

## 基于网络药理学、分子对接及体外实验探究肾茶治疗痛风性关节炎的物质基础及作用机制

俞 阳, 牛晓爽, 刘 超, 杨 燕, 钟国跃, 罗颖颖\*

江西中医药大学 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006

**摘要:**目的 利用网络药理学、分子对接技术, 从肾茶中筛选潜在的治疗痛风性关节炎的活性成分及其靶点, 并通过体外实验进一步验证。方法 从中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP)、HERB 等数据库获得肾茶的活性成分及其作用靶点, 通过人类基因数据库 (GeneCards)、人类孟德尔遗传数据库 (OMIM) 等获得痛风性关节炎的相关靶点, 采用 R 软件的 Venny 2.1.0 包获取肾茶与痛风性关节炎的交集靶点, 利用软件 CytoScape 3.9.1 绘制“肾茶-活性成分-疾病靶点”网络, 通过 STRING 网站构建关键靶点的蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 并通过微信平台进行基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。利用分子对接技术对核心活性成分和核心靶点对接结果进行模拟可视化。使用脂多糖 (LPS) 诱导 RAW264.7 巨噬细胞, 构建体外炎症模型, 给药组则同时予以黄芩素 (5、10、20  $\mu\text{mol/L}$ )、甜橙黄酮 (6.25、12.5、25  $\mu\text{mol/L}$ ) 和鼠尾草素 (12.5、25、50  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理。通过 RT-qPCR 检测白细胞介素-6 (*IL-6*)、*IL-1 $\beta$* 、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ) mRNA 表达水平和 Western blotting 检测胞外信号调节激酶 (ERK)、核因子- $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) p65 磷酸化水平。结果 网络药理学最终筛选得到 7 个肾茶活性成分, 对应靶点 481 个, 与痛风性关节炎交集靶点共 47 个; “肾茶-活性成分-疾病靶点”网络识别出 3 种核心成分 (黄芩素、甜橙黄酮和鼠尾草素); PPI 筛选得到 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3)、肉瘤病毒癌基因同源物 (SRC)、集落刺激因子 1 受体 (CSF1R)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、肿瘤坏死因子受体超家族成员 1A (TNFRSF1A)、白细胞介素-18 (IL18)、白细胞介素-10 (IL10)、干扰素- $\gamma$  (IFNG)、Toll 样受体 4 (TLR4)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK14) 10 个核心靶点; GO 和 KEGG 通路分析可知肾茶通过 MAPK 及 NF- $\kappa\text{B}$  等信号通路发挥作用; 分子对接结果显示, 3 种核心成分与痛风性关节炎治疗靶点的结合能力各有不同, 与 MAPK14 结合能力较强。RT-qPCR 实验结果显示, 给药组较模型组 *IL-6*、*IL-1 $\beta$* 、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达水平明显下降; Western blotting 实验结果显示, 与模型组相比, 给药后抑制细胞中 MAPK 通路及 NF- $\kappa\text{B}$  通路的激活, 显著降低 ERK、NF- $\kappa\text{B}$  p65 磷酸化水平。结论 肾茶治疗痛风性关节炎的主要活性成分为黄芩素、甜橙黄酮、鼠尾草素, 以及药物主要通过 MAPK/ERK 和 NF- $\kappa\text{B}$  p65 信号通路发挥治疗痛风性关节炎作用。

**关键词:** 肾茶; 痛风性关节炎; 网络药理学; 分子对接; 黄芩素; 甜橙黄酮; 鼠尾草素; 丝裂原活化蛋白激酶; 胞外信号调节激酶; 核因子- $\kappa\text{B}$  p65

中图分类号: R286.7 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2026)06-1602-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.06.009

## Material basis and mechanism of *Clerodendranthus spicatus* against gouty arthritis based on network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* experiments

YU Yang, NIU Xiaoshuang, LIU Chao, YANG Yan, ZHONG Guoyue, LUO Yingying

National Engineering Research Center for Solid Preparation Manufacturing Technology of Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

**Abstract: Objective** To screen the potential active ingredients and targets of *Clerodendranthus spicatus* against gouty arthritis based on network pharmacology and molecular docking technology, and to further validate the findings through *in vitro* experiments.

**Methods** The active ingredients of *C. spicatus* and their corresponding targets were obtained from the Traditional Chinese Medicine

收稿日期: 2026-01-30

基金项目: 江西中医药大学中药学 (新药创制方向) 特区建设立项项目 (TQ-11); 江西中医药大学中药药效物质基础江西省重点实验室项目 (2024SSY07102); 江西中医药大学校企合作项目 (横 20220124)

作者简介: 俞 阳, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药效评价与作用机制。E-mail: y18225552153@163.com

\*通信作者: 罗颖颖, 女, 博士, 教授, 研究方向为中药药效评价与作用机制。E-mail: luoying0302@163.com

Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and the HERB database. Disease targets of gouty arthritis were retrieved from the GeneCards database and the Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database. Intersection targets between *C. spicatus* and gouty arthritis were identified using the Venny 2.1.0 package in R software. The “*C. spicatus*-active component-disease target” network was constructed using Cytoscape 3.9.1. A protein-protein interaction (PPI) network of core targets was built via the STRING database. Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using the Bioinformatics Platform. Molecular docking was employed to simulate and visualize the binding of core active components to core targets. An *in vitro* inflammatory model was established using lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 macrophages. Treatment groups were administered baicalein (5, 10, 20  $\mu\text{mol/L}$ ), sinensetin (6.25, 12.5, 25  $\mu\text{mol/L}$ ), and salvigenin (12.5, 25, 50  $\mu\text{mol/L}$ ). The mRNA expression levels of interleukin-6 (IL-6), IL-1 $\beta$ , and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were measured by RT-qPCR. The phosphorylation levels of extracellular signal-regulated kinase (ERK) and nuclear factor- $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) p65 were detected by Western blotting. **Results** Network pharmacology ultimately screened 7 active components of *C. spicatus*, corresponding to 481 targets, and 47 intersection targets with gouty arthritis. Three core components (baicalein, sinensetin, and salvigenin) were identified from the “*C. spicatus*-active component-disease target” network. PPI network analysis yielded 10 core targets: NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3), sarcoma virus oncogene homolog (SRC), colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R), matrix metalloproteinase 9 (MMP9), tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A (TNFRSF1A), interleukin-18 (IL18), interleukin-10 (IL10), interferon- $\gamma$  (IFNG), Toll-like receptor 4 (TLR4), and mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14). GO and KEGG pathway analyses indicated that *C. spicatus* exerts its effects through signaling pathways such as the MAPK and NF- $\kappa\text{B}$  pathways. Molecular docking results showed that the three core components each have varying binding affinities to gouty arthritis therapeutic targets, with relatively strong binding to MAPK14. RT-qPCR results demonstrated that compared with the model group, the treatment groups significantly reduced the mRNA expression levels of IL-6, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$ . Western blotting results showed that compared with the model group, treatment inhibited the activation of the MAPK and NF- $\kappa\text{B}$  pathways in cells and significantly reduced the phosphorylation levels of ERK and NF- $\kappa\text{B}$  p65. **Conclusion** The main active ingredients of *C. spicatus* against gouty arthritis are baicalein, sinensetin, and salvigenin, and the therapeutic effect is primarily mediated through the MAPK/ERK and NF- $\kappa\text{B}$  p65 signaling pathways.

