

金银花抗肺癌作用机制的网络药理学研究

杨娟, 于晓涛, 郭丽娜, 王单单, 吴作敏, 王瑞*

漯河市中心医院 药学部, 河南 漯河 462300

摘要: **目的** 采用网络药理学方法研究金银花抗肺癌的主要有效成分和潜在作用靶点, 探讨其“多成分-多靶点-多通路”的抗肺癌作用机制。**方法** 通过PubMed、TCMSP数据库筛选金银花的主要活性成分和相关成分的作用靶点, 并把口服生物利用度(OR) $\geq 20\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.1 作为筛选金银花活性成分的条件。通过CTD在线数据库检索与肺癌有关的作用靶点, 采用String数据库分别构建金银花成分靶点和肺癌相关作用靶点的PPI网络图, 并利用cytoscape 3.7获得两个PPI网络图的交集网络, 筛选出与肺癌有关的关键作用靶点。最后对关键靶点进行通路富集分析研究其作用的信号通路。**结果** 金银花治疗肺癌的主要活性成分有槲皮素、芦黄素、山柰酚、毛地黄黄酮等。金银花与肺癌相关的潜在作用靶点有38个, 如PON1、NQO1、AHR、MMP10、CYP1A2、CYP1B1、GJA1、NOS2、RXRA、IL10等。共富集出18条与以上38个关键靶点有关的信号通路, 如膀胱癌、细胞色素p450氧化酶、甲状腺癌、小细胞肺癌、子宫内膜癌等。此外, 金银花还参与调节炎症反应、脂质代谢、细胞凋亡等生物过程, 显示了金银花“多成分-多靶点-多通路”共同发挥协同作用的特点。**结论** 为研究金银花抗肺癌的药效物质基础和作用机制提供新思路, 为金银花的进一步开发应用提供了科学依据。

关键词: 金银花; 肺癌; 网络药理学; 作用机制

中图分类号: R969

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)02-0213-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.02.007

Study of *Lonicera japonica* Thunb against lung cancer based on pharmacological network

YANG Juan, YU Xiaotao, GUO Lina, WANG Dandan, WU Zuomin, WANG Rui

Department of Pharmacy, Luohe Central Hospital, Luohe 462300, China

Abstract: **Objective** The main effective components and action pathway of *Lonicera japonica* against lung cancer were studied by network pharmacology, to explore the anti-lung cancer mechanism of "multi-component - multi-target - multi-pathway". **Methods** PubMed and TCMSP databases were used to screen the main active ingredients of *Lonicera japonica*, and oral bioavailability (OR) $\geq 20\%$ and chemotherapy-like (DL) ≥ 0.1 were used as the conditions for screening the active components of *Lonicera japonica*, then Cytoscape 3.7 was used to construct the network diagram of "component-target". PPI network graph between honeysuckle component targets and lung cancer related targets was constructed through CTD and String database, then the intersection network of the two PPI network graphs was analyzed. **Results** The main active ingredients of *Lonicera japonica* in treatment of lung cancer include quercetin, coniferin, kaempferol and foxglove and so on. It may act on 38 lung cancer related targets, such as PON1, NQO1, AHR, MMP10, CYP1A2, CYP1B1, GJA1, NOS2, RXRA, IL10 and so on. It was regulated by 18 signaling pathways including bladder cancer, cytochrome P450, drug metabolism - cytochrome p450, thyroid cancer and endometrial cancer and so on. The results showed that *Lonicera japonica* anti-lung cancer "multi-component - multi-target - multi-pathway" action mechanism characteristics. **Conclusions** This study provides a scientific basis for the analysis of the mechanism of action of *Lonicera japonica* in the treatment of lung cancer, and points out the direction for the further experimental confirmation of the anti-lung cancer target and its signaling pathway of the active components of *Lonicera japonica*.

