

基于网络药理学和分子对接探讨美洲大蠊 CII-3 治疗结直肠癌的作用机制

彭 鹏¹, 白 丽^{1,2*}

1. 大理大学 基础医学院, 云南 大理 671000

2. 大理大学云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南 大理 671000

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接探讨美洲大蠊 CII-3 治疗结直肠癌的作用机制。**方法** 通过查阅文献归纳总结筛选美洲大蠊 CII-3 的有效活性成分; 利用 PubChem 数据库、SwissADME、SwissTargetPrediction 平台进行作用靶点的预测; 通过 DisGeNet、GeneCards、TTD、OMIM 数据库检索、归纳、筛选结直肠癌相关靶点; 通过 Venny 2.1.0 对美洲大蠊 CII-3 活性成分作用靶点与结直肠癌相关靶点取交集, 共同靶点即为 CII-3 抗结直肠癌的潜在作用靶点。将潜在靶点导入 STRING 数据库, 构建蛋白互作 (PPI) 网络。通过 PPI 网络和 Cytoscape 3.10.1 软件及 centiscape 2.2 插件, 筛选出美洲大蠊 CII-3 治疗结直肠癌的关键活性成分及核心靶点, 构建“药物-成分-靶点基因”和“疾病-通路-靶点-成分-药物”网络。利用 DAVID 数据库对 CII-3 和结直肠癌潜在的作用靶点进行基因本体论 (GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。利用 AutoDockTools 1.5.7 软件对关键活性成分与核心靶点进行分子对接验证。**结果** 筛选汇总了 24 种美洲大蠊 CII-3 的有效成分, 通过网络药理学验证环(脯氨酸-亮氨酸)、环(亮氨酸-丙氨酸)等为主要活性成分, 通过 Venny 2.1.0 平台取交集, 得到 150 个潜在的作用靶点。甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、蛋白激酶 B1 (Akt1) 和表皮生长因子受体 (EGFR) 等为主要的核心靶点。KEGG 通路富集分析显示主要涉及癌症通路、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)-Akt 信号通路等; 分子对接显示, 美洲大蠊 CII-3 的主要活性成分与预测的核心靶点对接结果均小于 0 kJ/mol, 结果显示较好的结合活性。**结论** 美洲大蠊 CII-3 可能通过多成分、多靶点、多通路协同作用治疗结直肠癌, 为揭示 CII-3 治疗结直肠癌的分子机制提供了理论基础。

关键词: 美洲大蠊 CII-3; 结直肠癌; 网络药理学; 分子对接; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; 蛋白激酶 B1; 表皮生长因子受体

中图分类号: R914 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)02-0319-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.02.008

Mechanism of *Periplaneta americana* CII-3 in treatment of colorectal cancer based on network pharmacology and molecular docking

PENG Peng¹, BAI Li^{1,2}

1. Basic Medical College, Dali University, Dali 671000, China

2. Yunnan Key Laboratory for Biomedical Research and Development of Insects, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective To explore the anti-tumor mechanism of the *Periplaneta americana* peptide CII-3 based on literature summarization, network pharmacology, and molecular docking. **Methods** The effective active components of CII-3 were screened through literature summarization. The PubChem database, SwissADME, and SwissTargetPrediction platforms were utilized for target prediction. Relevant targets for colorectal cancer were retrieved, summarized, and screened via the DisGeNet, GeneCards, TTD, and OMIM databases. The Venny 2.1.0 was used to intersect the active components' targets of CII-3 with colorectal cancer targets, identifying potential targets for CII-3's action against colorectal cancer. These potential targets were imported into the STRING database to construct a protein-protein interaction (PPI) network. Using the PPI network, Cytoscape 3.10.1 software, and centiscape 2.2 plugin, key active components and core targets of CII-3 in treating colorectal cancer were screened, leading to the construction of the “drug-component-target gene” and “disease-pathway-target-component-drug” networks. The DAVID database was employed to perform GO function and KEGG pathway enrichment analyses on the potential targets of CII-3 and colorectal cancer. Molecular

收稿日期: 2024-10-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81360319); 云南省中药饮片产业发展专项资金 (2019-YG-067)

作者简介: 彭 鹏, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤免疫。E-mail: 3070803709@qq.com

*通信作者: 白 丽, 教授, 博士。E-mail: lbai@dali.edu.cn

docking validation of the key active components and core targets was conducted using the AutoDockTools 1.5.7 software. **Results** A total of 24 effective components of CII-3 were summarized, with cyclo-(Pro-Leu), cyclo-(Leu-Ala), and others identified as main active components through network pharmacology validation. The Venny 2.1.0 platform yielded 150 potential targets. Major core targets included glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), protein kinase B1 (Akt1), and epidermal growth factor receptor (EGFR). KEGG pathway enrichment analysis indicated involvement in cancer pathways, the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt signaling pathway, among others. Molecular docking revealed that the main active components of CII-3 had docking results with predicted core targets all below 0 kJ/mol, indicating good binding activity. **Conclusion** CII-3 may treat colorectal cancer through synergistic action involving multiple components, targets, and pathways, laying a theoretical foundation for elucidating the molecular mechanism of CII-3 in treating colorectal cancer.

Key words: *Periplaneta americana* CII-3; colorectal cancer; network pharmacology; molecular docking; GAPDH; Akt1; EGFR

结直肠癌是一种常见的癌症，也是癌症导致死亡的第 3 大常见原因，此外，结直肠癌在癌症相关死亡中排第 2 位^[1]。结直肠癌的治疗取决于癌症的分期情况和反映其进展的程度，非转移性结肠癌的最早期阶段是 0 期，此时期肿瘤局限于肠道和局部淋巴结，没有转移至远处器官，I～III 期的治疗方法包括放疗、化疗，而 IV 期结肠癌即转移性结直肠癌患者需要接受定期的全身治疗，目的是治疗全身的癌细胞^[2]。尽管目前的结直肠癌治疗技术取得了进步，但由于存在转移性和耐药性等相关挑战，结肠癌仍是最致命的癌症类型之一^[3]。目前相关的治疗方法主要包括手术、放疗、化疗和免疫疗法，这些方法对前期肿瘤具有一定的治疗优势，但对于晚期和转移性肿瘤疗效有限，并且具有严重的不良反应，药物抗肿瘤领域逐渐成为研究的关注热点^[4]。