**Key words:** *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.)C. Y. Wu; gouty arthritis; network pharmacology; molecular docking; baicalein; sinensetin; salvigenin; mitogen-activated protein kinase; extracellular signal-regulated kinase; nuclear factor- $\kappa\text{B}$  p65

肾茶 *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. Y. Wu 为唇形科肾茶属多年生草本植物，又名猫须草、苞须花、猫须公、腰只草、化石草、大花直管草等。在傣医中被称为“芽糯妙”，在壮医药中被称为“棵蒙秒”，在东南亚也被称为“爪哇茶”，《广西壮族自治区壮药质量标准第二卷（2011年版）》<sup>[1]</sup>、《湖南省中药材标准（2009年版）》<sup>[2]</sup>均明确记载肾茶来源于唇形科肾茶的干燥地上部分，在中医理论中，该药具有清热祛湿、排石通淋之功效，常用于治疗风湿痹痛、腰腿痛以及石淋、热淋等症。而在壮医理论中，其主要作用被界定为清热毒、除湿毒及通水道，主治笨浮（水肿）、肉扭（淋证）、尿路及胆囊结石以及发旺等病证。在傣族医学典籍《贝叶经》中也有记载肾茶治疗多种泌尿系统疾病如急性慢性肾炎、尿路结石以及风湿免疫系统疾病如风湿性关节炎、痛风等。

该药材主要分布于海南、广东、云南南部及福建等地，其中以云南思茅和西双版纳地区的种植规

模最为广泛。痛风性关节炎是尿酸水平升高导致尿酸单钠晶体沉积引起的关节炎症，全球患病率为1.0%~6.8%<sup>[3]</sup>。有研究表明，肾茶所含多种有效成分可降低尿酸及炎症水平，改善痛风性关节炎的症状<sup>[3-5]</sup>。为进一步探讨肾茶治疗痛风性关节炎的作用机制，本研究采用网络药理学及分子对接的方法，对肾茶的活性成分、治疗靶点和作用通路进行分析，最后进行体外实验验证，以期为肾茶的临床应用提供理论基础。

## 1 材料

### 1.1 试剂

RAW 264.7 细胞购于中国科学院上海细胞库；脂多糖（LPS，0111：B4，货号 L4391）试剂购于美国 Sigma-Aldrich 公司；黄芩素（质量分数 $\geq 98\%$ ，货号 PS000472，）、鼠尾草素（质量分数 $\geq 98\%$ ，货号 PS010371）、甜橙黄酮（质量分数 $\geq 98\%$ ，货号 PS011273）对照品均购于成都普思生物公司；胞外信号调节激酶（ERK，货号 66192）、磷酸化-ERK

(p-ERK, 货号 5726)、核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) P65 (货号 8242)、磷酸化-NF- $\kappa$ B P65 (p-NF- $\kappa$ B P65, 货号 3033) 抗体均购于 Cell Signaling Technology; 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗兔免疫球蛋白 G (IgG, 货号 GB23303) 购于武汉赛维尔生物科技有限公司, 热休克蛋白 90 (Hsp90, 货号 ET1605-56) 购于杭州华安生物技术有限公司, SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 (含 ROX) (货号 A6A1099)、Evo M-MLV 反转录预混型试剂盒 (货号 A6A1501) 均购于湖南艾科瑞生物工程有限公司; BCA 蛋白定量试剂盒 (货号 ZJ102) 购自上海雅酶生物医药科技有限公司; Stripping Buffer 蛋白印迹膜再生液 (货号 CW0056M) 购自江苏康为世纪生物科技股份有限公司。

## 1.2 仪器

ML204E 分析天平购自瑞士梅特勒-托利多公司; 5418R 高速离心机、Mastercyclear 逆转录 PCR 仪均购自德国 Eppendorf 公司; D1008E 涡旋震荡仪购自美国 SCILOGEX 公司; 7500 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Applied Biosystems 公司; Bio-Ra Chemi 凝胶成像仪购自德国伯乐公司; SpectraMaxi3 多功能酶标仪购自奥地利 Molecular Devices 公司; DYCP-40E 电泳仪、DYY-7C 转膜仪均购自北京六一生物科技有限公司; TS-1 摇床购自海门区其林贝尔仪器。

## 2 方法

### 2.1 网络药理学

**2.1.1 肾茶活性成分及其作用靶点的筛选** 从中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 数据库 (<https://www.tcmsp-e.com/>)、HERB 数据库 (<http://herb.ac.cn/>)、CNKI 数据库、PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、BATMAN 数据库 (<http://bionet.ncpsb.org.cn/>) 中搜索肾茶 (或猫须草) 的主要成分<sup>[6]</sup>, 筛选口服生物利用度 (OB) > 30% 和类药性 (DL)  $\geq$  0.18 的活性成分并获取成分靶点<sup>[7]</sup>, 将成分导入 Swiss Target Prediction 数据库 (<https://www.swisstargetprediction.ch/>) 预测潜在作用靶点, 最后将药物所有潜在靶点合并去重。

**2.1.2 痛风性关节炎相关靶点的收集** 以 “gouty arthritis” 为关键词, 分别在人类基因数据库 (Gene Cards, <https://www.genecards.org/>)、人类孟德尔遗传数据库 (OMIM, <https://omim.org/>)、治疗靶点数据库 (TTD, <https://ttd.idrblab.cn/>) 及 DisGeNET 数据

库 (<https://disgenet.com/>) 中检索痛风性关节炎靶点, 对各数据库检索结果合并去除重复值; 再采用 R 软件的 Venny 2.1.0 包, 将上述药物治疗靶点与痛风性关节炎疾病靶点进行交集分析, 最终筛选得到二者的交集靶点。

**2.1.3 “肾茶-活性成分-疾病靶点”网络构建** 利用软件 CytoScape 3.9.1 绘制肾茶活性成分及痛风性关节炎关联靶点、通路交互网络示意图, 并通过该软件分析模块对肾茶活性成分与对应靶点的拓扑参数进行统计分析, 包括度、中间中心度和接近中心度, 并根据每个成分的度值高低来判断主要活性成分及其药理活性水平。

**2.1.4 关键靶点的蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建** 用 STRING 网站 (<https://cn.string-db.org/>) 来建立关键靶点的 PPI 网络<sup>[8]</sup>, 设定置信度 = 0.7, 去掉分散的蛋白, 得到蛋白之间的互作关系网, 再用 Cytoscape 软件对蛋白网络图进行可视化, 然后用 Cytoscape 软件中的 CytoHubba 工具对 PPI 网络拓扑特征进行分析, 得到每个节点的自由度, 按大小顺序排列。

**2.1.5 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** 将交集靶点导入平台 <http://metascape.org/gp/index.html><sup>[9]</sup>, 限定物种 “Homo sapiens”, 设置  $P < 0.01$ , 进行 GO 功能富集分析<sup>[10]</sup> 及 KEGG 通路富集分析<sup>[11]</sup>, 使用微生信平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 绘制 GO 富集分析柱状图和 KEGG 通路富集分析气泡图。