Key words: *Lonicera japonica* Thunb; lung cancer; network pharmacology; mechanism

肺癌是当今发病率和死亡率增长最快, 对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一, 约占全世界

每年新发癌症病例的12%, 而且其病情进展快、预后差, 所以治疗倍受关注^[1]。而中草药由于其多成

收稿日期: 2019-10-09

第一作者: 杨娟(1987—), 女, 本科, 药师, 从事制剂质量标准控制。Tel: (0395)3356189 E-mail: 1002748102@qq.com

*通信作者: 王瑞(1974—), 男, 硕士, 主任药师, 从事中药制剂研发工作。E-mail: yaoxuebul16@126.com.

分多靶点共同发挥协同治疗作用,在治疗肺癌方面具有提高患者生活质量、降低毒副作用、延长患者生存时间等明显优势^[2]。金银花又名忍冬花,为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花^[3]。金银花中主要化学成分有有机酸类、挥发油类、黄酮类、环烯醚萜类、三萜及三萜皂苷类和微量元素,具有宣散风热、清热解毒等功效^[4],现代药理研究表明,其具有抗炎、解热、调节免疫功能、利胆、保肝、降血脂、降糖、抗血小板凝聚等生物活性,临床可用于治疗钩端螺旋体病、毛囊炎、慢性前列腺炎、高脂血症、恶露不尽等^[5]。值得惊喜的是,近几年的临床案例发现其还在治疗肺癌方面具有显著疗效^[6-8]。由于金银花成分比较复杂,通过多靶点、多途径、多层次的整合调控产生协同功效,其治疗肺癌的主要物质基础和作用机制尚未完全阐明。因此,本研究通过网络药理学将药物多成分、多靶点、多通路的关系展现出来,探索金银花有效成分作用的靶点及其治疗疾病的作用机制,为金银花治疗肺癌提供新契机。

1 方法

1.1 筛选金银花活性成分

金银花含有多种成分,主要为有机酸类、挥发油类、黄酮类、环烯醚萜类、三萜及三萜皂苷类和微量元素等。通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)在线数据库提取金银花的有关化学成分236个。在此基础上以口服生物利用度(OB)≥20%和类药性(DL)≥0.1作为筛选金银花活性成分的前提条件,并结合文献报道筛选金银花主要活性成分。

1.2 金银花活性成分作用靶点筛选及“成分-靶点”网络图构建

通过TCMSP在线数据库检索活性成分的作用靶点,采用UniProt数据库将靶点数据进一步确认,选择物种为人(human)。采用Cytoscape 3.7数据库构建金银花“成分-靶点”的网络图,再用Cytoscape 3.7的Network Analyzer插件分析以上网络图研究金银花活性成分和作用靶点的相互作用关系。

1.3 获得肺癌相关靶点

利用CTD在线数据库平台,把“Lung cancer”作为筛选条件,提取与肺癌相关的作用靶点,得到与肺癌相关的基因128 791个,查阅相关文献选择其中671个主要靶点作为研究目标。

1.4 构建成分靶点和肺癌靶点的PPI网络图并筛选相关靶点

利用String数据库分别构建人金银花活性成分

作用靶点和肺癌相关靶点的蛋白质交互网络图(PPI)。将两个PPI网络图导入Cytoscape 3.7数据库,筛选相关靶点,即可获得金银花治疗肺癌的潜在作用靶点^[9]。

1.5 肺癌靶点通路分析

把获取的抗肿瘤靶点信息利用插件JEPETTO进行GO富集分析和KEGG通路注释分析^[10],根据信号通路富集分析结果研究金银花治疗肺癌潜在作用机制。

2 结果

2.1 金银花主要活性成分筛选

通过TCMSP在线数据库提取金银花主要活性成分,共有236个。在此基础上符合OB≥20%和DL≥0.1的有55个,根据文献报道选取其中40个有相关靶点的主要活性成分作为研究目标,见表1。