美洲大蠊 *Periplaneta Americana* (L.) 是传统的动物类中药蜚蠊的主要来源，具有悠久的药用历史，蜚蠊的药用最早在中国现存的药学著作《神农本草经》有所认证，其中描述：“主瘀血、痼坚、寒热、破积聚、咽喉痹、内寒无子”^[5]。养殖的美洲大蠊作为蜚蠊的主要来源，因其有健脾消痞、活血通脉、消肿生肌等药用功效，目前已被加工成为康复新液、肝龙胶囊和心脉隆注射液等中药产品，在临床中主要用于活血通脉、益气生津、创面愈合、减轻肝炎症、抑制肝细胞凋亡和抗肝纤维化等作用^[6-8]。美洲大蠊精制物 CII-3 是大理大学云南省昆虫生物医药研发重点实验室研制的多肽类药物，从美洲大蠊超滤、凝胶层析、高效液相色谱法和质谱等程序分离得到，经过鉴定 66%～67% 为小分子肽类。欧红利等^[9]发现 CII-3 可以明显抑制 L1210 荷瘤小鼠肿瘤细胞的生长，调节 T、B 细胞的比例，以及通过上调免疫球蛋白 A (IgA)、IgG、IgM 等抗体含量发挥抗肿瘤作用。通过将 CII-3 和环磷酰胺联合可以增

强其抗肿瘤作用，同时降低环磷酰胺所致的骨髓、免疫器官及对肝脏的损伤，起到增效减毒的作用，同时为 CII-3 在抗肿瘤化疗中的辅助应用提供依据^[10]。CII-3 作为一种潜力药物，全面探索其的活性成分及其抗肿瘤的作用机制显得很有必要。

网络药理学是一门通过构建“药物-疾病-靶点-通路”互作网络从而系统地研究药物对于疾病的潜在作用，为中医治疗疾病提供其物质基础和机制的一门新兴技术^[11]。分子对接最初是为了帮助理解小分子和大分子之间的分子机制而开发的，但近年来，分子对接在药物发现中的用途和应用发生了巨大的变化。基于计算机结构，其在分子水平上预测配体-靶标的相互作用或描述结构-活性关系，广泛用于发现新的药物及鉴别具有治疗意义的新型化合物^[12]。本研究基于网络药理学和分子对接探讨美洲大蠊 CII-3 治疗结直肠癌的作用机制

1 材料与方法

1.1 美洲大蠊精制物 CII-3 靶点的筛选

由于中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 未对美洲大蠊精制物 CII-3 的化学成分有所记录，通过查阅文献整合美洲大蠊精制物 CII-3 的成分并通过 PubChem (<http://gfffg0024fd0633b949fdhkfxfwxbx5cuk6u9c.fffg.dali.cwkeji.cn>) 数据库检索各成分化合物的结构信息。将 PubChem 上检索的化合物信息导入 SwissADME (<https://www.swissadme.ch>) 数据库对美洲大蠊精制物 CII-3 的化学成分进行筛选，筛选原则为肠胃吸收为“high”，并且每种化合物 Lipinski、Ghose、Veber、Egan、Muegge 中至少有 3 个为“yes”。将筛选后成分的 SMILES 号导入到 SwissTargetPrediction (<https://www.swisstargetprediction.ch>) 数据库，选择“Homo sapiens”物种，进行靶点预测，以“Probability>0”收集潜在靶点并去重。

1.2 结直肠癌靶点筛选

通过数据库 DisGeNet(<https://www.disgenet.org/>)、GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、TTD(<https://db.idrblab.net/ttd>)、OMIM (<https://omim.org>) 以“colorectal cancer”为关键词进行预测,以中位数筛选,合并所有数据库的靶点并去除重复项。

1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建与分析及“药物-成分-靶点基因”网络构建

将整理好的成分靶点和疾病靶点导入 Venny 2.1.0(bioinfogpcnb.csic.es/tools/venny),收集交集靶点,并且绘制美洲大蠊精制物 CII-3 靶点和结直肠癌靶点交集靶点 Venny 图。将交集靶点导入 STRING(<https://cn.string-db.org>)数据库,Organism 选择“Homo sapiens”,构建得到 PPI 网络。所需最低交互分数取 0.4,其余参数为默认。将 PPI 网络的 tsv 文件导入 Cytoscape 3.10.1 进行可视化分析。使用 centiscape 2.2 插件,计算出“degree”“closeness”“betweenness”的阈值并对靶点进行筛选,以大于这 3 个参数的阈值作为筛选标准,筛选出核心靶点,并且通过 degree 值获取排名前 10 位的有效成分。将药物、主要成分和交集靶点导入 Cytoscape 3.10.1,构建“药物-成分-靶点基因”网络。

1.4 交集靶点基因本体(GO)功能和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

将获得的交集靶点基因导入 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)数据库,Select Identifier 选择“OFFICIAL_GENE_SYMBOL”,物种选择“Homo sapiens”,对其生物过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)进行 GO 富集分析以及进行 KEGG 通路富集分析。以 $P \leq 0.01$,错误发现率(FDR) ≤ 0.05 作为筛选标准选取 BP、CC、MF 前 10 条结果与 KEGG 信号通路前 20 条结果结合微生信工具(<http://www.bioinformatics.com.cn>)进行可视化。

1.5 “疾病-通路-靶点-成分-药物”网络构建

将疾病、药物成分及靶点、通路名称及靶点、交集靶点导入 Cytoscape 3.10.1,绘制“疾病-通路-靶点-成分-药物”网络。

1.6 主要活性成分与关键靶点分子对接分析验证

对 degree 值排名前 4 位的药物核心化学成分与蛋白互作网络 degree 排名前 10 位的交集靶点基因进行分子对接。在 PubChem 数据库中检索药物化学成分的 3D 结构,保存为 sdf 文件。通过 OpenBabel 2.4.1 软件将 3D 结构的 sdf 文件转化为 mol2 格式文

件。将 mol2 格式的成分文件导入 AutoDockTools 1.5.7 软件进行加全氢离子、平衡电荷、设置扭转键和设为配体等修饰,最后导出为 pdbqt 文件。通过 RCSB PDB(<https://www.rcsb.org>)数据库和 Uniprot(<http://gfffg32504d0a05734fa3skxfwxvbx5cuk6u9c.fffg.dali.cwkeji.cn>)数据库及文献的查阅确定关键靶点的结构信息及 PDB 编号,在 PDB 数据库对关键靶点的 PDB 格式文件进行下载,将 PDB 文件导入 PyMOL 软件去除水分子和配体,再通过 AutoDockTools 1.5.7 软件进行加全氢,最后导出 pdbqt 文件。将配体和受体的 pdbqt 文件导入 AutoDockTools 1.5.7 软件进行分子对接,确定对接盒子的大小以及采取半柔性对接,进行 50 次对接。绘制分子对接的结合能热图,及选取结合能低的结合构象使用 PyMOL 软件进行可视化。

