

## 【药效学评价】

## 基于系统药理学探索裸花紫珠有效成分的作用机制

张力军<sup>1,2</sup>, 陈曦<sup>2</sup>, 冯世秀<sup>3</sup>, 王真真<sup>4</sup>, 苏东兰<sup>2</sup>, 易博<sup>2\*</sup>, 郭曲练<sup>1\*</sup>

1. 中南大学湘雅医院 麻醉科, 湖南 长沙 410008

2. 中国人民解放军第一八七医院, 海南 海口 571159

3. 深圳市中科院仙湖植物园 深圳市亚热带植物多样性重点实验室, 广东 深圳 518004

4. 西北农林科技大学 化学与药学院, 陕西 杨凌 712100

**摘要:** 目的 通过系统药理学方法探索裸花紫珠有效成分的药理作用机制。方法 运用文献搜索和TCMSP数据库, 建立裸花紫珠活性分子数据库, 通过对数据库中的120个分子从口服利用度、类药性分析等方面进行筛选, 预测出有潜在活性的分子, 并通过王永华教授团队研发的SYSDT以及WES技术进行靶标预测, 进而通过药物-靶标预测模型Sys TD、Drug Bank数据库等构建靶标-疾病-通路网络图, 并借助基因本体论(GO)分析裸花紫珠有效成分参与的生物学过程。结果 裸花紫珠中黄酮类化合物如木犀草素及其衍生物、甲基鼠李素和芹菜素等作用于较多的靶点, 在裸花紫珠的药效中起着关键作用; 其对炎症、癌症、心血管疾病、神经系统以及免疫系统均有影响, 其中ABCB1、NOS3、MAPK14、PPARG、GSK3 $\beta$ 、PTGS2等同时靶向治疗多种类型疾病和多种生物学通路。GO分析表明了裸花紫珠对炎症反应、凝血、血管生成、钙离子信号传导、血压等具有调节作用。结论 裸花紫珠黄酮类化合物在的药效中起关键作用, 通过ABCB1、NOS3、MAPK14等靶点对炎症反应、凝血、血管生成、钙离子信号传导、血压等发挥调节作用。

**关键词:** 系统药理学; 裸花紫珠; 作用机制; 抗癌; 抗炎; 黄酮; 丁香脂素; 木犀草素; 甲基鼠李素; 芹菜素

中图分类号: R962.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)10-1759-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.10.003

## Pharmacological mechanism exploration of *Callicarpa nudiflora* based on systems pharmacology

ZHANG Lijun<sup>1,2</sup>, CHEN Xi<sup>2</sup>, FEGN Shixiu<sup>3</sup>, WANG Zhenzhen<sup>4</sup>, SU Donglan<sup>2</sup>, YI Bo<sup>2</sup>, GUO Qulian<sup>1</sup>

1. Department of Anesthesiology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, 410008, China

2. 187 Military Hospital of China, Haikou 571159, China

3. Key Laboratory of Southern Subtropical Plant Diversity, Shenzhen Fairy Lake Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518004, China

4. College of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, Northwest A & F University, Yangling 712100, China

**Abstract: Objective** In this study, the method of systems pharmacology was used to explore the pharmacological mechanism of *Callicarpa nudiflora*. **Methods** The active molecule database of *C. nudiflora* was established by literature searching and TCMSP database. A total of 120 molecules were screened according to oral availability, drug-likeness analysis, blood brain barrier, and half-life to predict potential active molecules and targets based on SYSDT and WES technique established by Pro. Yonghua Wang. Screening was conducted from several aspects, including drug-target prediction model Sys TD, potential target prediction, disease analysis, network pharmacology analysis and GO analysis. **Results** Through the oral bioavailability, drug-likeness and blood-brain barrier analysis, 28 compounds were identified as effective active ingredients, including ones reported in the literature. There were 112 targets related to the 28 compounds, and the drug - target network revealed that Molecule M029 (luteolin) and its derivatives,