2.2 构建金银花“成分-靶点”网络图

通过TCMSP数据库筛选出金银花所选活性成分的有效靶点共223个,利用Cytoscape 3.7软件构建“成分-靶点”网络图,见图1。该图反应了金银花活性成分与靶点之间的作用关系。从图中可看出,其中包含263个节点(40个活性成分和223个靶点);600条边,表示活性成分与靶点的相互作用关系。在网络中,高度值和介数值的节点可反应节点的重要性。图中节点的大小表示度的大小,其中c40(槲皮素, quercetin)的度最大,有145个靶点,为网络的中心节点,这个活性成分与靶点的相互作用在网络中起到了关键作用。其次重要的活性成分有黄芩素、山柰酚、毛地黄黄酮、β-谷甾醇、豆甾醇,它们的作用靶点数分别为72、57、55、33、29。槲皮素具有较好的祛痰、止咳作用,并有一定的平喘作用,此外还有降低血压、增强毛细血管抵抗力、减少毛细血管脆性、降血脂、扩张冠状动脉,增加冠脉血流量等作用。在抗肿瘤方面,槲皮素能显著抑制促癌剂的作用、抑制离体恶性细胞的生长、抑制艾氏腹水癌细胞DNA、RNA和蛋白质合成。从图中可看出,不同类型成分作用靶点数目和种类不同,同一靶点也对应不同数目和种类的活性成分,体现出金银花是多成分、多靶点整体协作治疗疾病的。

2.3 构建PPI网络图并筛选相关靶点

利用CTD在线数据库平台,最终可获得与肺癌相关的主要靶点671个,然后通过String数据库分别构建金银花活性成分作用靶点和肺癌相关的作用靶点的PPI网络图,见图2、3。图2是金银花活性成分作用靶点的PPI网络图,可观察到有126个靶点,1 607条相互作用线;图3是肺癌相关的作用靶点的

表1 金银花主要活性成分

Table 1 Main active constituents of *Lonicera japonica*

序号	化合物	OB/%	DL
c1	methyllinolenate	46.15	0.17
c2	mandenol	42	0.19
c3	ethyl linolenate	46.1	0.2
c4	copaene	29.47	0.12
c5	methyl linoleate	41.93	0.17
c6	tricin	27.86	0.34
c7	oleanolic acid	29.02	0.76
c8	β -cubebene	32.81	0.11
c9	junipene	44.07	0.11
c10	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24
c11	(-)-(3 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>R</i> ,9 <i>aS</i> ,10 <i>aS</i>)-9-ethenyl-8-(β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-2,3,9,9 <i>a</i> ,10,10 <i>a</i> -hexahydro-5-oxo-5H,8H-pyrano[4,3- <i>d</i>]oxazolo[3,2- <i>a</i>]pyridine-3-carboxylic acid	87.47	0.23
c12	secologanic dibutylacetal	20.05	0.67
c13	secologanic dibutylacetal	53.65	0.29
c14	2 <i>H</i> -pyran-5-carboxylic acid, 4-(2,2-dimethoxyethyl)-3-ethenyl-2-(β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-3,4-dihydro-, methyl ester, (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-	22.59	0.45
c15	3-Ethenyl-2-(β - <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-3,4-dihydro-4-(2-oxoethyl)-2 <i>H</i> -pyran-5-carboxylic acid, methyl ester	23.59	0.36
c16	(3 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-6-hydroxy-3-methoxy-5-vinyl-4,4 <i>a</i> ,5,6-tetrahydro-3 <i>H</i> -pyrano[5,4- <i>c</i>]pyran-1-one	60.89	0.1
c17	β -carotene	37.18	0.58
c18	b- <i>D</i> -Glucopyranoside, (3 <i>b</i> ,22 <i>E</i>)-stigmasta-5	43.83	0.76
c19	(5 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i>)-6,10,14-trimethylpentadeca-5,9,13-trien-2-one	37.84	0.1
c20	chryseriol	35.85	0.27
c21	secologanoside	26.92	0.37
c22	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)chromone	51.96	0.41
c23	2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-hydroxy-7-methoxy-chromone	29.24	0.34
c24	flavone der.	27.12	0.27
c25	methyl octadeca-8,11-dienoate	41.93	0.17
c26	centauroside_qt	55.79	0.5
c27	dehydroxymorroniside	20.69	0.46
c28	ioniceracetalides B_qt	61.19	0.19
c29	loniceracetalide A	28.29	0.58
c30	loniceracetalide A_qt	89.38	0.17
c31	dinethylsecologanoside	48.46	0.48
c32	sitogluside	20.63	0.62
c33	β -sitosterol	36.91	0.75
c34	kaempferol	41.88	0.24
c35	stigmasterol	43.83	0.76
c36	(-)-caryophyllene oxide	32.67	0.13
c37	luteolin	36.16	0.25
c38	alloaromadrene	53.46	0.1
c39	apigenin	23.06	0.21
c40	quercetin	46.43	0.28