**2.1.6 分子对接** 从 PDB 数据库中调取度值排名前 5 的核心靶点对应的蛋白质结构, 剔除原结构中含有的小分子与水分子后, 运用 AutoDock 软件完成蛋白质的加氢处理及电荷计算工作。将肾茶与痛风性关节炎共同靶点及其对应的肾茶活性成分导入 Cytoscape 绘制肾茶治疗痛风性关节炎的成分-靶点网络图, 通过 Network analyzer 分析网络图后按度值排序, 从 TCMSP 数据库中提取排名前 3 的成分作为肾茶的核心活性成分, 并下载相应的小分子 3D 结构。同时, 从 PDB 数据库中获取受体蛋白对应的晶体结构, 借助 AutoDock 软件开展分子对接实验, 筛选出结合自由能最低 (即结合亲和力最优) 的构象, 最终利用 PyMol、Discovery Studio 2019 等软件完成后续的可视化分析工作。

## 2.2 体外实验验证

**2.2.1 分组造模与给药** 将 RAW 264.7 细胞培养至对

数生长期,依据不同处理方式分为对照组、模型组及给药组。除对照组外,其余组均以 LPS 刺激,给药组同时予以药物干预。将对数生长期的 RAW264.7 细胞,以每孔  $1 \times 10^6$  个/mL 进行接种,稳定培养 12 h 后,对各组分别进行不同干预:(1)模型组以 100 ng/mL LPS 刺激 6 h,给药组则同时予以黄芩素 (5、10、20  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>[12-13]</sup>、甜橙黄酮 (6.25、12.5、25  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>[14]</sup> 和鼠尾草素 (12.5、25、50  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>[15-16]</sup>,对照组不做任何处理,实验结束后提取 RNA 用于 RT-qPCR。(2)给药组预给药 2 h 后,将 1  $\mu\text{g/mL}$  LPS 加入模型组

及给药组再刺激 1 h,实验结束后提取蛋白用于 Western blotting 实验。

**2.2.2 RT-qPCR 检测 *IL-6*、*IL-1 $\beta$* 、*TNF- $\alpha$*  mRNA 表达水平** 按 2.2.1 项下分组造模给药后,Trizol 法提取总 RNA,首先对样本进行反转录获得 cDNA,然后进行 qPCR 扩增:以 cDNA 为模板, $\beta$ -actin 为内参,预变性 95  $^{\circ}\text{C}$ 、30 s;变性 95  $^{\circ}\text{C}$ 、5 s,退火延伸 60  $^{\circ}\text{C}$ 、30 s,40 个循环。循环结束后,以  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  相对定量法计算 *IL-6*、*IL-1 $\beta$* 、*TNF- $\alpha$*  mRNA 的表达情况。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物名称	正向引物序列 (5'-3')	反向引物序列 (5'-3')
<i><math>\beta</math>-actin</i>	GTGCTATGTTGCTCTAGACTTCG	ATGCCACAGGATTCCATACC
<i>IL-6</i>	AGTTCCTCTCTGCAAGAGACTTCC	TTGCCATTGCACAACTCTTTTC
<i>IL-1<math>\beta</math></i>	TGCCACCTTTTGACAGTGATG	AAGGTCCACGGGAAAGACAC
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	TCAAAATTCGAGTGACAAGCCTG	GGTATGAGATAGCAAATCGGCTG

**2.2.3 Western blotting 检测 p-ERK、p-p65 蛋白表达量** 按 2.2.1 项下分组造模给药后,提取各组细胞总蛋白,用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性处理后进行电泳,转膜,封闭。孵育抗体 ERK、p-ERK、NF- $\kappa$ B p65、p-NF- $\kappa$ B p65,HRP 标记二抗孵育后,ECL 化学发光法显影,采用 ImageJ 软件对条带灰度值进行定量,先将目标蛋白灰度值与内参灰度值标准化以校正上样差异,再计算 p-ERK/ERK、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 以反映其磷酸化激活程度。

**2.2.4 统计学方法** 所有数据采用 GraphPad Prism 9.2.0 软件处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,所有实验均重复 3 次以上,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 网络药理学

**3.1.1 肾茶活性成分及其作用靶点的筛选** 从 TCMSP、HERB、CNKI、PubChem、BATMAN 数据库中搜索肾茶的主要成分,依据含量和 OB、DL 进行筛选,共得到活性成分 7 个,见表 2。通过 Swiss Target Prediction 数据库预测获得这些活性成分的作用靶点共有 481 个。

**3.1.2 痛风性关节炎相关靶点的收集** 通过检索 GeneCards、OMIM、TTD、DisGENET 数据库以及参考文献<sup>[17-20]</sup>,获得痛风性关节炎的相关靶点共

386 个,使用 R 软件 Venny 2.1.0 包对以上药物活性成分的作用靶点及疾病相关靶点取交集,得到 47 个交叉靶点,见图 1。

表 2 肾茶中主要活性成分

Table 2 Main active ingredient in *C. spicatus*

编号	中文名称	英文名称
1	黄芩素	baicalein
2	甜橙黄酮	sinensetin
3	鼠尾草素	salvigenin
4	泽兰黄素	eupatorin
5	岛藤碱	insularine
6	原儿茶醛	protocatechuic aldehyde
7	丹参素	danshensu

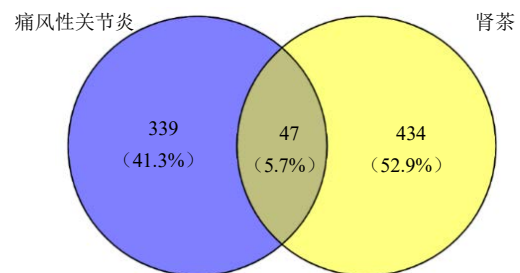


图 1 肾茶与痛风性关节炎交集靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of intersecting targets between *C. spicatus* and gouty arthritis

**3.1.3 “肾茶 - 活性成分 - 疾病靶点”网络构建** 如图 2 所示,“肾茶 - 活性成分 - 疾病靶点”网络图由 7 个核心活性成分与 47 个关键靶点构成,直观展现出肾茶中活性成分在痛风性关节炎治疗中具有多靶点调控的作用特征。通过对度值进行分析,识别出 3 种核心成分,分别为黄芩素、甜橙黄酮和鼠尾草素。

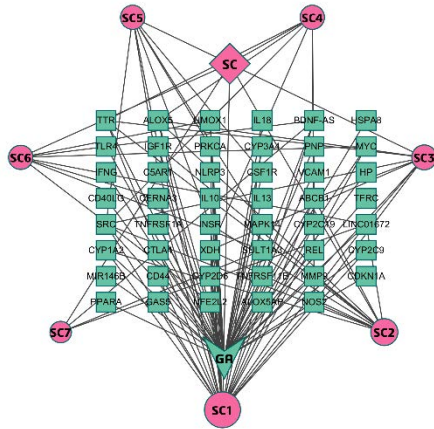


图 2 “肾茶 - 活性成分 - 疾病靶点”网络  
Fig. 2 “*C. spicatus*-active ingredient-disease target” network

**3.1.4 关键靶点的 PPI 网络构建** 如图 3 所示,图中节点代表蛋白质,节点颜色越深对应蛋白的度值越高;连线表征蛋白质间的相互作用关系,连线数量越多提示该蛋白与疾病的关联程度越高。其中,实线表示直接关系,虚线表示间接关系<sup>[21]</sup>。根据数据