2 结果

2.1 美洲大蠊精制物 CII-3 主要成分治疗结直肠癌的靶点预测

经过文献检索及 PubChem 数据库的搜索查找汇总了 CII-3 中 24 种有效成分(表 1),对这 24 个化学成分进行 SwissTargetPrediction 数据库靶点预测,删除重复项汇总后共得到 429 个潜在靶点。

以“colorectal cancer”为关键词检索疾病的潜在靶点,经中位数筛选,DisGeNet 数据库获得 704 个靶点,GeneCards 数据库获得 1 630 个靶点,TTD 数据库获得 98 个靶点,OMIM 数据库获得 96 个靶点,汇总去除重复项后获得 2 254 个结直肠癌潜在靶点。使用 Venny 2.1 对成分靶点和疾病靶点取交集,获得 CII-3 主要化学成分治疗结直肠癌的 150 个潜在靶点(图 1)。

2.2 “药物-成分-靶点基因”网络构建及 PPI 网络的分析与构建

将美洲大蠊精制物 CII-3 与结直肠癌的 150 个交集靶点、24 种成分和药物名称导入 Cytoscape 3.10.1,构建“药物-成分-靶点基因”网络,见图 2。该网络有 175 个节点,374 条连线,三角形代表药物,矩形代表药物成分,椭圆形代表交集的靶点基因。

将 150 个交集基因导入 STRING 数据库构建 PPI 网络,将构建的 PPI 网络于 Cytoscape 3.10.1 进行可视化。该 PPI 网络共有 150 个节点和 2 067 条相互作用连线,圆形节点面积越大颜色越深代表 degree 值越大,根据 degree 值由大到小往外排列(图 3A)。以 degree、closeness 和 betweenness 为依据,最终筛

表 1 美洲大蠊精制物 CII-3 的有效成分

Table 1 Effective components in refined extract CII-3 of *Periplaneta americana*

化合物	中文名称	分子式	CID	SMILES
adenine	腺嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅	190	C1=NC2=NC=NC(=C2N1)N
cyclo-(leu-ala)	环(亮氨酸-丙氨酸)	C ₉ H ₁₆ N ₂ O ₂	3634567	CC1C(=O)NC(C(=O)N1)CC(C)C
cyclo-(pro-tyr)	环(脯氨酸-酪氨酸)	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₃	119404	C1C[C@H]2C(=O)N[C@H](C(=O)N2C1)CC3=CC=C(C=C3)O
cyclo-(pro-leu)	环(脯氨酸-亮氨酸)	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂	102892	CC(C)CC1C(=O)N2CCCC2C(=O)N1
cyclo-(phe-pro)	环(苯丙氨酸-脯氨酸)	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂	99895	C1CC2C(=O)NC(C(=O)N2C1)CC3=CC=CC=C3
benzoicacid	苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₂	243	C1=CC=C(C=C1)C(=O)O
cytosine	胞嘧啶	C ₄ H ₅ N ₃ O	597	C1=C(NC(=O)N=C1)N
guanine	鸟嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅ O	135398634	C1=NC2=C(N1)C(=O)NC(=N2)N
xanthine	黄嘌呤	C ₅ H ₄ N ₄ O ₂	1188	C1=NC2=C(N1)C(=O)NC(=O)N2
leucine	亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	6106	CC(C)C[C@@H](C(=O)O)N
1, 2-dehydro-N-acetyldopamine	1, 2-脱氢-N-乙酰多巴胺	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	6439639	CC(=O)N/C=C/C1=CC(=C(C=C1)O)O
cyclo(ala-pro)	环(丙氨酸-脯氨酸)	C ₈ H ₁₂ N ₂ O ₂	6428987	CC1C(=O)N2CCCC2C(=O)N1
histidine	组氨酸	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	6274	C1=C(NC=N1)C[C@@H](C(=O)O)N
hypoxanthine	次黄嘌呤	C ₅ H ₄ N ₄ O	135398638	C1=NC2=C(N1)C(=O)NC=N2
lysine	赖氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	5962	C(CCN)C[C@@H](C(=O)O)N
methyl4-hydroxybenzoate	对羟基苯甲酸甲酯	C ₈ H ₈ O ₃	7456	COC(=O)C1=CC=C(C=C1)O
N-acetyltyramine	N-乙酰酪胺	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	121051	CC(=O)NCCC1=CC=C(C=C1)O
phenylalanine	苯丙氨酸	C ₉ H ₉ NO ₂	6140	C1=CC=C(C=C1)C[C@@H](C(=O)O)N
Protocatechuic acid	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	72	C1=CC(=C(C=C1C(=O)O)O)O
tryptophan	色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	6305	C1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)C[C@@H](C(=O)O)N
tyramine	酪胺	C ₈ H ₁₁ NO	5610	C1=CC(=CC=C1CCN)O
tyrosine	酪氨酸	C ₉ H ₉ NO ₃	6057	C1=CC(=CC=C1C[C@@H](C(=O)O)N)O
uricacid	尿酸	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	1175	C12=C(NC(=O)N1)NC(=O)NC2=O
thymine	胸腺嘧啶	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	1135	CC1=CNC(=O)NC1=O

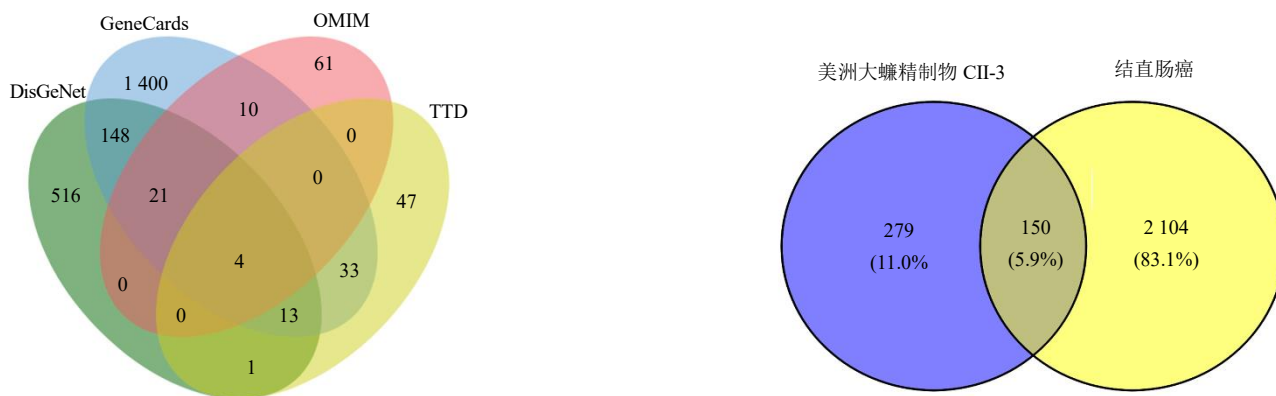


图 1 数据库与结直肠癌相关靶点韦恩图 (A) 和药物与癌症的交集靶点韦恩图 (B)

