

## 基于网络药理学及分子对接探讨豨薟草治疗膝骨关节炎的作用机制

刘广东<sup>1</sup>, 申意伟<sup>1\*</sup>, 刘加宝<sup>1</sup>, 宁兵<sup>1</sup>, 任树军<sup>2</sup>

1. 天津市滨海新区中医医院(天津中医药大学第四附属医院) 骨伤科, 天津 300451

2. 黑龙江中医药大学附属第一医院 骨伤科, 黑龙江 哈尔滨 150040

**摘要:** **目的** 通过网络药理学及分子对接技术探讨豨薟草治疗膝骨关节炎的作用机制。**方法** 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)等数据库筛选豨薟草的活性成分及作用靶点,并与膝骨关节炎疾病靶点进行比对,获得共有靶点。构建“药物-活性成分-靶点-疾病”及蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,进行网络拓扑分析筛选核心靶点及活性成分。运用基因本体(GO)功能注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析揭示其作用机制。利用分子对接技术验证关键活性成分与核心靶点的结合能力。**结果** 从TCMSP等数据库中筛选出豨薟草的9种潜在活性成分,包括常春藤皂苷元、豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇等,并确定68个靶点。与膝骨关节炎疾病靶点对比后,获得24个共有靶点。PPI网络及网络拓扑分析筛选出4个核心靶点,即Jun蛋白(JUN)、胱天蛋白酶3(CASP3)、B细胞淋巴瘤2(BCL2)、热休克蛋白90 $\alpha$ A1(HSP90AA1)。KEGG通路富集分析显示,这些共有靶点主要涉及NF- $\kappa$ B信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路以及NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体通路等。分子对接实验结果表明,豆甾醇与BCL2结合能最低,为-7.9 kJ/mol,具有较强的结合亲和力。**结论** 豨薟草的多种活性成分通过作用于JUN、CASP3等核心靶点,调控炎症、细胞凋亡等多条信号通路,发挥抗炎、保护软骨等作用。

**关键词:** 豨薟草; 膝骨关节炎; 网络药理学; 分子对接; 常春藤皂苷元; 豆甾醇;  $\beta$ -谷甾醇

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)07-1636-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.07.005

## Mechanism of *Siegesbeckia Herba* in treating knee osteoarthritis based on network pharmacology and molecular docking

LIU Guangdong<sup>1</sup>, SHEN Yiwei<sup>1</sup>, LIU Jiabao<sup>1</sup>, NING Bing<sup>1</sup>, REN Shujun<sup>2</sup>

1. Department of Orthopedics, Tianjin Binhai New District Traditional Chinese Medicine Hospital (The Fourth Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300451, China

2. Department of Orthopedics, The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of *Siegesbeckia Herba* in treating knee osteoarthritis based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** The active components and their targets of *Siegesbeckia Herba* were screened through databases such as traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP) and compared with the targets of knee osteoarthritis to obtain common targets. A “drug-active component-target-disease” network and a protein-protein interaction (PPI) networks were constructed. Network topology analysis was used to screen core targets and active components. Gene Ontology (GO) function annotation and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were used to reveal its mechanism of action. Molecular docking technology was used to verify the binding ability of key active components with core targets. **Results** Nine potential active components of *Siegesbeckia Herba* were screened from databases such as TCMSP, including hederagenin, stigmasterol, beta-sitosterol, etc., and 68 targets were identified. After comparison with the targets of knee osteoarthritis, 24 common targets were obtained. PPI network and network topology analysis screened out four core targets, namely Jun protein (JUN), Caspase-3 (CASP3), B-cell lymphoma 2 (BCL2), and heat shock protein 90 alpha family class A member 1 (HSP90AA1).

收稿日期: 2025-04-10

基金项目: 黑龙江中医药大学国家级项目配套项目(2019PT08); 天津市滨海新区中医医院科技项目(bhzy2024z02); 天津中医药大学骨伤研究所开放课题(2024GSQ01)

作者简介: 刘广东, 副主任医师, 硕士, 研究方向是中西医结合治疗骨关节病。E-mail: liuguangdong2024@126.com

\*通信作者: 申意伟, 副研究员, 主治医师, 研究方向是多维态系统化研究筋骨关节病与代谢的机制及针灸干预。E-mail: yellwell@qq.com

KEGG pathway enrichment analysis showed that these common targets were mainly involved in the NF- $\kappa$ B signaling pathway, mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway, and nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3 (NLRP3) inflammasome pathway. Molecular docking results showed that stigmaterol had the lowest binding energy with BCL2, at  $-7.9$  kJ/mol, indicating a strong binding affinity. **Conclusion** Multiple active components of *Siegesbeckia Herba* act on core targets like JUN and CASP3, regulating multiple signaling pathways such as inflammation and apoptosis, and exerting anti-inflammatory and cartilage-protective effects.