库的原始数据分析,肾茶治疗痛风性关节炎的 PPI 网络中包含 42 个节点和 97 条边。以度值 >15、中间中心度值 >0.004 5 和接近中心度值 >0.571,筛选出 10 个核心靶点,分别为 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3)、肉瘤病毒癌基因同源物 (SRC)、集落刺激因子 1 受体 (CSF1R)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、肿瘤坏死因子受体超家族成员 1A (TNFRSF1A)、白细胞介素-18 (IL18)、白细胞介素-10 (IL10)、干扰素- $\gamma$  (IFNG)、Toll 样受体 4 (TLR4)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK14),见图 4。

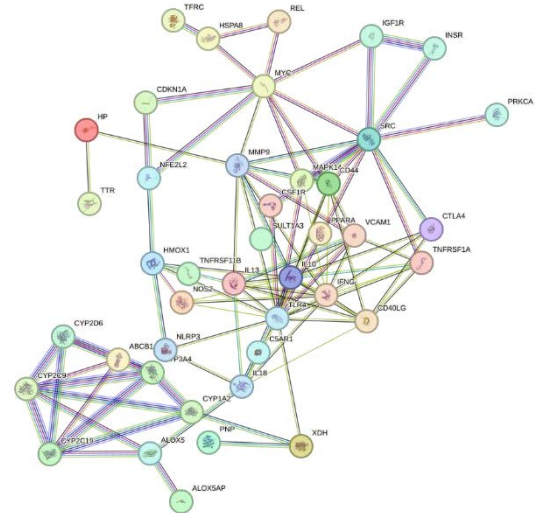
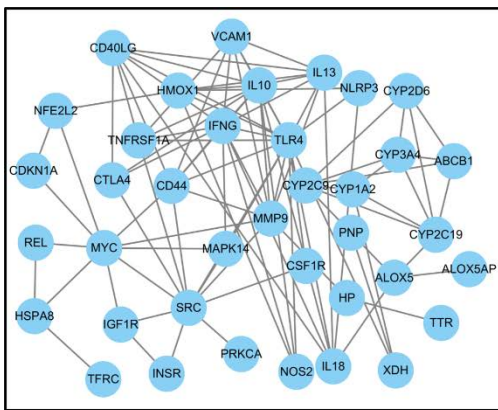


图 3 PPI 网络图  
Fig. 3 PPI network diagram



度值 >15  
中间中心度值 >0.004 5  
接近中心度值 >0.571

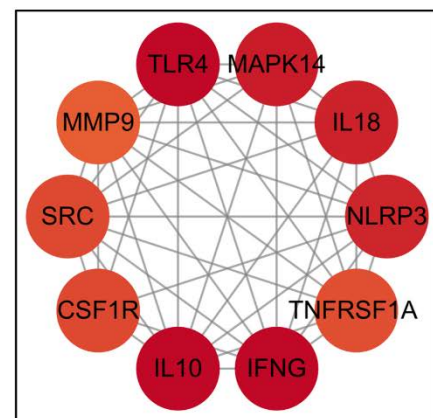


图 4 PPI 网络拓扑分析核心靶点图  
Fig. 4 PPI network topology analysis core target map

**3.1.5 GO 功能分析** 在 GO 富集分析中,生物过程 (BP) 方面共识别出 2 299 个条目,主要包括药物反应、细胞间黏附调节和白细胞间黏附调节等内容。在分子功能 (MF) 方面共识别出 205 个条目,

有血红素结合、四吡咯结合、氧化还原酶活性,而在细胞组成 (CC) 方面共得到 117 个条目,包含质膜外侧、富含 Ficolin-1 的颗粒和富含 Ficolin-1 颗粒腔,见图 5。

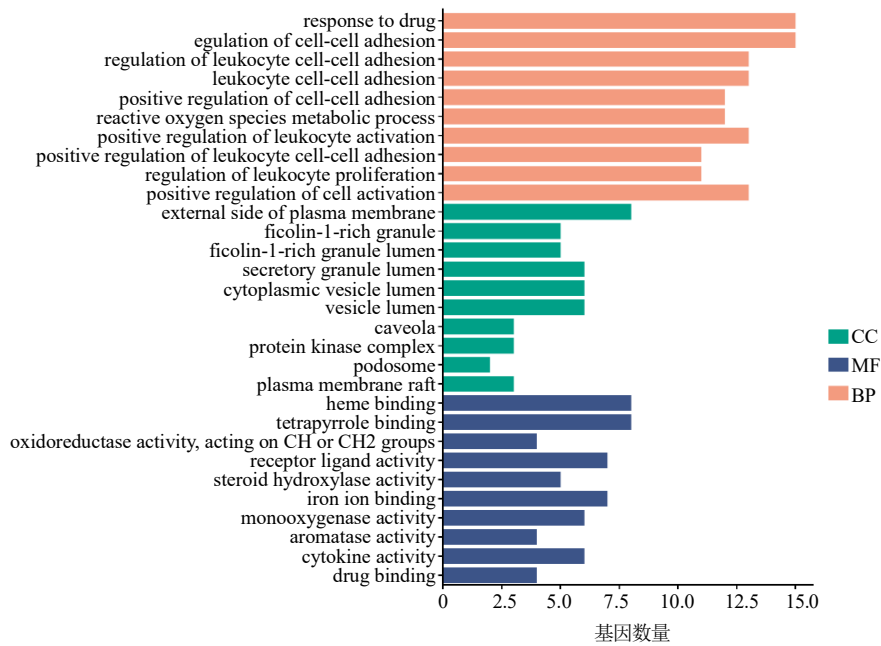


图 5 GO 功能富集分析

Fig. 5 GO function enrichment analysis

3.1.6 KEGG 富集分析 通过 KEGG 富集分析，识别出 216 条通路。在排除与病毒和癌症相关的通路后，通过 KEGG 二级通路分析，信号转导和免疫系统所含通路富集最多（图 6A），这表明靶点可能与

信号转导、免疫系统作用相关。筛选出的主要通路包括缺氧诱导因子-1（HIF-1）信号通路、MAPK 信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶（PI3K）-蛋白激酶 B（Akt）信号通路和 NF-κB 信号通路等（图 6B）。