收稿日期: 2018-03-19

基金项目: 海南省财政科技计划资助(ZDYF2018228)

第一作者: 张力军(1978-), 研究生, 主治医师, 麻醉学。Tel: (0898)65920028 E-mail: daydreamne@163.com

\*通信作者: 易博, 副主任药师, 博士, 主要从事中药现代化研究与医院药学。E-mail: boyicn@126.com

郭曲练, 教授, 主要从事麻醉学。E-mail: qulianguo@hotmail.com

Molecule M040 (apigenin) and M042 (rhannazin) had a relatively high degree, they play significant roles in the drug - target network. The target - disease - pathways network analysis suggested that *C. nudiflora* had a good therapeutic effect on diseases including cancer, inflammation, metabolic disease, immune system disease, blood disease, cardiovascular disease, nervous system disease and bacterial infection. The GO analysis discovered that *C. nudiflora* had regulatory effects on cell proliferation, cell apoptosis, intracellular calcium concentration, inflammatory reaction, platelet activation, coagulation and angiogenesis, etc. In addition, the target NOS3, MAPK14, PIK3CG *et al.* were linked to a variety of diseases and biologic process. **Conclusions** Flavonoids from *Callicarpa nudiflora* play a key role in the pharmacodynamics. They regulate inflammation, coagulation, angiogenesis, calcium signal transduction and blood pressure through ABCB1, NOS3, MAPK14 and other targets.

**Key words:** system pharmacology; *Callicarpa nudiflora*; mechanism of action; anticancer; anti-inflammatory; flavonoids; syringaresinol; luteolin; rhannazin; apigenin

裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. ex Arn. 是马鞭草科紫珠属植物, 主要分布在我国的广东、海南和广西等省, 以干燥叶入药<sup>[1]</sup>, 其主要化学成分包含黄酮类、酚酸类、苯丙素类、二萜类、三萜类、环烯醚萜及其苷类和甾醇等<sup>[2]</sup>。2015年版《中国药典》新收录裸花紫珠中药品种, 具有消炎、解毒、收敛和止血作用, 临床用于细菌感染引起的炎症、急性传染性肝炎、呼吸道和消化道出血。现代药理研究表明, 裸花紫珠提取物具有止血、抗炎、抑菌、增强免疫、细胞毒等作用<sup>[3-7]</sup>, 但因中草药具有多成分、多靶点及相互协同等特点, 导致研究裸花紫珠的活性成分及潜在的药用靶点研究存在很大困难。由西北农林科技大学王永华教授团队开发的系统药理学, 是从系统水平研究药物与机体相互作用及其规律和作用机制的一门新兴学科, 即从分子、网络、细胞到组织、器官等不同水平上, 研究药物治疗疾病时引起机体功能变化的机制<sup>[8-9]</sup>, 为药物复杂作用的研究提供新的思路和视角。因此, 本研究利用系统药理学的方法, 对裸花紫珠 120 个化学成分从口服生物利用度 (OB)、类药性 (DL) 分析、血脑屏障、半衰期等几个方面进行了筛选, 最终预测 28 个活性成分, 并构建靶点-疾病-通路网络图, 为更全面的探索裸花紫珠的药理作用机制提供依据。

## 1 方法

### 1.1 裸花紫珠化合物数据库的构建

本研究构建的中药裸花紫珠化合物数据库采用的实验数据, 来自西北农林科技大学王永华教授团队开发的 TCMSP 数据库数据 (<http://lsp.nwu.edu.cn/>) 和文献查阅 (99 个分子), 考虑到口服药物中含糖苷类成分会在肠道菌群影响下发生去糖基化作用, 对化合物中含有糖基的分子进行了除糖基处理。以上所有化合物去重后得到 120 个化合物分子, 建立裸花紫珠化合物数据库。