Fig. 1 Venn diagram of target points related to colorectal cancer across the databases (A), and Venn diagram of the intersection of target points between the drug and cancer (B)

选得到前 10 个关键靶点, 分别为甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、表皮生长因子受体 (EGFR)、信号转导与转录激活因子 3 (STAT3)、白蛋白 (ALB)、蛋白酪氨酸激酶 SRC

(SRC)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、雌激素受体 1 (ESR1) 和白细胞介素-1 β (IL-1 β), 见表 2 和图 3B。此外, 桑基图显示了药物、药物成分和核心靶点之间的相关关系, 见图 3C。

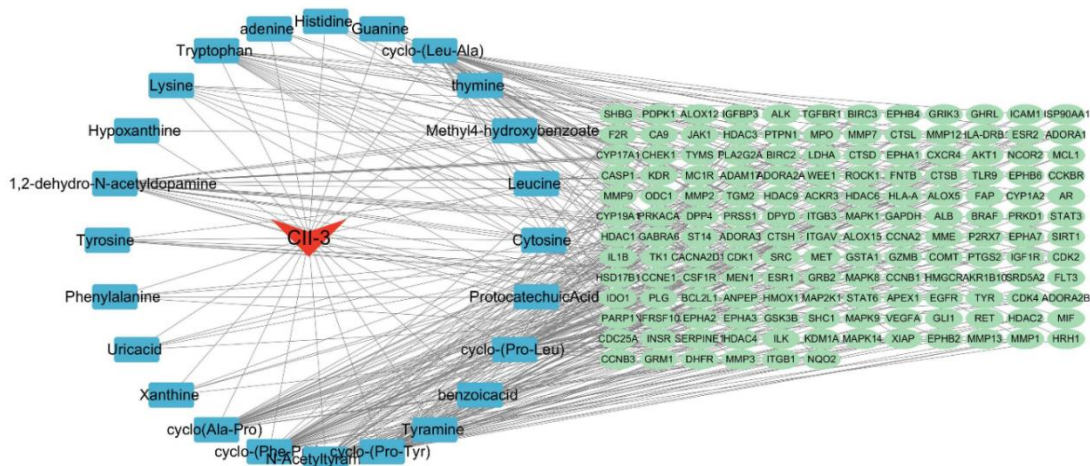


图 2 “药物-成分-靶点基因”网络

Fig. 2 “Drug-component-target gene” network

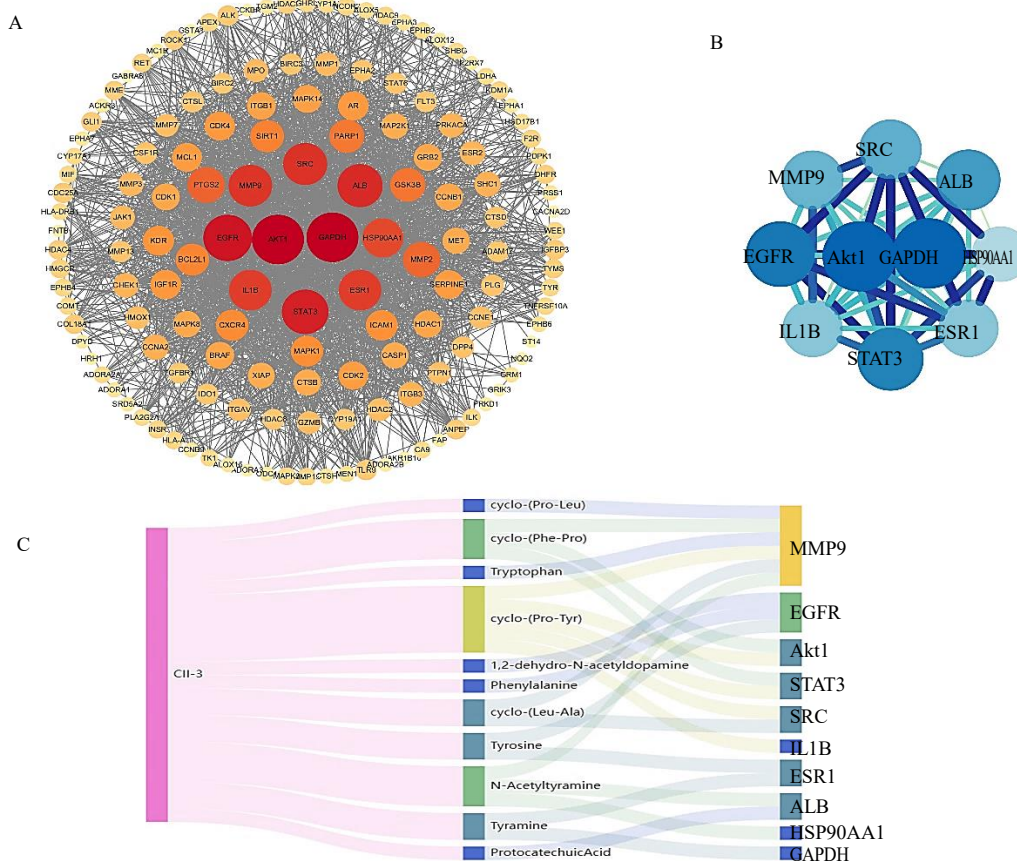


图 3 关键靶点 PPI 网络 (A)、PPI 网络前 10 的靶点 (B) 和 CII-3 及成分和前 10 核心靶点之间关系的桑基图 (C)

Fig. 3 Key target interaction network (A), top ten targets obtained from the PPI network (B), and Sankey diagram revealing the relationship between CII-3, its components, and the top ten core targets (C)

表 2 CII-3 关键靶点度量指标
Table 2 Key target metrics of CII-3

编号	靶点	degree	closeness	betweenness
1	GAPDH	104	0.76	0.07
2	Akt1	104	0.76	0.09
3	EGFR	95	0.73	0.06
4	STAT3	90	0.71	0.04
5	ALB	86	0.70	0.04
6	SRC	83	0.68	0.08
7	MMP9	82	0.68	0.03
8	ESR1	79	0.68	0.04
9	IL1B	79	0.67	0.04
10	HSP90AA1	75	0.66	0.04

2.3 交集靶点的 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

通过 DAVID 数据库将筛选的 150 个交集靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,以 $P \leq 0.01$, $FDR \leq 0.05$ 作为筛选标准,筛选得到 193 个 BP 项目,主要涉及磷酸化 (phosphorylation)、蛋白质磷