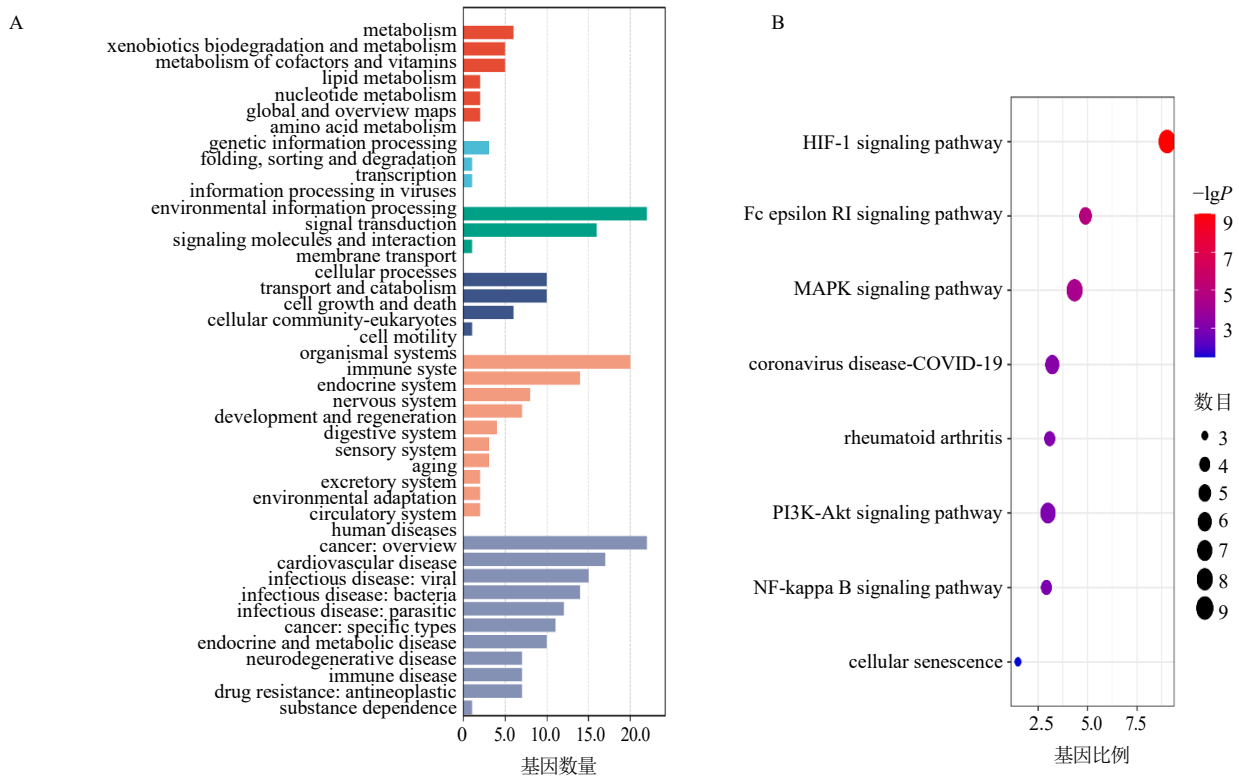


图 6 KEGG 通路富集分析柱状图 (A) 和 KEGG 主要通路分析气泡图 (B)

Fig. 6 Bar chart of KEGG pathway enrichment analysis (A) and bubble chart of main KEGG pathway analysis (B)

3.1.7 分子对接 先以蛋白质的活性位点为中心来设定对接盒子以及有关参数，然后运行自动对接网格，设置对接参数，在 AutoDock 软件中对活性成份和核心靶点进行自动对接，模拟活性化合物与核

心靶点的自由结合亲和力<sup>[22]</sup>。如表 3 所示，药物成分与 MAPK14 的结合自由能较高。3 种核心成分黄芩素、甜橙黄酮和鼠尾草素与 MAPK14 对接结果的可视化见图 7。

表 3 分子对接结合能结果  
Table 3 Molecular docking binding energy results

活性成分	结合自由能/(kcal·mol <sup>-1</sup> )									
	NLRP3	SRC	CSF1R	MMP9	TNFRSF1A	IL-18	IL-10	IFNG	TLR4	MAPK14
黄芩素	-6.90	-7.58	-6.20	-6.21	-6.80	-6.20	-4.56	-5.44	-4.63	-8.40
甜橙黄酮	-7.30	-7.75	-5.60	-8.74	-6.10	-5.70	-5.34	-5.48	-4.11	-7.80
鼠尾草素	-6.70	-7.04	-5.50	-5.74	-6.10	-5.60	-4.61	-4.53	-4.50	-7.30

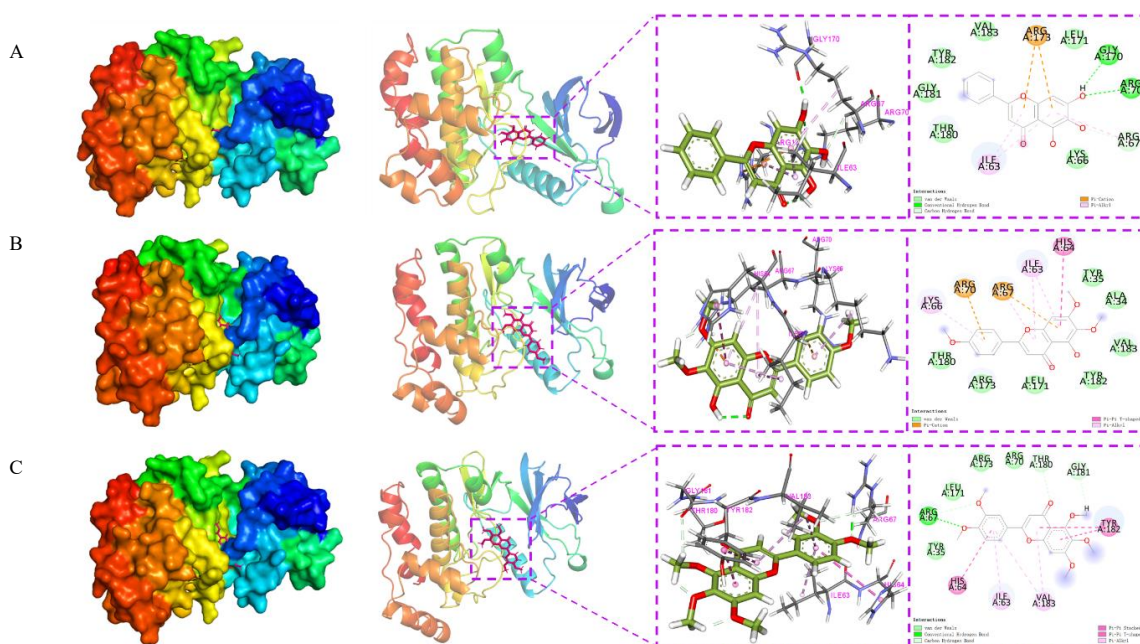


图 7 黄芩素-MAPK14 (A)、鼠尾草素-MAPK14 (B)、甜橙黄酮-MAPK14 (C) 分子对接结果图可视化。

Fig. 7 Visualization of baicalcin-MAPK14 (A), salvigenin-MAPK14 (B), sinensetin-MAPK14 (C) molecular docking results

### 3.2 体外实验

3.2.1 RT-qPCR 检测 *IL-6*、*IL-1β*、*TNF-α* mRNA 表达水平 如图 8 所示，与对照组相比，LPS 组细胞 *IL-6*、*IL-1β*、*TNF-α* mRNA 表达均显著升高 ( $P < 0.001$ )。与 LPS 组比较，黄芩素 5、10、20 μmol/L 组，甜橙黄酮 25 μmol/L 组和鼠尾草素 50 μmol/L 组 *IL-6* mRNA 表达均显著降低 ( $P < 0.01$ 、0.001)；黄芩素 5、10、20 μmol/L 组，甜橙黄酮 6.25、12.5、25 μmol/L 组和鼠尾草素 12.5、25、50 μmol/L 组 *IL-1β* mRNA 表达均显著降低 ( $P < 0.01$ 、0.001)；黄芩素

20 μmol/L 组，甜橙黄酮 6.25、12.5、25 μmol/L 组和鼠尾草素 12.5、25、50 μmol/L 组 *TNF-α* mRNA 表达均显著降低 ( $P < 0.01$ 、0.001)。