**Key words:** *Siegesbeckia Herba*; knee osteoarthritis; network pharmacology; molecular docking; hederagenin; stigmaterol; beta-sitosterol

膝关节炎是一种以关节软骨退行性变、滑膜炎及骨赘形成为主要病理特征的慢性关节疾病，临床表现为关节疼痛、活动受限及功能障碍<sup>[1]</sup>。全球范围内，膝关节炎在 60 岁以上人群中的患病率达 10%~15%，已成为导致中老年人致残的主要因素之一<sup>[1-2]</sup>。目前临床治疗以非甾体抗炎药、糖皮质激素注射及关节置换术为主，但长期使用存在胃肠道损伤、心血管风险及手术并发症等问题<sup>[3-4]</sup>。因此，探索安全有效的新型治疗策略成为医学研究的重要方向。

中医理论认为膝关节炎属于“骨痹”范畴，其病机以肝肾亏虚为本，瘀血阻络为标，治疗多采用补益肝肾、活血通络法<sup>[5-6]</sup>。豨莶草作为祛风湿、利关节的经典中药，早在《本草纲目》中即有“治诸风、湿痹”的记载。现代药理学研究表明，豨莶草提取物可通过抑制炎症因子释放、调节软骨代谢相关通路发挥抗关节炎作用<sup>[7-8]</sup>。研究证实，豨莶草能显著降低胶原诱导性关节炎大鼠滑膜组织中的白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 水平，并通过调控沉默调节蛋白 1/叉头框蛋白 O1 信号通路减轻软骨损伤<sup>[9-10]</sup>。临床观察也显示，含豨莶草的复方制剂可有效改善膝关节炎患者关节功能评分<sup>[4]</sup>。

网络药理学作为整合系统生物学与多向药理学的新兴研究方法，为解析中药多成分-多靶点-多通路作用机制提供了有效工具<sup>[11]</sup>。研究表明，豨莶草主要活性成分包括二萜类(如奇壬醇)、黄酮类及甾醇类化合物，这些成分可能通过干预核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 及丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 等信号通路发挥协同作用<sup>[12-14]</sup>。豨莶草中  $\beta$ -谷甾醇可通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) 通路抑制滑膜成纤维细胞增殖<sup>[15]</sup>，而奇壬醇则通过调节 Toll 样受体 4/髓样分化因子 88 信号轴降低关节腔炎症介质水平<sup>[16]</sup>。然而，现有研究多聚焦于单一成

分或通路，缺乏对豨莶草整体作用网络的系统解析，特别是关键活性成分与核心靶点的分子结合机制尚不明确。

基于此，本研究拟采用网络药理学方法筛选豨莶草治疗膝关节炎的活性成分及作用靶点，通过分子对接技术验证关键成分与核心靶点的结合能力，结合京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析揭示其多通路调控机制。研究结果将系统阐释豨莶草“成分-靶点-通路”多维作用网络，为豨莶草的临床应用提供科学依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 活性成分的筛选

以“豨莶草”为关键词，在中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, [https://www.tcmsp-e.com/load\\_intro.php?id=43](https://www.tcmsp-e.com/load_intro.php?id=43))、中国知网数据库 (<https://www.cnki.net/>)、PubMed 数据库 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)、药百科全书数据库 (ETCM, <http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/>)、中药研究综合数据库 (TCMID, <http://www.megabionet.org/tcmid/>) 合并筛选出化学成分，依据口服利用度 (OB)  $\geq 30\%$ 、类药性 (DL)  $\geq 0.18$  等条件，对豨莶草的活性成分进行初步筛选。若在 TCMSP 中未能全面获取相关信息，则可借助本草组鉴数据库等其他权威数据库进行补充检索，并可根据相对分子质量  $\leq 500$  等条件进一步筛选。随后，将筛选得到的有效成分输入 PubChem 数据库，按照脂水分配系数  $\leq 5$ 、氢键供体  $\leq 5$ 、氢键受体  $\leq 10$  等规则再次筛选，以确定豨莶草药物的有效成分。此后，在 PubChem 数据库中检索相应成分的 SMILES 和化学结构式，导入 SEA 数据库 (<https://sea.bkslab.org/>) 和 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 平台，选择物种为“Homo sapiens”，以此预测靶点基因名称和 Uniprot ID，并以 probability  $> 0.5$  为条件筛选相关靶点。最终，通过 Uniprot 数据库获取对应基因名称，成功构建了豨莶

草药物靶点数据库,为深入探究豨薟草治疗相关疾病的作用机制奠定了基础。

## 1.2 蛋白质靶点的识别

完成活性成分筛选后,需进一步预测这些成分的作用靶点。将筛选出的 19 种活性成分的结构信息输入 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>),该数据库依据化合物的结构特征预测其潜在的蛋白质靶点。为提升预测准确性,同时利用 PharmMapper 数据库 (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)对活性成分的靶点进行反向对接预测,PharmMapper 通过比较化合物与已知药物的相似性来识别潜在靶点。将 2 个数据库预测得到的靶点信息进行整合和去重,以确保靶点的全面性和准确性。借助 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>)对预测得到的靶点进行标准化,将靶点名称统一转化为人类基因名,以利于后续分析,这些靶点将成为后续研究豨薟草治疗膝骨关节炎机制的关键对象。

