞蛋白质酪氨酸磷酸酶 1 (SHP-1) 的活性进而减弱核因子- κ B (NF- κ B) 和信号传导及转录激活蛋白 1 (STAT1) 通路的活性，发挥抗炎作用；Choi 等^[27]证实 β -谷甾醇通过减少 NO 的生成，抑制巨噬细胞 IL-6 活性，减少 TNF- α 、IL-1 β 等炎性因子的分泌，产生抗炎作用；Liz 等^[28]证实， β -谷甾醇通过促进细胞钙的摄取，抑制髓过氧化物酶、腺苷脱氨酶的活性，抑制 IL1 β 、TNF- α 的水平，发挥抗炎作用。柚皮素具有抗氧化、抗炎、生物利用度高、毒性小等特点，是一种有效的抗伤害性和抗炎性药物，可用于疼痛管理治疗^[29]。木犀草素具有抗炎、抑菌、抗氧化、抗纤维化等广泛药理作用，可以降低多种促炎细胞因子、趋化因子的表达还可提高 IL-10、IL-13 等抗炎因子表达，调节多种炎症信号通路缓解炎症反应^[30]。

本研究通过构建 PPI 网络并对其进行拓扑学分析，以 degree 值、BC、CC 均大于中位数的节点作为核心靶点，推测 TNF、IL-6、IL-1 β 、Akt1、TP53、VEGFA、CASP3、MAPK3、EGFR、HIF-1A、PTGS2 等靶点在齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的生物过程中起关键作用。其中 TNF 通过与 IL-1 β 和 IL-6 协同诱导 VEGF 产生而在血管生成中发挥作用^[31]。TNF- α 主要是来自单核巨噬细胞，是重要的生物活性细胞因子，可加速自由基及兴奋性氨基酸合成，提高血管通透性，促进炎性渗出，从而加重炎症反应^[30]。IL-6 主要由 T 细胞、单核细胞及内皮细胞产生，对免疫调节网络、炎症介质网络有关键作用，可促进患者 TNF、IL-1 等的分泌^[32]，IL-6 细胞因子家族包括 IL-6、IL-11、IL-27、IL-31、制瘤素 M (OSM)、白血病抑制因子 (LIF)、睫状神经营养因子 (CNTF)、心肌营养素 1 (CT-1) 和心肌营养素样细胞因子 1 (CLCF1)，在所有细胞因子家族中，它在引发与健康和疾病相关的反应方面表现出最高程度的功能多效性和冗余性，IL-6 细胞因子家族的成员在健康和疾病中发挥着不可或缺的作用，它们通过调节各种代谢过程来影响免疫平衡和福祉

的维持。在炎症期间，IL-6 家族细胞因子通过直接作用于先天免疫细胞和间接通过激活驻留在炎症部位的间质组织细胞来调节先天免疫^[33]。IL-1 β 是有效的促炎因子^[34]，可以促进 T 细胞的 Th17 分化，与 IL-12 协同作用，诱导辅助性 T 细胞 1 (Th1) 合成 IFNG^[34]，通过与 TNF 和 IL-6 协同诱导 VEGF 产生而在血管生成中发挥作用^[33]。

共同靶点富集分析结果表明齿痛消炎灵颗粒在治疗牙周炎的过程中，基因表达对无机物的反应、细胞对化学胁迫的反应、细胞对氧化应激的反应、膜筏、局部黏连、核受体结合等具有特异性。齿痛消炎灵颗粒治疗牙周炎的大多数潜在靶点与癌症通路、乙型肝炎、IL-17 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路等密切相关。推测齿痛消炎灵颗粒不仅能够治疗牙周炎等一些炎症疾病，还可以干预癌症、肿瘤等疾病。

综上所述，本研究应用网络药理学与分子对接的方法，对齿痛消炎灵颗粒的多成分、多靶点与牙周炎靶点之间的复杂网络关系进行全方位分析，推测齿痛消炎灵颗粒中槲皮素、山柰酚、 β -谷甾醇、柚皮素、木犀草素为主要活性成分，可能通过 TNF、IL-6、IL-1 β 、Akt1、TP53、VEGFA、CASP3、MAPK3、EGFR、HIF-1A、PTGS2 等关键靶点作用于癌症信号通路、脂质与动脉粥样硬化通路、乙型肝炎等主要信号通路来干预牙周炎疾病。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kwon T, Lamster I B, Levin L. Current concepts in the management of periodontitis [J]. *Int Dent J*, 2021, 71(6): 462-476.
- [2] 韩亚琨, 于程程. 黄芪多糖对实验性牙周炎骨吸收的影响 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 423-427.
- [3] Larvin H, Kang J, Aggarwal V R, et al. Multimorbid disease trajectories for people with periodontitis [J]. *J Clin Periodontol*, 2021, 48(12): 1587-1596.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 240, 1121.
- [5] 张帆, 马丽芳. 齿痛消炎灵颗粒联合浓替硝唑含漱液治疗慢性牙周炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(4): 919-923.
- [6] 刘海峡, 刘红, 路学文, 等. 齿痛消炎灵颗粒联合米诺环素治疗慢性牙周炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(12): 2583-2586.
- [7] 刘志勇. 齿痛消炎灵颗粒联合多西环素治疗慢性牙周炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2020, 35(8): 1592-