### 1.2 裸花紫珠活性分子筛选

本研究以 OB≥30% 和 DL≥0.18, 以及部分报道过的有效分子化合物作为活性化合物的筛选标准, 将数据库中具有较高活性的化合物筛选出来。

OB 是药物动力学与代谢 (ADME) 中最重要的参数之一, 它表示一个口服用药剂量能够产生药效的百分数<sup>[10]</sup>。高的 OB 通常是决定生物活性分子 DL 的关键指标。因 OB 复杂难以预测, 使用西北农林科技大学王永华教授团队建立的计算机预测模型 OBioavail1.1 系统进行计算。

DL 是指一个分子包含一些特定的功能基团或者具有与大多数药物相同或相似的物理特征<sup>[11]</sup>。本研究中, 裸花紫珠化合物成分的 DL 评估使用 Tanimoto 系数计算得到, DL≥0.18 的化合物被认为是具有类药性。具体定义为:

$$T(x, y) = \frac{x \cdot y}{|x|^2 + |y|^2 - x \cdot y}$$

$x$  代表基于 Dargon 软件计算的裸花紫珠提取物化合物描述符;  $y$  代表基于 Dargon 软件计算的 Drugbank 数据库中所有 6 511 个化合物描述符的平均值。

### 1.3 候选分子作用靶标预测

Drug Bank 数据整合了药物结构、药理作用和作用靶标信息等, 借助在 TCMSP 上已构建好的潜在化合物数据和 Drug Bank 数据库进行链接, 通过西北农林科技大学王永华教授团队研发的 SYS 及 WES 计算及预测药物靶点模型筛选出潜在药物靶点<sup>[12]</sup>。

### 1.4 候选分子-靶点-疾病相互作用网络分析

为了研究中药材裸花紫珠的潜在活性成分与靶点、疾病之间的相互关系, 将裸花紫珠候选分子, 预测靶点和相关疾病映射到网络中, 借助药物-靶标预测模型 Sys TD 建了分子-靶标网络图, 借助 TCMSP 数据库、Drug Bank 数据库将 TTD 数据库中靶点-疾病对应关系整合到 TCMSP 中, 构建靶标-疾病-通路网络<sup>[13]</sup>。所有的网络图利用 Cytoscape3.1.1

软件绘制,在这个图示化的网络中,各种分子或疾病都是由节点代表,它们之间的相互关系是由节点之间的线来表示。

### 1.5 基因本体论分析

基因本体论(gene ontology, GO)分析包含分子功能、生物过程和细胞组成3个部分,是一个用于基因功能分类的系统,在本研究分析中借助基因本体论生物过程(gene ontology biological process, GOBP)分析<sup>[14]</sup>。使用 DAVID 数据库 (<https://>

[david.ncicrf.gov/](https://david.ncicrf.gov/))进行 GOBP 富集分析,以 *P* 值大小反应蛋白质群生物学功能显著性,判断标准为 *P* ≤ 0.05。

## 2 结果

### 2.1 裸花紫珠化合物数据库的构建

本研究通过 TCMSP 数据库和文献查阅共收集裸花紫珠 99 个化合物,去糖基化的化合物 21 个,共 120 个化合物构成裸花紫珠化合物数据库,通过筛选 OB ≥ 30%, DL ≥ 0.18, 以及部分报道过的有效分