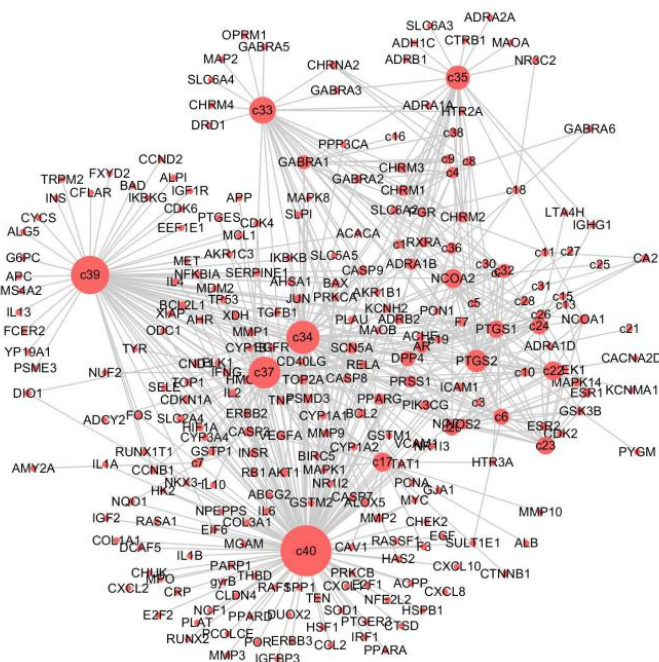


图1 金银花“成分-靶点”网络图

Fig. 1 Honeysuckle composition-target network

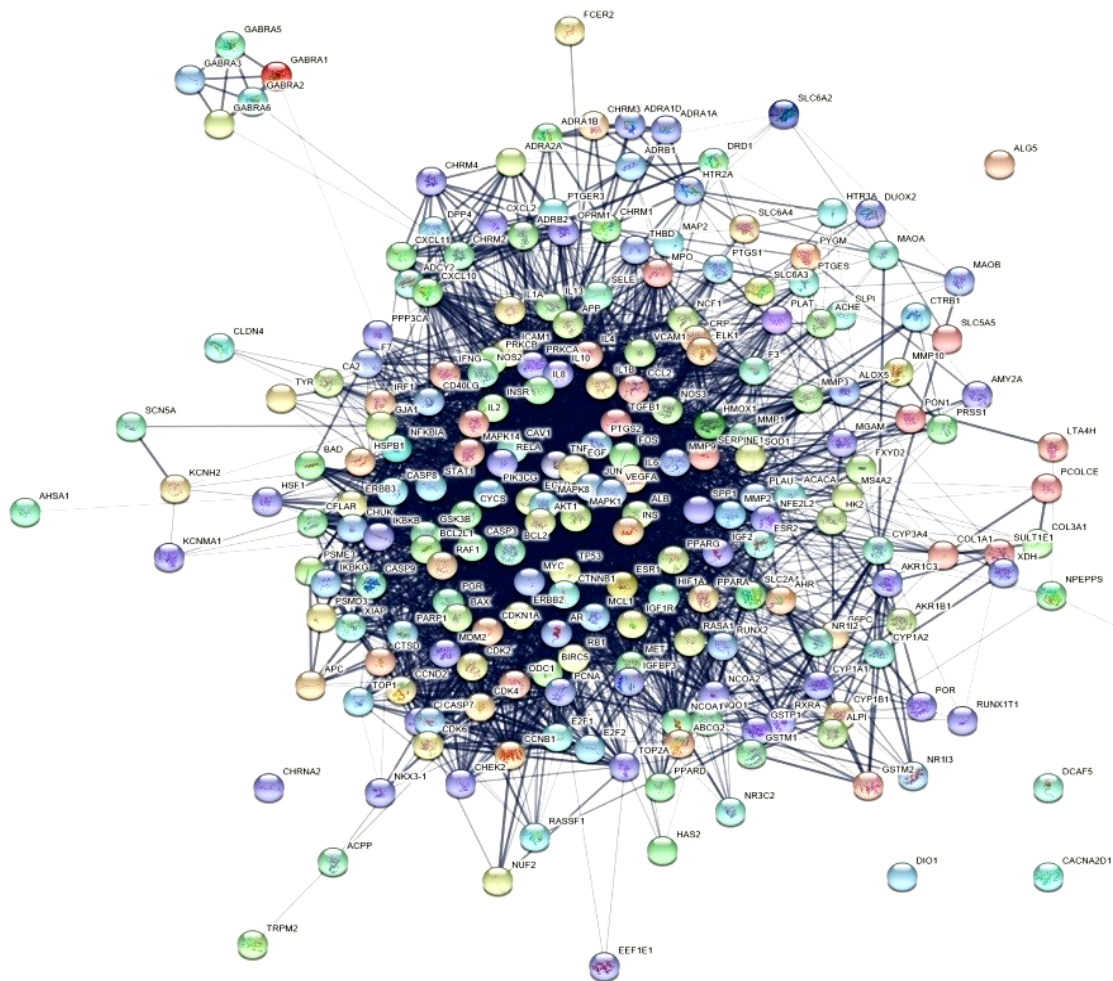


图2 金银花活性成分作用靶点的PPI网络图

Fig. 2 PPI network diagram of active ingredient target of *Flos Lonicerae*

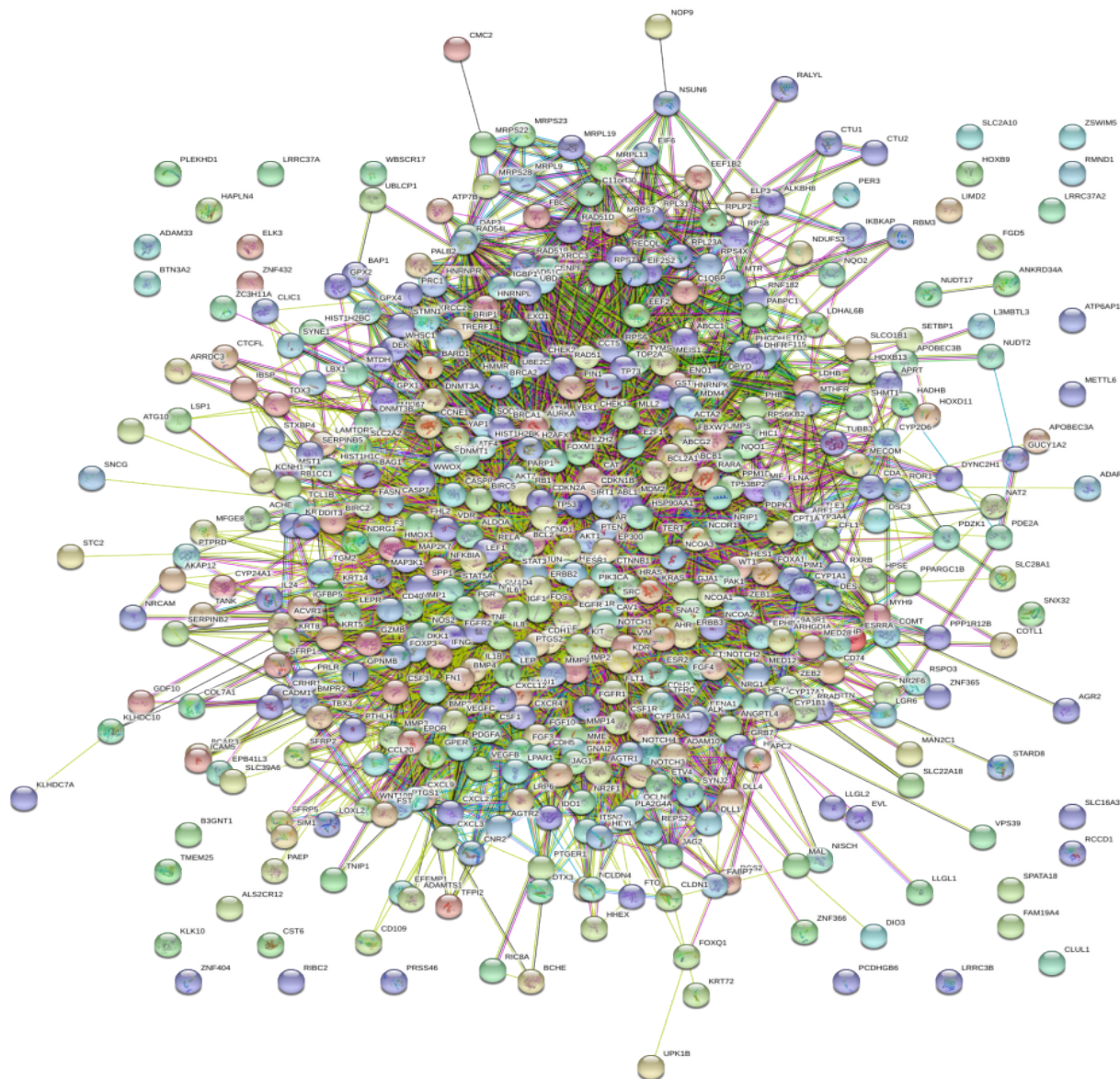