3.2.2 Western blotting 检测 p-ERK、p-p65 蛋白表达量 如图 9 所示，与对照组相比，LPS 组细胞中 p-ERK、p-NFκB P65 蛋白表达明显升高 ( $P < 0.001$ )；与 LPS 组比较，黄芩素 20 μmol/L 组和甜橙黄酮 12.5 μmol/L 组 p-ERK/ERK 降低 ( $P < 0.05$ )，甜橙黄酮 12.5、25 μmol/L 组及鼠尾草素 25、50 μmol/L 组 p-p65/p65 降低 ( $P < 0.05$ 、0.01、0.001)。

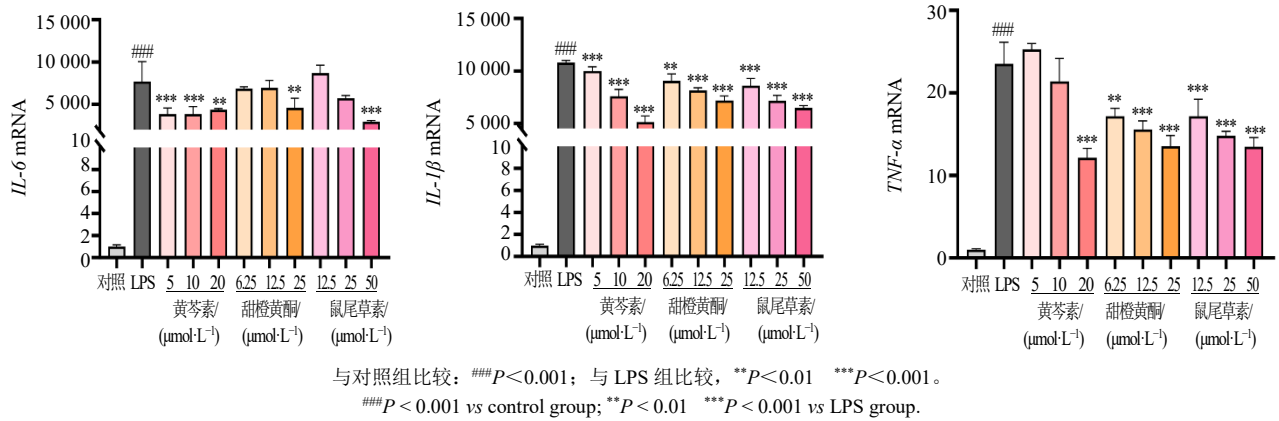


图 8 黄芩素、甜橙黄酮和鼠尾草素对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 *IL-6*、*IL-1β*、*TNF-α* mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 8 Effects of baicalin, sinensetin and salvigenin on LPS-induced mRNA expression of *IL-6*, *IL-1β* and *TNF-α* in RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

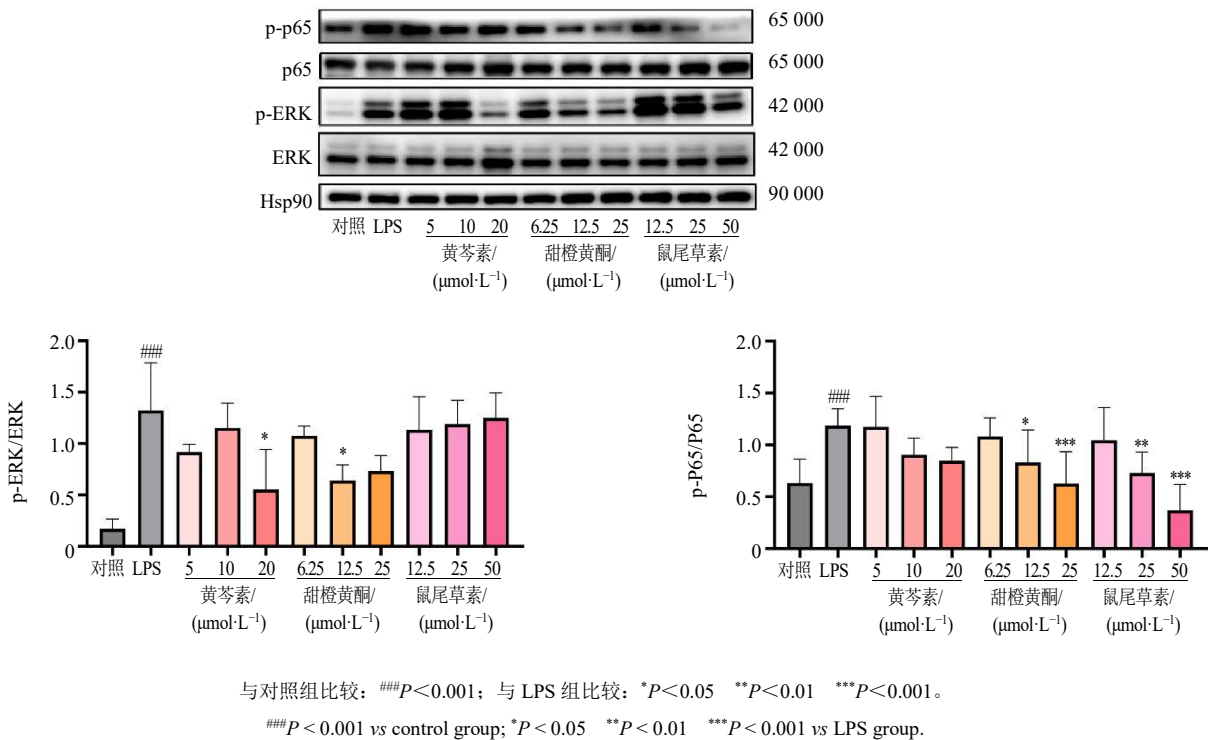


图 9 黄芩素、甜橙黄酮和鼠尾草素对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 p-ERK 和 p-NF-κB p65 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Fig. 9 Effects of baicalin, flavanone and carnosicin on LPS-induced p-ERK and p-NF-κB p65 protein expression in RAW264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

#### 4 讨论

研究表明, 肾茶水煎剂对尿酸钠诱导的大鼠痛风性关节炎模型具有显著的治疗作用<sup>[23]</sup>。结果显示, 肾茶水煎剂通过抑制 *TNF-α*, 减少内皮细胞的激活和中性粒细胞的募集, 从而抑制炎症反应, 降低急性痛风性关节炎组织中 *IL-1β* 和 *TNF-α* 的水平, 打破炎性细胞因子的恶性循环, 从而有效减轻炎症

并实现治疗效果。肾茶水煎剂主要影响的是痛风性关节炎的第 3、4 阶段, 也就是急性炎症反应期和痛风石、慢性滑膜炎和关节损伤期<sup>[24]</sup>。肾茶水煎剂高剂量组降低了痛风性关节炎大鼠血清和滑膜组织中的 *IL-6*、*IL-1β* 和 *TNF-α* 炎性因子的表达, 从而防止滑膜炎在软骨组织中的破坏作用, 作用机制的推测与 *NLRP3* 炎性体的活化有关<sup>[3]</sup>。同时, 高剂量的