表1 筛选的28个活性化合物的OB和DL

Table 1 OB and DL of 28 active compounds screened

分子编号	名称	OB/%	DL
M005	萨米碘苷(Samioside)	3.23	0.40
M007	麦角甾苷(acteoside)	2.94	0.62
M009	刺五加苷B(acanthoside B)	43.35	0.77
M009_qt	棘突(acanthosideB_qt)	55.67	0.72
M019	5, 4'-二羟基-3, 7, 3-三甲氧基黄酮(5, 4'-dihydroxy - 3, 7, 3'-trimethoxyflavone)	14.68	0.37
M022	5-羟基-3, 7, 3', 4'-四甲氧基黄酮(5-hydroxy-3, 7, 3', 4'-tetramethoxyflavone)	8.13	0.40
M028	木犀草苷(luteoloside)	2.68	0.78
M029	木犀草素(luteolin)	30.57	0.25
M030	木犀草素-3'-O-(6)反式咖啡酰基-β-D-吡喃葡萄糖苷[luteolin-3'-O-(6"-trans-caffeoyl)-β -D-glucopyranoside ]	5.51	0.58
M032-qt	木犀草素-3'-甲氧基-6-羟基-7-邻-β-D-吡喃葡萄糖苷(luteolin-3'-methoxyl-6-hydroxy -7-O-β-D-glucopyranoside_qt)	46.63	0.31
M040	芹菜素(apigenin)	57.35	0.21
M042	甲基鼠李素(rhamnazin)	13.33	0.34
M045	2α, 3α, 19α, 23-四羟基-URS-12, 20(30) - 二烯-28-酸(2α, 3α, 19α, 23-tetrahydroxy-urs -12, 20(30)-dien-28-oic acid)	34.70	0.70
M049	2α, 3α, 19α, 23-四羟基-URS-12 烯-28-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(2α, 3α, 19α, 23-tetrahydroxy -urs-12-en-28-O-β-D-glucopyranoside)	13.27	0.35
M057	2α, 3α, 24-三羟基-URS- 12-烯-28-酸(2α, 3α, 24-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid)	16.94	0.72
M062	齐墩果酸(Oleanolic acid)	17.73	0.76
M064	熊果酸(Ursolic acid)	37.73	0.75
M068	6"-O-反式阿魏酸卡他醇(6"-O-trans-feruloylcatalpol)	30.83	0.82
M069	6-O-反式阿魏酰卡他醇(6-O-trans-feruloylcatalpol)	31.38	0.83
M071	香草酸筋骨草醇(6-O-vanilloyl-ajugol)	31.82	0.86
M075	亚麻皂苷(linarioside)	10.91	0.84
M076	裸藻苷(nudifloside)	4.83	0.85
M081	3, 4-seco-12R, 13S-二羟基-4(18), 8(17), 14(15)-三烯-3-酸 [3, 4-seco-12R, 13S-dihydroxy - 4(18), 8(17), 14(15)-labdatrien-3-oic acid]	49.28	0.20
M083	愈创木酚内酯(callicarpaolide)	39.01	0.24
M085	愈创木酚酸(callicarpic acid)	64.39	0.23
M088	ent-3, 4-seco-16-hydroxy-12, 15-epoxy-4(18), 8(17), 12, 14-labdatetraen-3-oic acid	56.08	0.24
M090	syn-3, 4-seco-12R-hydroxy-15, 16-epoxy-4(18), 8(17), 13(16), 14(15)-labdatetraen-3-oic acid	64.39	0.23
M099	金色酰胺醇酯(Aurantiamide acetate)	58.02	0.52