图3 肺癌相关的作用靶点的PPI网络图

Fig. 3 PPI network of lung cancer-related targets

PPI网络图,有410个靶点,5 739条相互作用线。然后用Cytoscape 3.7软件获得金银花活性成分作用靶点和肺癌相关的作用靶点的PPI网络图的交集图,见图4,可观察到金银花活性成分作用靶点与肺癌相关靶点的共同靶点有38个,体现了金银花活性成分作用靶点和肺癌相关靶点之间的相互联系,这些潜在靶点是研究的主要方向。

2.4 肺癌靶点通路分析

利用JEPETTO插件分析筛选出的38个潜在靶点,进行GO富集分析和KEGG靶点通路注释分析。通过GO富集分析,获取生物学过程、细胞定位和分子功能的富集情况,预测靶点的功能分布,结果见表2。可知靶点在生物过程中,对线粒体膜通透性

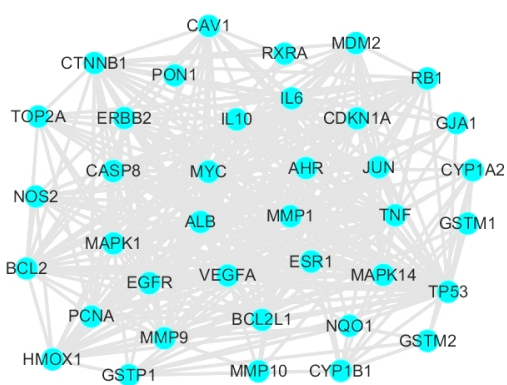


图4 活性成分作用靶点与肺癌相关作用靶点交集网络图

Fig. 4 Intersection network of active component targets and lung cancer-related targets