酸化 (protein phosphorylation)、细胞增殖的正向调节 (positive regulation of cell proliferation)、凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process) 等。49 个 CC 项目,主要涉及细胞膜 (plasma membrane)、细胞表面 (cell surface)、受体复合物 (receptor complex)、胞浆 (cytosol) 等;62 个 MF 项目,主要涉及蛋白质酪氨酸激酶活性 (protein tyrosine kinase activity)、蛋白激酶活性 (protein kinase activity)、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性 (transmembrane receptor protein tyrosine kinase activity)、酶结合 (enzyme binding) 等。筛选相关性最高的前 10 条可视化,见图 4。

KEGG 通路富集分析筛选得到 143 条项目,主要涉及癌症通路 (pathways in cancer)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)-Akt 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway)、焦点黏附 (focal adhesion) 和癌症中的蛋白聚糖 (proteoglycans in cancer) 等过程,筛选前 20 条通路进行可视化,见图 5。

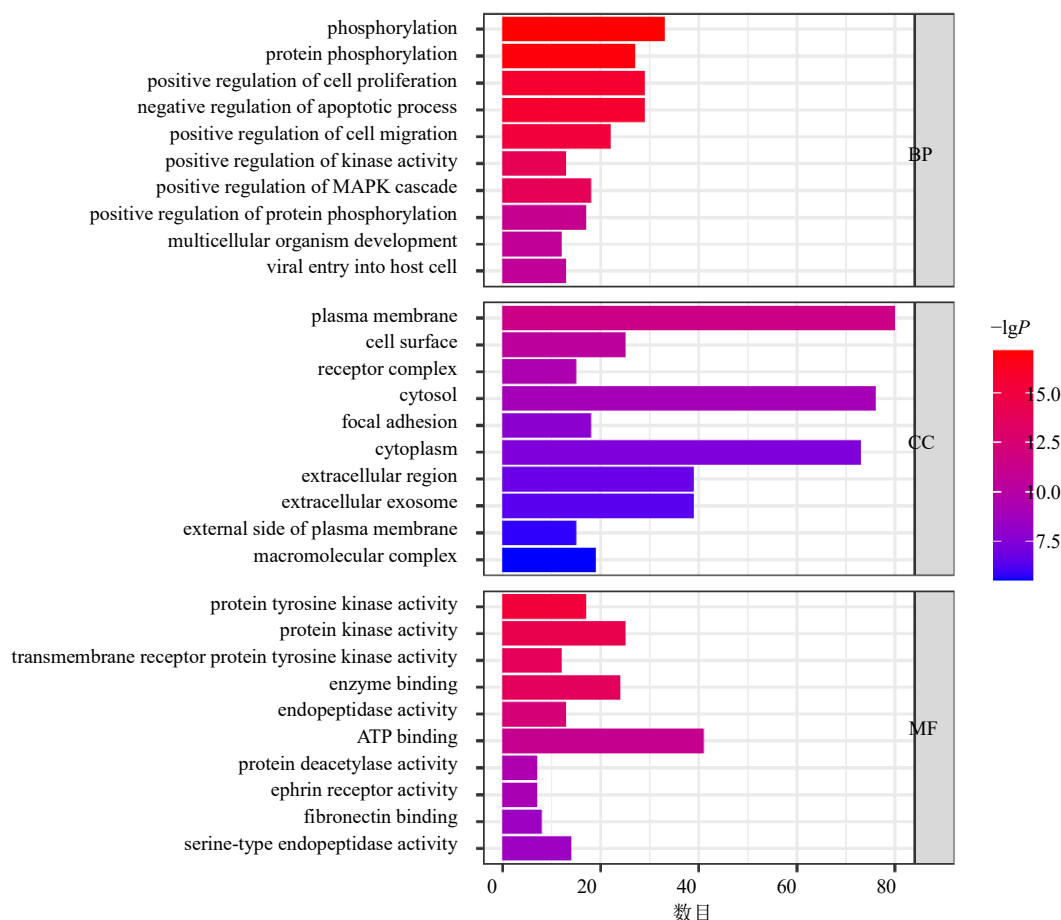


图 4 GO 功能富集分析条形图

Fig. 4 Bar chart for GO functional enrichment analysis

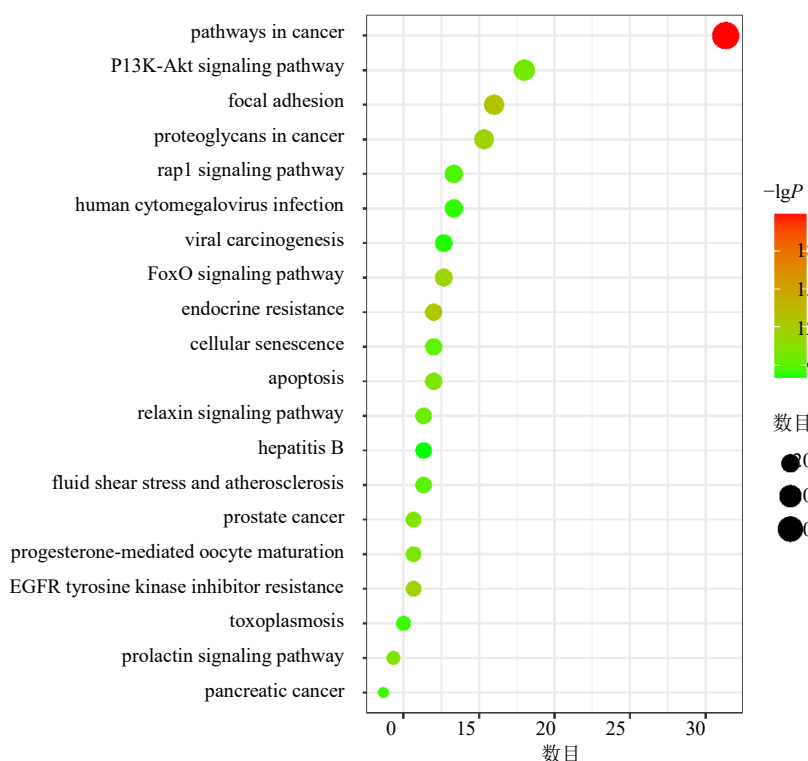


图 5 KEGG 富集通路分析气泡图

Fig. 5 Bubble chart for KEGG enrichment pathway analysis

2.4 “疾病 - 通路 - 靶点 - 成分 - 药物”网络构建

如图 6 所示,“疾病 - 通路 - 靶点 - 成分 - 药物”网络共有 196 个节点和 414 条互相作用连线,

三角形代表药物和疾病,菱形代表美洲大蠊精制物 CII-3 药物成分,圆形代表通路,矩形表示药物成分和通路交集基因。

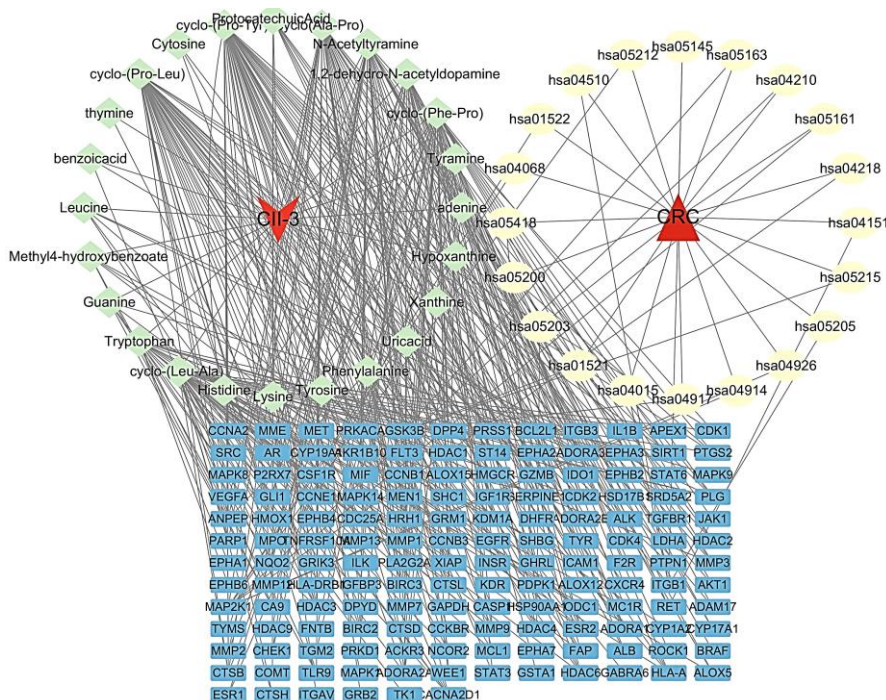


图 6 “疾病 - 通路 - 靶点 - 成分 - 药物”网络