肾茶水煎剂能够有效降低尿酸水平，其作用机制在于抑制黄嘌呤氧化酶。肾茶中的有效活性成分能够竞争性地抑制黄嘌呤与黄嘌呤氧化酶的结合，从而减少尿酸的生成<sup>[25]</sup>。肾茶乙醇提取物降低尿酸的机制主要通过调节尿酸转运体的蛋白表达，减少尿酸的生成并促进其排泄。此外，它还可以调节体内的氮代谢，从而有效降低尿酸水平<sup>[26]</sup>。由此可见，肾茶治疗痛风性关节炎的作用确切，但其主要有效成分及关键靶点还不清晰。

本研究利用网络药理学分析，筛选出与痛风性关节炎相关的治疗靶点，并识别出对接稳定的肾茶活性成分黄芩素、甜橙黄酮和鼠尾草素。鼠尾草素是肾茶中一种典型的黄酮类活性成分，主要发挥抗炎、抗氧化和降低尿酸的作用<sup>[27]</sup>。鼠尾草素中的羟基可以与  $\text{Ca}^{2+}$  离子结合，降低尿液中  $\text{Ca}^{2+}$  的浓度，降低草酸钙等物质的过饱和度，抑制含钙结石的形成<sup>[11]</sup>。此外，肾茶所含的黄芩素能够显著抑制 *ROR $\gamma$ t* 基因的表达，从而减少淋巴细胞与滑膜细胞的黏附，阻断 IL-17 诱导的炎症级联反应，并降低细胞间黏附分子-1、血管细胞黏附分子-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  的表达，发挥治疗关节滑膜的慢性炎症的作用<sup>[28]</sup>。肾茶中另一种成分甜橙黄酮能够有效抑制由角叉菜胶引起的爪部炎症，以剂量相关的方式抑制前列腺素  $\text{E}_2$ 、诱生型一氧化氮合酶和环氧合酶-2 的水平<sup>[29-30]</sup>。由此可见，肾茶中的有效成分在治疗痛风性关节炎过程中发挥了重要作用。

本研究为进一步确认肾茶治疗痛风性关节炎的作用靶点，将核心成分与靶点进行分子对接模拟，其中黄芩素、甜橙黄酮、鼠尾草素与 MAPK14 氨基酸残基集合形成较稳定的结合能。通过网络药理学的富集分析，发现肾茶核心成分作用的信号通路主要富集于 MAPK、NF- $\kappa$ B 信号通路。其中 MAPK/ERK 途径主导着细胞生长、分化和存活等关键进程，因此，它不仅在正常细胞功能中至关重要，更在诸多疾病的发生发展中扮演核心角色，MAPK/ERK 通路也被认为是 MAPK 家族中最经典且最核心的通路之一<sup>[31-32]</sup>。研究表明，MAPK/ERK 通路的失调干扰了体内 Th17 和 Treg 细胞的平衡，从而加剧关节的炎症反应，MAPK/ERK 通路还可通过调控巨噬细胞极化影响疾病进程。研究发现 MAPK/ERK 和 p65/NF- $\kappa$ B 信号在巨噬细胞活化和软骨降解中的重要作用，促进骨关节炎的发病机制和进展，通过实验确认了 MAPK/ERK 和 p65/NF- $\kappa$ B 信号在活化巨噬细胞与

凋亡软骨细胞之间的串扰中的重要作用<sup>[33-35]</sup>。ERK 磷酸化还可以直接增强转录因子 NF- $\kappa$ B 和激活蛋白 1 的活性，促进促炎细胞因子如 IL-6 和 IL-8 的持续表达<sup>[36]</sup>。此外还有研究发现在类风湿性关节炎中，MAPK/ERK、JAK/STAT 和 NF- $\kappa$ B 通路可同时被激活，这些通路相互关联，可共同促进疾病的病理过程<sup>[37]</sup>。在 LPS 刺激下，巨噬细胞被 TLRs 激活，这些受体在 MAPK 中磷酸化 p38、ERK 和 JNK，同时激活下游 NF- $\kappa$ B 信号通路，从而加剧炎症<sup>[38]</sup>，NF- $\kappa$ B 与 I $\kappa$ B $\alpha$  结合，I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化后被蛋白酶体降解，p65/p50 等 NF- $\kappa$ B 亚基入核激活靶基因<sup>[39]</sup>。以往的研究已证明，药物通过抑制 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路，并降低 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 、单核细胞化学吸引蛋白-1、诱导一氧化氮合酶和干扰素- $\beta$  在滑膜组织中以剂量相关的方式表达，从而减轻胶原诱导性关节炎小鼠的关节炎和关节损伤<sup>[40]</sup>。同样，在痛风性关节炎疾病进程中，MAPK 通路对细胞因子的产生、破骨细胞的分化、滑膜组织的生长和 T 细胞的异常激活都有重大影响。特别是在单核吞噬细胞内，MAPK 在激活 NF- $\kappa$ B 方面发挥着独特的作用，NF- $\kappa$ B 可调节 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等炎症细胞因子的产生<sup>[41]</sup>。因此，本研究实验验证围绕炎症反应激活，结合网络药理学预测靶点与通路，选取肾茶治疗痛风性关节炎的炎性蛋白靶点 ERK、NF- $\kappa$ B p65 采用体外实验进行验证。

在体外实验验证中，本研究采用 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞，并后续进行了 RT-qPCR 和 Western blotting 等实验，结果表明黄芩素、甜橙黄酮和鼠尾草素各剂量组与模型组相比较，IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  mRNA 表达均有所降低，尤其是黄芩素高剂量组和甜橙黄酮中剂量组在给药后 p-ERK/ERK 较模型组降低，而甜橙黄酮和鼠尾草素的中、高剂量组给药后，p-p65/p65 也较模型组明显降低。上述结果表明，肾茶的主要活性成分可通过抑制 LPS 诱导的 NF- $\kappa$ B p65 活化和 MAPK 信号通路的激活，发挥对炎症反应的改善作用。

综上所述，本研究采用网络药理学方法分析，揭示了肾茶治疗痛风性关节炎的 7 种有效物质基础、47 个关键靶点，并对其进行功能注释和通路富集，阐明其治疗痛风性关节炎的分子机制。随后，采用分子对接模拟和体外实验证实了肾茶中的活性成分黄芩素、甜橙黄酮、鼠尾草素可以通过多成分-多靶点作用抑制 MAPK/ERK 信号通路和 NF- $\kappa$ B 信号