子,得到28个具有优良药动学性质的活性成分,其中包括8个黄酮类化合物和15个萜类化合物,具体化合物信息如表1所示,其结构如图1所示。

## 2.2 靶点预测结果

裸花紫珠的主要作用靶点有112个,靶标预测结果见表2。

图1 活性化合物结构式

Fig. 1 Structure of active compounds

## 2.3 药物-靶点-疾病相互作用网络分析

裸花紫珠化合物-靶标通路图如图2所示,图中包含筛选的28个化合物分子和112个潜在靶标,其

中,绿色圆形节点代表化合物,紫色圆形节点代表潜在靶点,线代表相互作用关系。节点的大小由节点度决定,大小从小到大反映了节点度的值从小到大,

表2 裸花紫珠潜在作用靶点

Table 2 Potential target of *Callicarpa nudiflora*

编号	UniProt ID	蛋白质名称	基因
T001	P08183	多药耐药蛋白1(Multidrug resistance protein 1)	ABCB1
T002	Q9UNQ0	ATP结合盒亚家族(G-2 ATP-binding cassette sub-family G member 2)	ABCG2
T003	P22303	乙酰胆碱酯酶(Acetylcholinesterase)	ACHE
T004	Q13443	去整合素和金属蛋白酶结构域蛋白(9 Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 9)	ADAM9
T005	O95622	5型腺苷酸环化酶(Adenylatecyclase type 5)	ADCY5
T006	P41586	垂体腺苷酸环化酶激活多肽 I 型受体(Pituitary adenylatecyclase -activating polypeptide type I receptor)	ADCYAP1R1
T007	P35368	$\alpha$ -1B 肾上腺素受体(Alpha-1B adrenergic receptor)	ADRA1B
T008	P15121	醛糖还原酶(Aldose reductase)	AKR1B1
T009	P05091	线粒体醛脱氢酶(Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial)	ALDH2
T010	P18054	花生四烯酸 12 脂氧合酶 12S 型(Arachidonate 12-lipoxygenase, 12S-type)	ALOX12
T011	P05067	淀粉样 $\beta$ -A4 蛋白(Amyloid beta A4 protein)	APP
T012	P10275	雄激素受体(Androgen receptor)	AR
T013	Q92934	Bcl2 相关的细胞死亡激动剂(Bcl-2-associated agonist of cell death)	BAD
T014	P00918	碳酸酐酶 2(Carbonic anhydrase 2)	CA2
T015	Q16602	降钙素基因相关肽 1 型受体(Calcitonin gene-related peptide type 1 receptor)	CALCRL
T016	P62158	钙调蛋白(Calmodulin)	CALM1
T017	P07384	钙蛋白酶催化亚基-1 (Calpain-1 catalytic subunit)	CAPN1
T018	P16152	羧基还原酶-1(Carbonyl reductase 1, NADPH-1)	CBR1
T019	P13501	C-C 基序趋化因子 5(C-C motif chemokine 5)	CCL5
T020	P78396	细胞周期蛋白 A1(Cyclin-A1)	CCNA1
T021	P24864	G1/S-特异性细胞周期蛋白-E1(G1/S-specific cyclin-E1)	CCNE1
T022	O96020	G1/S-特异性细胞周期蛋白-E2(G1/S-specific cyclin-E2)	CCNE2
T023	P51681	C-C 趋化因子受体-5(C-C chemokine receptor type 5)	CCR5
T024	P28907	ADP-核糖基环化酶/环腺苷二磷酸核糖水解酶 1 (ADP-ribosylcyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase 1)	CD38
T025	P24941	细胞周期蛋白依赖激酶 2(Cyclin-dependent kinase 2)	CDK2
T026	Q00535	细胞周期素依赖性激酶 5(Cyclin-dependent-like kinase 5)	CDK5
T027	Q00534	细胞周期蛋白依赖激酶 6(Cyclin-dependent kinase 6)	CDK6
T028	O14757	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(CHK1 Serine/threonine-protein kinase Chk1)	CHEK1
T029	P17787	神经元乙酰胆碱受体亚单位 $\beta$ -2(Neuronal acetylcholine receptor subunit beta-2)	CHRNB2
T030	P68400	酪蛋白激酶 II $\alpha$ 亚单位(Casein kinase II subunit alpha)	CSNK2A1
T031	P05093	类固醇 17- $\alpha$ -羟化酶/17,20 裂解酶(Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase)	CYP17A1
T032	P04798	细胞色素 P450 1A1(Cytochrome P450 1A1)	CYP1A1
T033	Q16678	细胞色素 P450 1B1(Cytochrome P450 1B1)	CYP1B1
T034	P10635	细胞色素 P450 2D6(Cytochrome P450 2D6)	CYP2D6
T035	Q12882	酮脱氢酶 [Dihydropyrimidine dehydrogenase, NADP(+)]	DPYD
T036	P11308	转录调节因子 ERG(Transcriptional regulator ERG)	ERG
T037	P03372	雌激素受体(Estrogen receptor)	ESR1
T038	Q92731	雌激素 $\beta$ 受体(Estrogen receptor beta)	ESR2
T039	P11474	类固醇激素受体 ERR1 Steroid hormone receptor ERR1)	ESRRA
T040	P00742	凝血因子 X(Coagulation factor X)	F10
T041	P00734	凝血酶原(Prothrombin)	F2