## 1.3 膝骨关节炎疾病靶点的收集

为获取膝骨关节炎相关基因与蛋白信息,通过 GeneCards (<http://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>)、DisGeNET (<https://disgenet.cn/>)等权威数据库,以“osteoarthritis”“knee”为关键词检索,全面收集膝骨关节炎疾病靶点。这些数据库提供了丰富的靶点数据,涵盖了疾病的发生、发展及病理过程中的关键分子。经过严格筛选和整合,去除了重复和不准确的信息,最终确定了膝骨关节炎的疾病靶点。这些靶点不仅包括已知的与膝骨关节炎密切相关的基因,还涵盖了新近研究发现的潜在靶点,为后续分析提供全面的靶点集合。对取的靶点进行整合与去重处理,以确保数据的准确性和完整性,从而获得膝骨关节炎的疾病靶点数据集,为后续研究提供坚实的数据基础。

## 1.4 “药物-活性成分-靶点-疾病”网络构建及筛选核心成分

借助 Cytoscape 3.9.1 软件创建“药物-活性成分-靶点-疾病”网络,将豨薟草的活性成分、作用靶点与膝骨关节炎疾病靶点整合进同一网络,直观呈现它们之间的相互关系。在该网络中,节点代表药物、活性成分、靶点或疾病,边则表示它们之间的相互作用。通过分析网络拓扑结构,筛选出具有高连接度(degree)值的节点,这些节点在网络中

起着关键作用,可能对豨薟草治疗膝骨关节炎具有重要意义。进一步分析这些关键节点之间的关联,确定豨薟草中哪些活性成分通过作用于哪些关键靶点来治疗膝骨关节炎。

## 1.5 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建及网络拓扑分析

在完成活性成分和靶点的筛选后,为深入探究豨薟草治疗膝骨关节炎的潜在机制,构建 PPI 并进行网络拓扑分析是关键步骤。对豨薟草活性成分作用靶点与膝骨关节炎疾病靶点进行交集分析,以确定共有靶点。随后,借助 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)构建 PPI 网络,将物种设定为“Homo sapiens”,并将最低相互作用阈值设为“medium confidence”( >0.4),以此确保网络的可靠性和相关性。将构建的 PPI 网络数据导出,并导入 Cytoscape 3.7.1 软件中,运用 NetworkAnalyzer 插件进行网络拓扑分析。通过 degree、betweenness centrality 和 closeness centrality 等参数筛选核心靶点,其中 degree 值较高的靶点通常在网络中具有更为重要的作用。

## 1.6 基因本体(GO)功能和 KEGG 通路富集分析

依托豨薟草与膝骨关节炎的共有靶点,运用 R 语言(v4.3.1)的 ClusterProfiler 包(v4.10.0)开展 GO 功能注释及 KEGG 通路富集分析。首先,利用 Org.Hs.eg.db 包将靶点基因符号转换为 Entrez ID,设置显著性阈值为  $p_{\text{AdjustMethod}} = \text{BH}$ (Benjamini-Hochberg 校正),筛选条件为  $P < 0.05$  且  $q < 0.2$ 。GO 分析涵盖生物过程(BP)、分子功能(MF)及细胞组分(CC)3 个维度,保留各分类前 10 位显著性条目,并通过 REVIGO 在线工具 (<http://revigo.irb.hr/>)去除冗余条目,生成语义关联树状图。

KEGG 通路富集分析以 KEGG 数据库 2023 版为基础,设定筛选条件为  $P < 0.05$  且涉及的基因数量不少于 5 个,着重筛选出与膝骨关节炎病理机制紧密相关的通路。与此同时,借助 Metascape 平台进行跨数据库验证,整合 Reactome 和 WikiPathways 的数据,构建通路-疾病交互网络,以进一步丰富和验证筛选结果。为提升结果可解释性,采用 ggplot2 包对前 15 的富集条目进行可视化,并标注核心靶点在通路中的分布位置。

## 1.7 分子对接

从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取关键成分的 SDF 格式结构文件作为配体。通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)获

取核心靶蛋白的 PDB 格式三维结构作为受体。借助 CB-Dock2 在线工具 (<https://cadd.labshare.cn/cb-dock2>) 开展分子对接, 并计算其结合能, 选取亲和力最优的构象作为最终的对接结果, 进而进行可视化分析。

## 2 结果

### 2.1 活性成分及靶点预测

共筛选得到豨薟草的有效成分 9 个, 包括常春藤皂苷元、豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇、(1R)-1-[(2S,4aR,4bS,7R,8aS)-7-羟基-2,4b,8,8-四甲基-4,4a,5,6,7,8a,9,10-八氢-3H-菲-2-基]乙烷-1,2-二醇、15 $\alpha$ -羟基-对映-贝壳杉-16-烯-19-酸、斑鸠菊酸、柯诺辛碱、西黄芩甙酸 II、西黄芩甙酸甲酯, 见表 1。通过 UniProt 数据库对这些成分的名称进行标准化处理, 转化为统一的基因 ID, 进而预测出 68 个主要活性成分的作用靶点。