表2 金银花活性成分GO富集分析

Table 2 Analysis of GO enrichment of active components in *Flos Lonicerae*

	通路	XD得分	q值	Overlap/Size
生物过程	Regulation of mitochondrial membrane permeability	1.011 76	0.000 53	3/11
	Release of cytochrome c from mitochondria	0.873 23	0	5/21
	Macrophage differentiation	0.843 93	0.000 63	3/13
	Replicative senescence	0.720 85	0.012 33	2/10
	Regulation of ERK1 and ERK2 cascade	0.720 85	0.012 33	2/10
	Response to caffeine	0.720 85	0.012 33	2/10
	Regulation of mitochondrial membrane potential	0.720 85	0.012 33	2/10
	Regulation of angiogenesis	0.682 76	0.000 10	4/21
	Collagen catabolic process	0.670 85	0.001 12	3/16
	Cellular response to glucocorticoid stimulus	0.648 13	0.014 35	2/11
	Nitric oxide biosynthetic process	0.648 13	0.014 35	2/11
细胞组分	Fascia adherens	0.578 38	0.031 36	2/13
	Protein-DNA complex	0.362 99	0.312 99	1/10
	Connexon complex	0.362 99	0.312 99	1/10
	Nuclear body	0.350 09	0.011 28	3/31
	Apical junction complex	0.326 63	0.312 99	1/11
	Nuclear chromosome	0.326 63	0.064 13	2/22
	Contractile fiber	0.326 63	0.312 99	1/11
	Pseudopodium	0.326 63	0.312 99	1/11
	Nuclear euchromatin	0.326 63	0.312 99	1/11
分子功能	Glutathione transferase activity	0.758 46	0.026 01	2/10
	Protein phosphatase 2A binding	0.573 84	0.037 08	2/13
	Cell surface binding	0.529 88	0.037 08	2/14
	MAP kinase activity	0.491 79	0.037 08	2/15
	Monooxygenase activity	0.458 46	0.037 08	2/16
	Hsp90 protein binding	0.458 46	0.037 08	2/16
	R-SMAD binding	0.429 04	0.037 08	2/17
	Fibronectin binding	0.402 90	0.038 53	2/18
	Oxygen binding	0.402 90	0.038 53	2/18

的调节影响较大;在细胞组分中,黏合膜较重要;在分子功能中,谷胱甘肽转移酶的活性影响突出。

KEGG通路注释分析结果显示,金银花抗肺癌作用的38个潜在靶点主要与18条相关信息通路有关,见表3。其中与代谢相关的通路为细胞色素p450氧化酶、亚油酸代谢、视黄醇代谢;与癌症相关的通路为膀胱癌、甲状腺癌、子宫内膜癌、前列腺癌、胰腺癌、胶质瘤、结直肠癌、非小细胞肺癌、慢性髓细胞性白血病、小细胞肺癌、黑色素瘤。

3 讨论

肺癌是一种常见的临床表现比较复杂的肺部恶性肿瘤。近几年,随着吸烟及各种环境因素的影响,世界各国特别是工业发达国家,肺癌的发病率

和病死率都在持续上升,已经成为我国发病率增幅最快的癌症之一。肺癌的多学科综合治疗目前已达成共识,临床上可采用多种药物治疗,主要包括化疗药及中成药。现代药理证实,金银花含有绿原酸VII、三甲基黄酮及芦丁VI等多种活性物质,具有极强的抗炎、清热解毒、抗肿瘤、增强免疫功能作用^[11],而且有研究表明金银花的多酚粗提物能够在肺癌治疗中起显著作用,但其他化学成分的抗肺癌作用尚未见报道,具体作用机制也还不甚明确。

中药主要是通过多成分、多靶点、多途径的协同作用来获得治疗效果,这与网络药理学研究策略的整体性、系统性特点不谋而合,所以近年来,网络药理学在中药研究中的应用发展迅速,为分析中草

表3 金银花KEGG通路
Table 3 KEGG pathway of *Flos Lonicerae*

通路	XD得分	q值	Overlap/Size
Bladder cancer	0.946 52	0.000 00	10/38
Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	0.693 89	0.000 23	4/20
Drug metabolism - cytochrome P450	0.599 77	0.002 74	3/17
Thyroid cancer	0.533 89	0.000 52	4/25
Endometrial cancer	0.373 89	0.000 07	6/50
Prostate cancer	0.370 08	0	10/84
Pancreatic cancer	0.293 89	0.000 04	7/70
Glioma	0.293 89	0.000 14	6/60
Dorso-ventral axis formation	0.293 89	0.062 85	2/20
Colorectal cancer	0.287 33	0.000 14	6/61
Non-small cell lung cancer	0.286 05	0.000 52	5/51
Linoleic acid metabolism	0.257 52	0.298 74	1/11
Chronic myeloid leukemia	0.241 71	0.000 23	6/69
Small cell lung cancer	0.235 35	0.000 07	7/82
Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	0.234 31	0.004 09	4/47
Retinol metabolism	0.227 22	0.306 28	1/12
Melanoma	0.216 47	0.001 11	5/62
Leishmaniasis	0.216 47	0.001 11	5/62