Fig. 6 “Disease-pathway-target-component-drug” network

2.5 主要活性成分与关键靶点的分子对接验证

表 3 为 degree 值排名前 10 位的美洲大蠓 CII-3 主要活性成分，对 degree 值排名前 4 位的活性成分与 PPI 网络度值排名前 10 位的交集靶点基因 GAPDH、Akt1、EGFR、STAT3、ALB、SRC、MMP9、ESR1、IL1B、HSP90AA1 进行分子对接。图 7 展示了药物成分与关键靶点的分子对接热图，用于评估蛋白质 - 配体结合潜力，以结合能作为主要依据，结合能越低表示结合构象越稳定，结合能力越强，对接结合能小于-5.0 kcal/mol（1 kcal=4.2 J）表示结合活性良好，小于-7.0 kcal/mol 表示结合活性高。如图 7 所示，所有靶点与成分的结合能均小于-4.0 kcal/mol，且关键靶点 MMP9 与药物成分的平均结合能最低，均小于-7.0 kcal/mol，表明该药物对此靶标具有较高的亲和力。将关键靶点 MMP9 与主要活性成分的分子对接进行可视化，见图 8。

3 讨论

研究发现 cyclo-(pro-leu)、cyclo-(leu-ala)、cyclo-(pro-tyr)、cyclo-(phe-pro)、cyclo-(ala-pro)、*N*-acetyltyramine、1, 2-dehydro-*N*-acetyldopamine、tryptophan、tyramine、leucine 是 degree 值排名前 10 的成分，即为美洲大蠓 CII-3 与结直肠癌作用的核心成分。Chen 等^[13]发现成分 cyclo-(pro-Leu)对人结直肠癌 HCT-116 细胞有细胞毒性，可抑制细胞增殖。cyclo-(pro-tyr)以剂量相关的方式促进了结直肠腺癌 Caco-2 细胞的死亡，对 Caco-2 细胞的半数抑制浓度为 0.66 mg/mL，此外，cyclo-(pro-tyr)可通过 PI3K-Akt 信号通路对小鼠肝细胞癌有抑制作用^[14-15]。

表 3 CII-3 主要活性成分

Table 3 Main core components of CII-3

编号	成分名称	degree
1	cyclo-(pro-leu)	115
2	cyclo-(leu-ala)	113
3	cyclo-(pro-tyr)	113
4	cyclo-(phe-pro)	111
5	cyclo-(ala-pro)	89
6	<i>N</i> -Acetyltyramine	75
7	1,2-dehydro- <i>N</i> -acetyldopamine	55
8	tryptophan	49
9	tyramine	36
10	leucine	33