### 2.2 膝骨关节炎靶点筛选和交集靶点的获取

经筛选得到豨薟草的 68 个潜在靶点, 将其与膝骨关节炎的 2 723 个靶点进行比对, 最终获得 24 个共有靶点, 见图 1。

### 2.3 “药物-活性成分-靶点-疾病”网络构建及筛选核心成分

“药物-活性成分-靶点-疾病”网络由 147 个节点与 325 条边构成, 见图 2, 经 degree 值评估, 排序前 5 位的化合物依次为  $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇、柯诺辛碱、常春藤皂苷元、(1R)-1-[(2S,4aR,4bS,7R,8aS)-7-羟基-2,4b,8,8-四甲基-4,4a,5,6,7,8a,9,10-八氢-3H-菲-2-基]乙烷-1,2-二醇。

表 1 豨薟草活性成分的基本信息

Table 1 Basic information of active components of *Siegesbeckia Herba*

Mol ID	成分名称	OB/%	DL
MOL000296	常春藤皂苷元	36.91	0.75
MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76
MOL000358	$\beta$ -谷甾醇	36.91	0.75
MOL004172	(1R)-1-[(2S,4aR,4bS,7R,8aS)-7-羟基-2,4b,8,8-四甲基-4,4a,5,6,7,8a,9,10-八氢-3H-菲-2-基]乙烷-1,2-二醇	46.70	0.31
MOL004177	15 $\alpha$ -羟基-对映-贝壳杉-16-烯-19-酸	58.73	0.38
MOL004179	斑鸠菊酸	37.63	0.19
MOL004180	柯诺辛碱	34.97	0.68
MOL004184	西黄芩甙酸 II	51.98	0.48
MOL004185	西黄芩甙酸甲酯	60.72	0.43

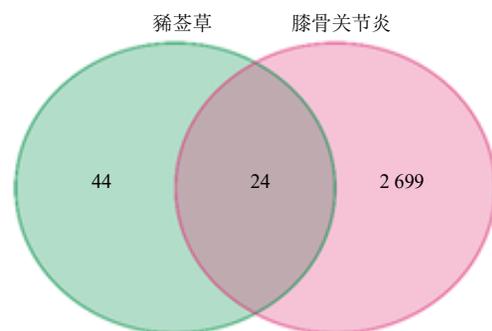


图 1 豨薟草与膝骨关节炎共有靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of common targets between *Siegesbeckia Herba* and knee osteoarthritis

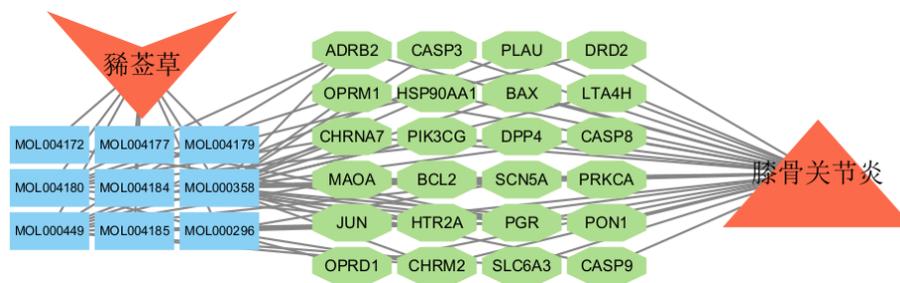


图 2 “药物-活性成分-靶点-疾病”可视化网络图

Fig. 2 Visualization Network of “Drug-Active Component-Target-Disease”

### 2.4 交集靶点 PPI 网络构建及核心靶点筛选

通过 STRING 数据库导入 24 个药物-疾病交集靶点构建 PPI 网络 (图 3A), 导出数据后, 运用 Cytoscape 软件的 NetworkAnalyzer 插件以 degree 中

位数为初步筛选条件进行网络拓扑分析, 得到 4 个核心靶点、6 条边的网络 (图 3B), 核心靶点分别为 Jun 蛋白 (JUN)、胱天蛋白酶-3 (CASP3)、B 细胞淋巴瘤 2 (BCL2)、热休克蛋白 90 $\alpha$ A1 (HSP90AA1)。