药的治病作用提供了全新的视角^[12-14]。本研究通过网络药理学方法,解析了金银花治疗肺癌的活性成分、靶点和机制。本研究通过对获得的金银花的40种具有生物活性的化学成分进行分析发现槲皮素、芹黄素、山柰酚、毛地黄黄酮等对应的肺癌相关靶点个数较多,说明这些成分可能是金银花发挥抗肺癌作用的主要成分,为进一步研究其抗肺癌有效成分提供了新思路。通过网络药理学方法预测出金银花成分对应的靶点与肺癌相关的潜在共同作用靶点有38个,如PON1、NQO1、AHR、MMP10、CYP1A2、CYP1B1、GJA1、NOS2、RXRA、IL10等,说明这38个靶点可能是金银花发挥抗肺癌作用的主要作用靶点。对以上38个金银花抗肺癌的潜在作用靶点进行GO富集分析,结果表明金银花肺癌的生物相关的信号通路主要是通过调节线粒体膜通透性和谷胱甘肽转移酶的活性发挥作用。此外,通过对金银花成分对应的靶点与肺癌相关的潜在共同作用靶点进行KEGG通路富集分析,发现金银花主要是通过参与调节膀胱癌、细胞色素p450氧化酶的代谢、甲状腺癌、小细胞肺癌、子宫内膜癌等18条信号通路发挥抗肺癌作用,且这18条通路中11条都与恶性肿瘤相关。此外,金银花还参与调节炎症反应、脂质代谢、细胞凋亡等一系列生物过程,显

示出了金银花“多成分-多靶点-多通路”共同发挥协同作用特点。为研究金银花抗肺癌的药效物质基础和作用机制提供新思路,为金银花的进一步开发应用提供了科学依据。

参考文献

- [1] Park S J, Kim H T, Lee D H, et al. Efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors for brain metastasis in non-small cell lung cancer patients harboring either exon 19 or 21 mutation [J]. Lung Cancer, 2012, 77(3): 556-560.
- [2] Rossi A, Tay R, Chiramel J, et al. Current and future therapeutic approaches for the treatment of small cell lung cancer [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2018, 18(5): 473-486.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] 刘玉峰, 李鲁盼, 马海燕, 等. 金银花化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 2018, 45(3): 255-262.
- [5] 庄丽, 张超, 阿里穆斯. 金银花的药理作用与临床应用研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(2): 378-380.
- [6] 王玉林, 李红岩, 高亮. 四味金银花汤加减联合化疗治疗中心型非小细胞肺癌40例临床研究 [J]. 河北中医, 2016, 38(4): 541-544.
- [7] 陈垒, 张伟, 杜亚明. 金银花的多酚粗提物诱导人肺癌H1299细胞凋亡作用及机制研究 [J]. 中药药理与临

- 床, 2018, 34(3): 89-93.
- [8] 冯春来, 袁 颖, 张海生, 等. 夏枯草抗肿瘤分子协同作用网络分析 [J]. 中成药, 2016, 38(9): 2003-2012.
- [9] 贺佐梅, 曾普华, 邵文辉, 等. 固肺消积饮治疗非小细胞肺癌作用机制的网络药理学分析 [J]. 中医杂志, 2018, 59(13): 1139-1143.
- [10] 高 耀, 高 丽, 高晓霞, 等. 基于网络药理学的逍遥散抗抑郁活性成分作用靶点研究 [J]. 药学报, 2015, 50(12): 1589-1595.
- [11] 范洪春. 中药金银花的药用成分及临床药理分析 [J]. 数理医药学杂志, 2015, 28(3): 407-408.
- [12] 王 娟, 李学军. 网络药理学与药物发现研究进展 [J]. 生理科学进展, 2011, 42(4): 241-245.
- [13] 徐文华, 郑景辉, 赵 阳, 等. 基于网络药理学和生物信息学的丹参酮IIA治疗冠心病的分子生物学机制分析 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1131-1140.
- [14] 郭 璐, 夏道宗, 骆叶姣, 等. 基于网络药理学探讨土茯苓治疗痛风的作用机制 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1413-1418.