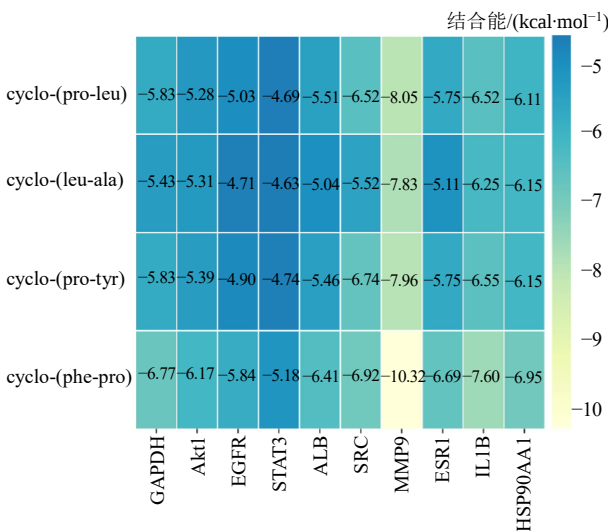


图 7 分子对接热图

Fig. 7 Molecular docking heatmap

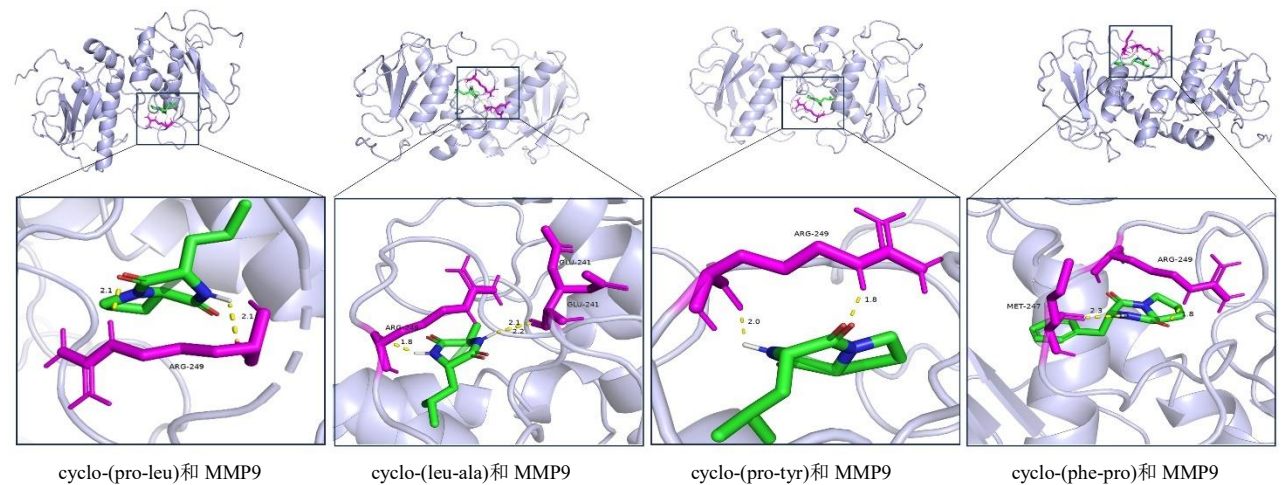


图 8 分子对接的可视化

Fig. 8 Visualization of molecular docking

cyclo-(Phe-Pro)可对结直肠癌 HT-29、MCF-7、HeLa 细胞的生长具有明显的抑制作用,且能诱导 HT-29 细胞凋亡性细胞死亡,表明可能会参与结肠癌细胞的分化诱导,抑制体内肿瘤的生长^[16]。色氨酸免疫调节剂在维持肠道屏障及其功能的完整性方面发挥着关键作用,色氨酸常被用来预防结直肠癌,结直肠癌患者体内的色氨酸水平的降低影响着患者的生活质量^[17]。富含药物活性成分亮氨酸的 α -2-糖蛋白 1 被认为是结直肠癌诊断的候选标志物^[18]。

利用网络药理学,基于 PPI 网络,在筛选的 150 个共同靶标中,最高 degree 值的靶点包括 GAPDH、Akt1、EGFR、STAT3、ALB、SRC、MMP9、ESR1、IL1B 和 HSP90AA1。除了糖酵解以外, GAPDH 还参与多种与癌症相关的生物过程,在多种癌症的高表达及患者预后不良相关^[19]。膜结合的 GAPDH 参与膜融合、内吞作用、及铁转运;细胞质 GAPDH 参与调节 mRNA 的稳定性;核 GAPDH 参与细胞凋亡、转录基因调控等^[20]。Akt1 是 Akt 的一种亚型, Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, PI3K 信号转导通路的下游靶点,可触发细胞存活、细胞生长、细胞恶性转化及肿瘤进展等生物过程, SRC 的突变可影响 Akt 的激活^[21-22]。EGFR、ESR1 已被证明与结直肠癌患者的不良预后相关, C-反应蛋白与 ALB 的比值在监测结直肠癌手术患者的发病率与死亡率方面具有敏感性和特异性^[23-26]。STAT3 在大多数人类癌症中过度激活,促进了血管内皮生长因子(VEGF)、IL-6 和 IL-10 的表达,在介导 IL-10 的抗炎作用中发挥关键作用,此外,癌蛋白 SRC 可以激活 STAT3 信号通路^[27-29]。MMP9 是一种正常和病理过程中与组织重塑相关的酶,晚期结直肠癌患者 MMP9 测量值高于早期^[30]。IL-1B 是一种促炎症细胞因子,参与原发性肿瘤的生长、肿瘤微环境炎症的调节、上皮-间质转化(EMT)的促进、迁移和侵袭,在致癌作用中 IL-1B 直接激活核因子- κ B(NF- κ B), NF- κ B 进一步增强 STAT3 和 PI3K/Akt 信号^[31]。HSP90AA1 的上调也与结直肠癌的发生、侵袭、转移和进展相关,可调节 EMT 通路并下调上皮标志物 E-钙黏蛋白和波形蛋白,从而导致肿瘤的淋巴结转移^[32]。从上述可知,这些基因在多种癌症中参与细胞信号的转导、炎症反应、肿瘤生长和转移过程,并且与恶性肿瘤患者的预后相关。

基于 KEGG 通路分析, PI3K/Akt 通路是最重要的通路之一。PI3K/Akt/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)

信号通路核心组件包括 PI3K、Akt 和 mTOR, PI3K 的激活涉及受体酪氨酸激酶的激活,促进了肌苷二磷酸转化为肌苷三磷酸,进一步激活 Akt 和 mTOR, Akt 调节 mTOR, 而 mTOR 是结直肠癌中促进蛋白质翻译、生长、代谢和血管生成的下游靶标^[33-34]。PI3K/Akt 通路的异常激活可以抑制结直肠癌细胞的凋亡,促进癌症、耐药性的发生发展^[33]。EGFR 在结直肠癌的 PI3K/Akt/mTOR 通路中是一种有价值的治疗靶点, EGFR 可通过激活细胞外信号调节激酶 1 和 2 来影响结直肠癌致瘤细胞的增殖,且 EGFR 单克隆抗体已用于结直肠癌的治疗,对患者有良好的效果^[35]。PI3K/Akt 通路上调结直肠癌转移的间质标志物和 EMT 特异性转录因子,在结直肠癌中促进 EMT 过程起到了关键作用,因此该通路可作为结直肠癌合适的治疗靶点^[36]。在 MFC 荷瘤小鼠中,通过 Western blotting 发现,用美洲大蠊 CII-3 处理的小鼠相对于未经处理的模型组小鼠,美洲大蠊 CII-3 能有效的抑制小鼠脾脏和肿瘤 PI3K、Akt、mTOR 和 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达,通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进抗肿瘤反应,此外,在肺腺癌 A54 细胞中,美洲大蠊提取物可通过抑制 PI3K/Akt 通路上调 p53 表达进而诱导细胞凋亡^[37-38]。

综上所述,以网络药理学^[39]和分子对接为基础,美洲大蠊 CII-3 可能通过 cyclo-(pro-leu)、cyclo-(leu-ala)等活性成分作用于 GAPDH、Akt1、EGFR 等靶点,调控 PI3K/Akt 等通路从而对结直肠癌的治疗产生作用,为后续的相关研究提供参考和依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Siegel R L, Wagle N S, Cercek A, *et al.* Colorectal cancer statistics, 2023 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73(3): 233-254.
- [2] Masci D, Puxeddu M, Silvestri R, *et al.* Metabolic rewiring in cancer: Small molecule inhibitors in colorectal cancer therapy [J]. *Molecules*, 2024, 29(9): 2110.
- [3] Wu Z H, Xiao C, Li F, *et al.* Mitochondrial fusion-fission dynamics and its involvement in colorectal cancer [J]. *Mol Oncol*, 2024, 18(5): 1058-1075.
- [4] Ying Y, Hao W. Immunomodulatory function and anti-tumor mechanism of natural polysaccharides: A review [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1147641.
- [5] 白月苹, 刘海波, 任艳, 等. 蜚蠊的本草考证 [J]. 四川