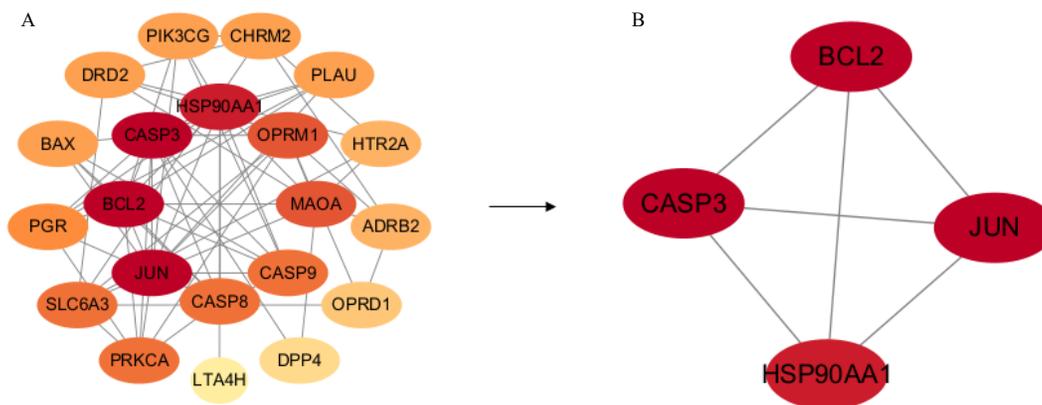


图 3 PPI 网络图 (A) 和 PPI 网络图第 1 次网络拓扑分析后 4 个核心靶点 (B)  
Fig. 3 PPI Network (A) and four core targets after the first network topology analysis (B)

### 2.5 GO 和 KEGG 富集分析

GO 通路富集分析, 分别筛选出排名前 10 的 BP、CC 和 MF。其中 BP 主要包括对尼古丁的反应、对生物碱的反应、对缺氧的反应、对氧水平降低的反应、对金属离子的反应、对氧水平的反应、激活磷脂酶 C 的 G 蛋白偶联受体信号通路、金属离子运输的调节、神经元凋亡过程的正调控、钙离子运输; CC 主要涉及突触后膜、突触前膜、线粒体外膜、质膜微囊 (脂筏)、细胞器外膜、轴突末端、外膜、突触膜、神经元突起末端、轴突远端; MF 则包括儿茶酚胺结合、神经递质受体活性、G 蛋白偶联胺受体活性、蛋白酶结合、泛素蛋白连接酶结合、泛素样蛋白连接酶结合、通道调节活性、转运体调节活性、死亡结构域结合、突触后神经递质受体活性, 见图 4。

对 KEGG 通路实施富集分析后, 共筛选出排名前 30 的通路, 其中涉及细胞凋亡 - 多物种、脂质与动脉粥样硬化、乙型肝炎、人类免疫缺陷病毒 1 型感染、化学致癌作用 - 受体激活、细胞凋亡、麻疹、铂类药物耐药、p53 信号通路、结直肠癌等方面, 见图 5。

### 2.6 分子对接

利用“药物 - 活性成分 - 靶点 - 疾病”网络中 degree 值排名前 3 位的中药活性成分  $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇、柯诺辛碱作为配体, 以及 PPI 网络中 degree 值排名前 3 位的核心靶点蛋白 JUN、CASP3、BCL2 作为受体, 进行分子对接验证并计算其结合能, 豆甾醇与 BCL2 结合能最低, 为  $-7.9 \text{ kJ/mol}$ , 见表 2。从中选取亲和力最佳的 3 对构象进行可视化展示, 见图 6。

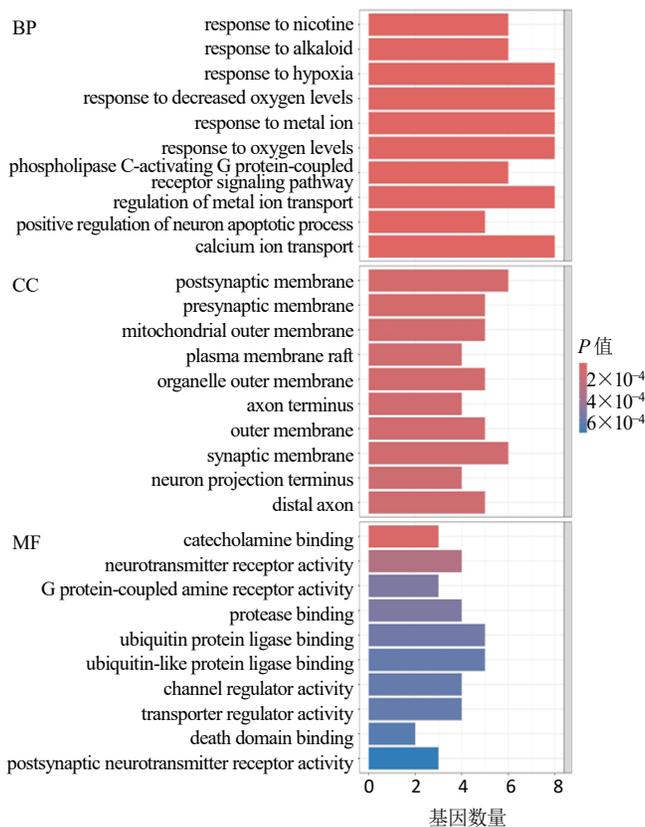


图 4 豨薟草治疗膝骨关节炎交集靶点 GO 分析  
Fig. 4 GO analysis of intersection targets of *Siegesbeckia Herba* in treating knee osteoarthritis

### 3 讨论

膝骨关节炎是一种常见的慢性退行性关节疾病, 其发病机制复杂, 主要涉及软骨细胞的代谢紊乱、炎症反应、细胞凋亡以及关节结构的改变<sup>[1-2, 12]</sup>。研究表明, 炎症因子如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等在膝骨关节炎发病过程中起重要作用, 它们不仅促进软骨基质