- 1596.
- [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] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMS: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [10] Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M, et al. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D976- D982.
- [11] 刘淇, 高铭, 吕红君, 等. 防风乙醇提取物对 LPS 所致小鼠炎症模型的抗炎作用及机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(18): 4800-4807.
- [12] 李虎虓. 补骨脂素的雌激素样作用在人牙周膜细胞中的抗炎机制研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2021.
- [13] 庄正陵, 吴志明, 柯广水, 等. 花椒毒酚通过抑制炎症治疗大鼠膝骨关节炎的实验研究 [J]. 军事医学, 2019, 43(10): 767-771.
- [14] 杨山景, 李凌军. 丹皮酚药理作用与应用研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(5): 237-241.
- [15] 李荣, 胡成穆, 姜辉, 等. 橙皮苷的提取及其抗炎活性研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2007(5): 546-549.
- [16] 陈德焱. 基于网络药理学探讨柚皮苷的药理作用机制 [J]. 中国当代医药, 2021, 28(2): 12-17.
- [17] 刘英男, 牛凤菊, 辛义周, 等. 荆芥的化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中国药房, 2020, 31(11): 1397-1402.
- [18] 温桃群. 荆芥挥发油与胡薄荷酮对 LPS 中毒模型小鼠的抗炎效应及 NLRP3 通路机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [19] 梁艳妮, 唐志书, 李璐含, 等. 基于高通量测序技术研究色胺酮对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(4): 380-387.
- [20] 杨华, 徐风, 万丹, 等. 甲基丁香酚镇痛抗炎作用及机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(3): 292-297.
- [21] UniProt Consortium. UniProt: The universal protein knowledgebase in 2021 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D480-D489.
- [22] Saeedi-Boroujeni A, Mahmoudian-Sani M. Anti-inflammatory potential of quercetin in COVID-19 treatment [J]. *J Inflamm*, 2021, 18(1): 3.
- [23] Cheng W C, Huang R Y, Chiang C Y, et al. Ameliorative effect of quercetin on the destruction caused by experimental periodontitis in rats [J]. *J Periodontal Res*, 2010, 45(6): 788-795.
- [24] Imran M, Rauf A, Shah Z A, et al. Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: A comprehensive review [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(2): 263-275.
- [25] 肖志彬, 刘小雷, 成日青, 等. β -谷甾醇对阿司匹林副作用抵抗及抗炎作用影响的实验研究 [J]. 内蒙古医科大学学报, 2015, 37(4): 350-354.
- [26] Valerio M, Awad A B. β -Sitosterol down-regulates some pro-inflammatory signal transduction pathways by increasing the activity of tyrosine phosphatase SHP-1 in J774A.1 murine macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(8): 1012-1017.
- [27] Choi J N, Choi Y H, Lee J M, et al. Anti-inflammatory effects of β -sitosterol- β -D-glucoside from *Trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae) in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophages [J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(24): 2340-2343.
- [28] Liz R, Zanatta L, dos Reis G O, et al. Acute effect of β -sitosterol on calcium uptake mediates anti-inflammatory effect in murine activated neutrophils [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(1): 115-122.
- [29] Xue N, Wu X, Wu L, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effect of naringenin in different nociceptive and inflammatory mice models [J]. *Life Sci*, 2019, 217: 148-154.
- [30] 王琪, 李坤伟, 周长征. 木犀草素的药理作用及制剂研究进展 [J]. 北京联合大学学报, 2022, 36(1): 59-63.
- [31] Nakahara H, Song J, Sugimoto M, et al. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor production in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(6): 1521-1529.
- [32] 肖卓然, 张海萍, 何瑜芳, 等. 丝裂原激活蛋白激酶信号转导通路在类风湿关节炎中的研究进展 [J]. 华西医学, 2022, 37(3): 453-459.
- [33] Jones S A, Jenkins B J. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(12): 773-789.
- [34] Tominaga K, Yoshimoto T, Torigoe K, et al. IL-12 synergizes with IL-18 or IL-1beta for IFN-gamma production from human T cells [J]. *Int Immunol*, 2000, 12(2): 151-160.

【责任编辑 高源】