- 动物, 2020, 39(1): 116-120.
- [6] 廖倩, 庞兰, 石金凤, 等. 基于多肽组学的美洲大蠓肽类组分分析及促创面修复活性多肽筛选 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2085-2094.
- [7] 康永, 徐树彬, 刘青, 等. 顾步汤加减联合康复新液治疗糖尿病足部溃疡疗效及对患者微炎症状态、血管新生的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(11): 2632-2636.
- [8] 周杰, 单婉歆, 欧玲, 等. 肝龙胶囊对 CCl₄ 性肝损伤所致肝纤维化的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(4): 513-517.
- [9] 欧红利, 常旭, 王聪, 等. 美洲大蠓多肽对 L1210 荷瘤小鼠抗肿瘤免疫的初步研究 [J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(5): 353-358.
- [10] 金家瑞, 郭美仙, 张冰清, 等. 美洲大蠓抗肿瘤组分 CII-3 在肿瘤化疗中的增效减毒作用研究 [J]. 动物医学进展, 2018, 39(12): 147-152.
- [11] 廖韵诺, 赵凯丽, 郭宏伟. 中药网络药理学的应用与挑战 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 4204-4213.
- [12] Pinzi, Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4331.
- [13] Chen C, Ye Y H, Wang R J, *et al.* *Streptomyces nigra* sp. nov. is a novel actinobacterium isolated from mangrove soil and exerts a potent antitumor activity *in vitro* [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1587.
- [14] Karanam G, Arumugam M K. Potential anticancer effects of cyclo-(Pro-Tyr) against *N*-diethyl nitrosamine induced hepatocellular carcinoma in mouse through PI3K/Akt signaling [J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37(2): 256-269.
- [15] Vázquez-Rivera D, González O, Guzmán-Rodríguez J, *et al.* Cytotoxicity of cyclodipeptides from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 leads to apoptosis in human cancer cell lines [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 197608.
- [16] Brauns S C, Milne P, Naudé R, *et al.* Selected cyclic dipeptides inhibit cancer cell growth and induce apoptosis in HT-29 colon cancer cells [J]. *Anticancer Res*, 2004, 24(3a): 1713-1719.
- [17] Zhang H L, Zhang A H, Miao J H, *et al.* Targeting regulation of tryptophan metabolism for colorectal cancer therapy: A systematic review [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(6): 3072-3080.
- [18] Fouda M S, Aljarwani R M, Aboul-Enein K, *et al.* Diagnostic performances of leucine-rich α -2-glycoprotein 1 and stem cell factor for diagnosis and follow-up of colorectal cancer [J]. *J Genet Eng Biotechnol*, 2021, 19(1): 17.
- [19] Wang J, Yu X T, Cao X Y, *et al.* GAPDH: A common housekeeping gene with an oncogenic role in pan-cancer [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2023, 21: 4056-4069.
- [20] Sirover M A. Pleiotropic effects of moonlighting glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) in cancer progression, invasiveness, and metastases [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37(4): 665-676.
- [21] Zubair H, Khan Z, Imran M. Impact of Akt1 polymorphism on DNA damage, BTG2 expression, and risk of colorectal cancer development [J]. *Radiol Oncol*, 2022, 56(3): 336-345.
- [22] Alwhaibi A, Verma A, Adil M S, *et al.* The unconventional role of Akt1 in the advanced cancers and in diabetes-promoted carcinogenesis [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 145: 104270.
- [23] Spano J P, Lagorce C, Atlan D, *et al.* Impact of EGFR expression on colorectal cancer patient prognosis and survival [J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(1): 102-108.
- [24] Ríos-Hoyo A, Monzonis X, Vidal J, *et al.* Unveiling acquired resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer: A long and winding road [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1398419.
- [25] Şahiner Y, Yıldırım M B. Can the C-reactive protein-to-plasma albumin ratio be an alternative scoring to show mortality and morbidity in patients with colorectal cancer? [J]. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2020, 26(4): 580-585.
- [26] Ye S B, Cheng Y K, Deng R, *et al.* The predictive value of estrogen receptor 1 on adjuvant chemotherapy in locally advanced colorectal cancer: A retrospective analysis with independent validation and its potential mechanism [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 214.
- [27] Zou S L, Tong Q Y, Liu B W, *et al.* Targeting STAT3 in cancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 145.
- [28] Hillmer E J, Zhang H Y, Li H S, *et al.* STAT3 signaling in immunity [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 31: 1-15.
- [29] Tolomeo M, Cascio A. The multifaced role of STAT3 in cancer and its implication for anticancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 603.
- [30] Damery S, Nichols L, Holder R, *et al.* Assessing the value of matrix metalloproteinase 9 (MMP9) in improving the appropriateness of referrals for colorectal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(5): 1149-1156.
- [31] Zhou J B, Ottewill P D. The role of IL-1B in breast cancer bone metastasis [J]. *J Bone Oncol*, 2024, 46: 100608.
- [32] Tang F X, Li Y S, Pan M, *et al.* HSP90AA1 promotes lymphatic metastasis of hypopharyngeal squamous cell carcinoma by regulating epithelial-mesenchymal transition [J]. *Oncol Res*, 2023, 31(5): 787-803.
- [33] Zhong J T, Ding S, Zhang X Y, *et al.* To investigate the occurrence and development of colorectal cancer based on the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Front Biosci*,

- 2023, 28(2): 37.
- [34] Leiphrakpam P D, Are C. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway as a target for colorectal cancer treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(6): 3178.
- [35] Stefani C, Miricescu D, Stanescu-Spinu I I, *et al.* Growth factors, PI3K/Akt/mTOR and MAPK signaling pathways in colorectal cancer pathogenesis: Where are we now? [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10260.
- [36] Maharati A, Moghbeli M. PI3K/Akt signaling pathway as a critical regulator of epithelial-mesenchymal transition in colorectal tumor cells [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 201.
- [37] 黄聪. 美洲大蠊抗肿瘤多肽在 MFC 荷瘤小鼠中对 PD-1 及 CTLA-4 表达的调节与作用机制的初步研究 [D]. 大理: 大理大学, 2020.
- [38] 张宇轩. 美洲大蠊提取物对肺腺癌 A549 细胞凋亡及 PI3K/Akt 信号通路的影响 [D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- [39] 黄依婷, 磨宁芳, 李姐姐, 等. 基于网络药理学和分子对接的逍遥散治疗肝癌并抑郁症的潜在机制探讨 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(6): 1175-1186.

【责任编辑 金玉洁】