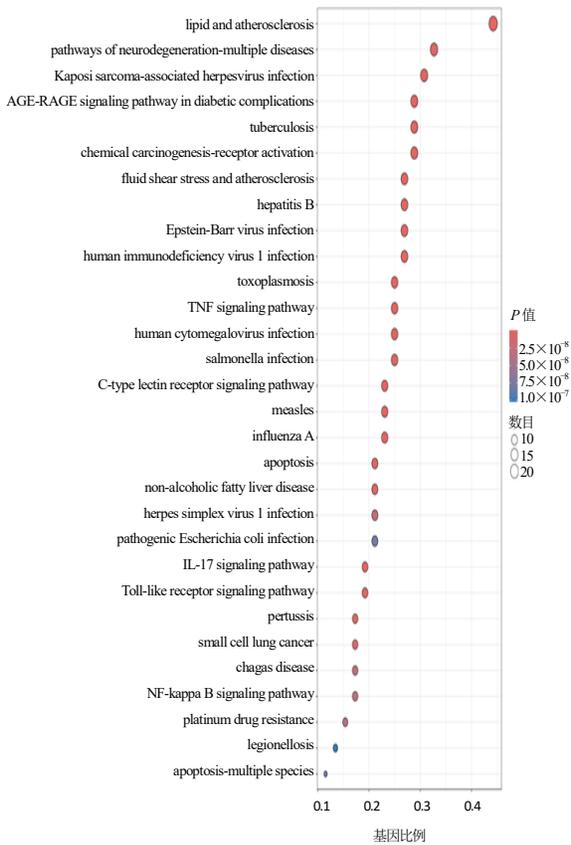


图 5 豨薟草治疗膝骨关节炎交集靶点 KEGG 富集分析  
Fig. 5 KEGG enrichment analysis of intersection targets of *Siegesbeckia Herba* in treating knee osteoarthritis

表 2 活性成分与靶点的结合能

Table 2 Binding energies of active components with targets

活性成分	结合能/(kJ·mol <sup>-1</sup> )		
	JUN	CASP3	BCL2
β-谷甾醇	-5.9	-6.7	-7.6
豆甾醇	-5.8	-6.9	-7.9
柯诺辛碱	-5.3	-6.6	-6.8

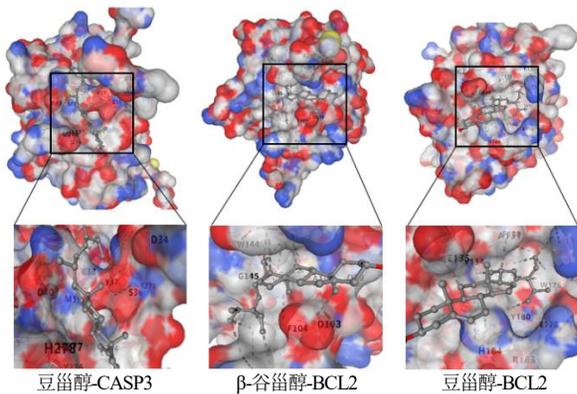


图 6 分子对接模式图

Fig. 6 Molecular docking mode diagram

的降解，还诱导软骨细胞凋亡，进一步加剧关节损伤<sup>[17]</sup>。此外，氧化应激反应也在膝骨关节炎发病中扮演关键角色，其可导致软骨细胞损伤和炎症反应的恶性循环<sup>[13]</sup>。豨薟草作为一种传统中药，在治疗膝骨关节炎方面具有显著的抗炎、镇痛和软骨保护作用<sup>[7-9]</sup>。从抗炎角度来看，豨薟草提取物可显著抑制炎症因子如 IL-1β、TNF-α 的释放，进而减轻关节炎炎症反应，缓解疼痛和肿胀症状<sup>[10, 18]</sup>。研究发现，豨薟草能通过调控 Toll 样受体/NF-κB 信号通路及抑制 NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体活化，减少炎症因子的产生与释放<sup>[16]</sup>。在软骨保护方面，豨薟草可上调软骨细胞外基质成分如蛋白聚糖、II 型胶原的表达，同时下调基质金属蛋白酶 (MMPs) 和含血小板反应蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶 (ADAMTS) 的表达，维持软骨细胞外基质的平衡，延缓软骨退变<sup>[19]</sup>。本研究基于网络药理学和分子对接技术，深入探讨了豨薟草治疗膝骨关节炎的作用机制，揭示了其多靶点、多通路的药理作用特点，为临床应用提供了理论依据。