通路, 发挥其缓解治疗痛风性关节炎作用。本研究为肾茶应用于痛风性关节炎的治疗提供了科学理论依据, 但详细的信号转导机制有待进一步探究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 广西壮族自治区卫生厅. 广西壮族自治区壮药质量标准 (第二卷) [M]. 广西壮族自治区: 广西科学技术出版社, 2011: 174-175.
- [2] 湖南省卫生厅. 湖南省中药材标准 [M]. 湖南: 湖南省科学技术出版社, 2009: 251.
- [3] Dehlin M, Jacobsson L, Roddy E. Global epidemiology of gout: Prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(7): 380-390.
- [4] 李仪杰, 王丽欢, 潘赐明, 等. 肾茶治疗痛风性关节炎的作用机制研究 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2023, 31(5): 12-17.
- [5] 李毅鹏, 潘争红, 符毓夏, 等. 猫须草抗炎活性成分研究 [J]. *广西植物*, 2022, 42(9): 1480-1486.
- [6] 程洁, 杨小林, 范明松, 等. 基于网络药理学探究六神丸联合泼尼松治疗亚急性甲状腺炎的潜在作用 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2023, 42(12): 818-824.
- [7] 涂少辉, 吴金虎, 邹吉利, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨消斑祛脂方改善肥胖的作用机制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2025, 45(2): 152-160.
- [8] Szklarczyk D, Gable A L, Lyon D, et al. STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [9] Zhou Y Y, Zhou B, Pache L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 1523.
- [10] Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology resource: Enriching a GOld mine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D325-D334.
- [11] 袁炜, 耿辉, 王馨笛, 等. 生物信息综合数据库 KEGG 的应用 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2022, 14(6): 669-673.
- [12] Xiang L, Hu Y F, Wu J S, et al. Semi-mechanism-based pharmacodynamic model for the anti-inflammatory effect of baicalein in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 793.
- [13] Fan G W, Zhang Y, Jiang X R, et al. Anti-inflammatory activity of baicalein in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via estrogen receptor and NF- $\kappa$ B-dependent pathways [J]. *Inflammation*, 2013, 36(6): 1584-1591.
- [14] Bai N S, He K, Roller M, et al. Flavonoid glycosides from *Microtea debilis* and their cytotoxic and anti-inflammatory effects [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(2): 168-172.
- [15] Lin L, Deng K M, Gong Z R, et al. Sinensetin attenuated macrophagic NLRP3 inflammasomes formation via SIRT1-NRF2 signaling [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(37): 33514-33525.
- [16] Xu Z B, Hu H Y, Wang K Y, et al. Sinensetin, a polymethoxyflavone from *Citrus fruits*, ameliorates LPS-induced acute lung injury by suppressing Txnip/NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling-mediated inflammatory responses and pyroptosis [J]. *Food Funct*, 2024, 15(14): 7592-7604.
- [17] Chen W D, Zhao Y L, Dai Z, et al. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory diterpenoids with highly oxygenated substituents from kidney tea (*Clerodendranthus spicatus*) [J]. *J Food Biochem*, 2020, 44(12): 1-10.
- [18] Zhou H C, Yang L, Guo R Z, et al. Phenolic acid derivatives with neuroprotective effect from the aqueous extract of *Clerodendranthus spicatus* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2017, 19(10): 974-980.
- [19] 史晨旭. 肾茶药用考证、化学成分及质量标准研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.
- [20] 赵于惠, 向诚, 徐天瑞, 等. 肾茶的化学成分、药理活性和质量控制方法研究进展 [J]. *天然产物研究与开发*, 2023, 35(7): 1247-1264.
- [21] 高振杰, 张晶, 张大伟, 等. 应用网络药理学和实验验证方法探讨原儿茶酸抗抑郁症的作用机制 [J]. *海南医科大学学报*, 2025, 31(10): 758-770.
- [22] 衡元元, 谭梅娥, 舒合拉·朱马别克, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨香青兰改善慢性肾脏疾病的作用机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(11): 3947-3958.
- [23] 陈珠, 杨彩霞, 倪婉晔, 等. 肾茶对急性痛风性关节炎大鼠的抗炎作用研究 [J]. *环球中医药*, 2016, 9(9): 1051-1054.
- [24] 钟佳, 刘华, 王理槐. 基于“癌毒传舍”理论防治肺癌转移 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(12): 1950-1953.
- [25] Jiao X M, Jin Q, Zhu P F, et al. *Clerodendranthus spicatus*: A comprehensive review of the chemical constituents, pharmacology, quality control and clinical applications [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1452797.
- [26] 李凯文. 肾茶改善高尿酸血症肾病的作用和机制研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2022.
- [27] 洪霖, 邹小燕, 张禧燕, 等. 肾茶及其活性提取物治疗肾脏相关疾病现代研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(24): 7970-7979.
- [28] Dinda B, Dinda S, DasSharma S, et al. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalein against

- inflammatory disorders [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 131: 68-80.
- [29] Chae H S, Kim Y M, Chin Y W. Sinensetin inhibits interleukin-6 in human mast cell-1 via signal transducers and activators of the transcription 3 (STAT3) and nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) pathways [J]. *Nat Prod Sci*, 2017, 23(1): 1.
- [30] Xu Z B, Wang K Y, Hu H Y, *et al.* Sinensetin attenuates LPS-induced acute pulmonary inflammation in mice and RAW264.7 cells by modulating NF- $\kappa$ B p65-mediated immune resistance and STAT3-mediated tissue resilience [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 148: 114101.
- [31] Yang X D, Hou Z S, Liu M Q, *et al.* Identification and characterization of mkk genes and their expression profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) symptomatically or asymptotically infected with *Vibrio anguillarum* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2022, 121: 1-11.
- [32] Guo Y J, Pan W W, Liu S B, *et al.* ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2020: 19(3): 1997-2007.
- [33] Moon S M, Lee S A, Han S H, *et al.* Aqueous extract of *Codium fragile* alleviates osteoarthritis through the MAPK/NF- $\kappa$ B pathways in IL-1 $\beta$ -induced rat primary chondrocytes and a rat osteoarthritis model [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 264-270.
- [34] Ran J S, Ma C Y, Xu K, *et al.* Schisandrin B ameliorated chondrocytes inflammation and osteoarthritis via suppression of NF- $\kappa$ B and MAPK signal pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 1195-1204.
- [35] Lu J S, Zhang H B, Pan J Y, *et al.* Fargesin ameliorates osteoarthritis via macrophage reprogramming by downregulating MAPK and NF- $\kappa$ B pathways [J]. *Arthritis Res Ther*, 2021, 23(1): 142.
- [36] Yang C M, Luo S F, Hsieh H L, *et al.* Interleukin-1 $\beta$  induces ICAM-1 expression enhancing leukocyte adhesion in human rheumatoid arthritis synovial fibroblasts: Involvement of ERK, JNK, AP-1, and NF- $\kappa$ B [J]. *J Cell Physiol*, 2010, 224(2): 516-526.
- [37] Xie J, Sun S J, Li Q Z, *et al.* MAPK/ERK signaling pathway in rheumatoid arthritis: Mechanisms and therapeutic potential [J]. *PeerJ*, 2025, 13: e19708.
- [38] de Oliveira R G, de Campos Castilho G R, da Cunha A L, *et al.* *Dilodendron bipinnatum* Radlk. inhibits pro-inflammatory mediators through the induction of MKP-1 and the down-regulation of MAPKp38/JNK/NF- $\kappa$ B pathways and COX-2 in LPS-activated RAW 264.7 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 202: 127-137.
- [39] Shen Y, Teng L, Qu Y H, *et al.* Anti-proliferation and anti-inflammation effects of corilagin in rheumatoid arthritis by downregulating NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 284: 114791.
- [40] Zhou Y, Li P F, Zhi Z W, *et al.* Vanillic acid ameliorates collagen-induced arthritis by suppressing the inflammation response via inhibition of the MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Inflammopharmacology*, 2025, 33(4): 1949-1963.
- [41] Mohammed H S, Elariny H A, Seif-Eldein N A, *et al.* Investigating the involvement of the NLRP3/ASC/caspase-1 and NF- $\kappa$ B/MAPK pathways in the pathogenesis of gouty arthritis: Insights from irradiated and non-irradiated *Trifolium alexandrinum* L. extracts and some metabolites [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 334: 118566.

【责任编辑 金玉洁】