本研究首先从 TCMSP 等数据库筛选出豨薟草的 9 种潜在活性成分，包括常春藤皂苷元、豆甾醇、β-谷甾醇等，并通过 Swiss Target Prediction 和 PharmMapper 数据库预测其作用靶点，最终确定 68 个靶点。将这些靶点与膝骨关节炎疾病靶点进行比较，获得 24 个共有靶点。基于这些靶点构建的 PPI 及网络拓扑分析，筛选出 4 个核心靶点，分别为 JUN、CASP3、BCL2 和 HSP90AA1。网络药理学分析表明，豨薟草中的主要活性成分如 β-谷甾醇、豆甾醇、柯诺辛碱、常春藤皂苷元等，通过与多种关键靶点蛋白相互作用，发挥治疗膝骨关节炎的作用。进一步的“药物-活性成分-靶点-疾病”网络分析表明，β-谷甾醇、豆甾醇和柯诺辛碱是豨薟草中对膝骨关节炎治疗作用的关键活性成分。β-谷甾醇在关节炎治疗中发挥着重要作用，它能够抑制类风湿性关节炎滑膜成纤维细胞的增殖、迁移和侵袭，同时降低炎症因子 IL-1β 和 IL-6 的水平，其作用机制与激活 PPARα 通路密切相关<sup>[15]</sup>。豆甾醇对骨关节炎和关节炎具有潜在的治疗作用。一方面，豆甾醇可通过激活核因子红细胞 2 相关因子 2 信号通路，抑制 NLRP3 炎症小体的激活，减少软骨细胞凋亡，从而减轻关节软骨损伤<sup>[17]</sup>；另一方面，豆甾醇还能抑制炎症介质的释放，调节免疫反应，缓解关节炎症状<sup>[20]</sup>。柯诺辛碱及其类似物主要在神经系统

相关疾病研究中受到关注，但鉴于炎症与神经系统之间存在密切关联，其可能通过调节神经-免疫相互作用影响关节炎的发展进程。研究表明，柯诺辛碱可调节  $\gamma$ -氨基丁酸能和单胺能神经传递，发挥镇静、抗焦虑和抗惊厥等作用<sup>[21-22]</sup>，这些作用可能间接影响关节炎微环境，对关节炎的治疗产生积极影响。常春藤皂苷元能够抑制炎症和软骨降解，从而改善骨关节炎的病情<sup>[23]</sup>。在体外实验中，常春藤皂苷元可上调聚集蛋白聚糖和 II 型胶原的水平，下调 MMPs 和 ADAMTS 的水平，抑制细胞外基质的降解<sup>[23]</sup>；在体内实验中，常春藤皂苷元显著减轻了碘乙酸钠诱导的大鼠软骨破坏，降低了炎症细胞因子水平，展现出良好的治疗效果。研究表明靶点蛋白涉及 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、MMP-3 等，这些蛋白在膝骨关节炎的炎症反应和软骨降解过程中起着关键作用<sup>[6, 16]</sup>。通过 KEGG 通路富集分析，进一步发现这些靶点蛋白主要涉及 NF- $\kappa$ B 信号通路、MAPK 信号通路以及 NLRP3 炎症小体通路、p53 信号通路、细胞凋亡通路等，这些通路在调节炎症反应、细胞凋亡和软骨代谢中发挥重要作用<sup>[16, 24]</sup>，表明豨莶草通过多通路协同作用，抑制炎症反应，保护关节软骨。分子对接实验进一步验证了豨莶草活性成分与关键靶点蛋白的结合能力，其中豆甾醇与 BCL2 结合能最低，为 -7.9 kJ/mol，表明其具有较强的结合亲和力。本研究结果表明，豨莶草通过多种活性成分作用于多个关键靶点，调节多条信号通路，发挥抗炎、抗氧化、抑制细胞凋亡及保护软骨等综合作用，从而有效治疗膝骨关节炎，为豨莶草的临床应用及新型膝骨关节炎治疗药物的开发提供了科学依据。

本研究在探讨豨莶草治疗膝骨关节炎的作用机制方面取得了一定成果，但仍存在一些不足。首先，本研究主要基于网络药理学和分子对接技术，虽然这些方法能够系统地预测活性成分和作用靶点，并构建相关的网络模型，但缺乏体内外实验的验证，无法直接证实预测结果的准确性和实际疗效。其次，虽然筛选出了关键活性成分和核心靶点，但对于这些成分在体内的代谢过程、药动学特征以及它们之间的相互作用机制尚未进行深入研究，这可能影响对豨莶草整体药效的理解。此外，研究仅关注了部分信号通路和靶点，对于其他可能参与膝骨关节炎治疗的潜在通路和靶点尚未全面涵盖，可能存在一定的局限性。未来的研究需要通过实验手段进一步验证预测结果，并深入探究豨莶草治疗膝

骨关节炎的全面机制，以更好地为临床应用提供科学依据。

综上所述，本研究通过网络药理学及分子对接探讨豨莶草治疗膝骨关节炎的作用机制，豨莶草的多种活性成分如  $\beta$ -谷甾醇等，通过作用于 JUN、CASP3 等核心靶点，调控炎症、细胞凋亡等多条信号通路，发挥抗炎、保护软骨等作用，为开发新型治疗药物提供理论依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国老年保健协会骨关节分会. 早期膝骨关节炎诊断与非手术治疗指南 (2024 版) [J]. 中华医学杂志, 2024, 104(31): 2895-2909.
- [2] 中国骨关节炎诊疗指南专家组, 中国老年保健协会疼痛病学分会, 黄东, 等. 中国骨关节炎诊疗指南 (2024 版) [J]. 中华疼痛学杂志, 2024, 20(3): 323-338.
- [3] 高宏伟, 于东旭, 韩继成, 等. 基于循证医学指南的膝骨关节炎非手术诊疗方案思考 [J]. 长春中医药大学学报, 2022, 38(9): 952-955.
- [4] 许学猛, 刘文刚, 许树柴, 等. 膝骨关节炎(膝痹)中西医结合临床实践指南 [J]. 实用医学杂志, 2021, 37(22): 2827-2833.
- [5] 杨浩宇, 王世坤, 杨东元, 等. 补肾活血中药治疗骨性关节炎与骨质疏松症“共病”机制研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(11): 3898-3905.
- [6] 李远栋, 杨琨, 王平, 等. 中药基于 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路治疗骨性关节炎的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6717-6723.
- [7] 颜蓉, 张祖良, 陈钟文, 等. 豨莶草提取物及其活性成分治疗关节炎的研究进展 [J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40(3): 783-786.
- [8] 李源, 曹垚垚, 程鹏宇, 等. 豨莶草对黄嘌呤氧化酶和环氧合酶-2 双重抑制作用的虚拟筛选 [J]. 药学研究, 2023, 42(2): 95-97.
- [9] 贾永利, 杨新明, 张培楠, 等. 豨莶草对胶原诱导性大鼠关节炎的治疗作用 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(2): 199-204.
- [10] 唐晓栋, 赵庆, 兰晓飞, 等. 豨莶草调控 sirt1/FOXO1 通路对膝骨关节炎大鼠软骨损伤的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(4): 439-444.
- [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] Lyu X Q, Wang X Y, Wang Y L, et al. Research progress in arthritis treatment with the active components of *Herba siegesbeckiae* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 169: 115939.

- [13] 刘鲁平, 王锡友, 张龄匀, 等. 基于指南意见构建膝骨关节炎中西医结合临床路径 [J]. 国际中医中药杂志, 2025, 47(1): 9-17.
- [14] Wang F F, Liu J, Fang Y Y, *et al.* Effect of *Siegesbeckia Herba* on immune-inflammation of rheumatoid arthritis: Data mining and network pharmacology [J]. *Eur J Integr Med*, 2023, 59(6): 82-91.
- [15] 谷慧敏, 孟庆良, 左瑞庭, 等.  $\beta$ -谷甾醇对类风湿性关节炎滑膜成纤维细胞功能的影响及机制 [J]. 中国药房, 2023, 34(15): 1847-1852.
- [16] 冯佳, 刘义, 郝润璇, 等. 豨莶草醇提物调控 TLRs/NF- $\kappa$ B 通路及 NLRP3 炎症小体干预痛风性关节炎的机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(3): 264-269.
- [17] Ding L, Lin H J, Ma Z D, *et al.* Stigmasterol mitigates rheumatoid arthritis progression by decreasing Nrf2/NLRP3-mediated pyroptosis in chondrocyte [J]. *Mol Immunol*, 2025, 179(1): 9-17.
- [18] 董桦, 李桂华, 赵娜, 等. 豨莶草提取物对膝骨关节炎大鼠软骨组织损伤及 NOX2/ROS/NF- $\kappa$ B 通路的影响 [J]. 山东医药, 2020, 60(26): 33-36.
- [19] Huh J E, Baek Y H, Lee J D, *et al.* Therapeutic effect of *Siegesbeckia pubescens* on cartilage protection in a rabbit collagenase-induced model of osteoarthritis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2008, 107(3): 317-328.
- [20] Lu D, Yang Y, Ma W, *et al.* Stigmasterol depresses the proliferation and facilitates the apoptosis of fibroblast-like synoviocytes via the PI3K/Akt signaling pathway in collagen-induced arthritis rats [J]. *Altern Ther Health Med*, 2024, 30(8): 338-345.
- Arias H R, Kazmierska-Grebowska P, Kowalczyk T, *et al.* Coronaridine congeners induce anticonvulsant activity in rodents by hippocampal mechanisms involving mainly potentiation of GABAA receptors [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 982(3): 176911-176920.
- [21] Arias H R, Do Rego J L, Do Rego J C, *et al.* Coronaridine congeners potentiate GABA A receptors and induce sedative activity in mice in a benzodiazepine-insensitive manner [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2020, 101: 109930.
- [22] Shen Y, Teng L, Qu Y, *et al.* Hederagenin suppresses inflammation and cartilage degradation to ameliorate the progression of osteoarthritis: An *in vivo* and *in vitro* study [J]. *Inflammation*, 2022, 46(2): 655-678.
- [23] 韦乃球, 周玲梅, 成观凤, 等. 祛风湿中药威灵仙、豨莶草对痹证大鼠作用的性-效关系研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(13): 1520-1528.

【责任编辑 金玉洁】