续表2

编号	UniProt ID	蛋白质名称	基因
T042	P25116	蛋白酶激活受体1(Proteinase-activated receptor 1)	F2R
T043	P13726	组织因子(Tissue factor)	F3
T044	P08709	凝血因子VII(Coagulation factor VII)	F7
T045	P15090	脂肪酸结合蛋白,脂肪细胞(Fatty acid-binding protein, adipocyte)	FABP4
T046	P36888	受体型酪氨酸蛋白激酶(Receptor-type tyrosine-protein kinase,FLT3)	FLT3
T047	P14867	$\gamma$ -氨基丁酸受体 $\alpha$ -1亚单位(Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-1)	GABRA1
T048	Q04760	乳糖基谷胱甘肽酶(Lactoylglutathionelyase)	GLO1
T049	P49841	糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (Glycogen synthase kinase-3 beta)	GSK3B
T050	P28845	皮质类固醇11 $\beta$ -脱氢酶同工酶1(Corticosteroid 11-beta -dehydrogenase isozyme 1)	HSD11B1
T051	P80365	皮质类固醇11 $\beta$ -脱氢酶同工酶2(Corticosteroid 11-beta -dehydrogenase isozyme 2)	HSD11B2
T052	P14061	雌二醇-17 $\beta$ -脱氢酶1(Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1)	HSD17B1
T053	P37059	雌二醇-17 $\beta$ -脱氢酶2(Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2)	HSD17B2
T054	P37058	睾酮-17 $\beta$ -脱氢酶3(Testosterone 17-beta-dehydrogenase 3)	HSD17B3
T055	P07900	热休克蛋白(Heat shock protein, HSP 90 $\alpha$ )	HSP90AA1
T056	P04792	热休克蛋白 $\beta$ 1(Heat shock protein beta-1)	HSPB1
T057	P28223	5-羟色胺受体2A(5-hydroxytryptamine receptor 2A)	HTR2A
T058	P17936	胰岛素样生长因子结合蛋白3(Insulin-like growth factor binding protein 3)	IGFBP3
T059	P08514	整合素 $\alpha$ -IIb(Integrin alpha-Iib)	ITGA2B
T060	P20701	整合素 $\alpha$ -L(Integrin alpha-L)	ITGAL
T061	Q12809	钾电压门控通道亚家族H成员2(Potassium voltage-gated channel subfamily H member 2)	KCNH2
T062	Q12791	钙激活钾通道亚单位 $\alpha$ -1(Calcium-activated potassium channel subunit alpha-1)	KCNMA1
T063	O60341	赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶1A(Lysine-specific histone demethylase 1A)	KDM1A
T064	Q969F8	KISS-1受体(KiSS-1 receptor)	KISS1R
T065	Q13887	Kruppel-样因子5(Krueppel-like factor 5)	KLF5
T066	P21397	胺氧化酶[含黄素]A(Amine oxidase [flavin-containing] A)	MAOA
T067	P27338	胺氧化酶[含黄素]B(Amine oxidase [flavin-containing] B)	MAOB
T068	Q16539	丝裂原活化蛋白激酶14(Mitogen-activated protein kinase 14)	MAPK14
T069	P39900	巨噬细胞金属弹性蛋白酶(Macrophage metalloelastase)	MMP12
T070	P45452	胶原酶3(Collagenase 3)	MMP13
T071	P08253	72 kDa的IV型胶原酶(72 kDa type IV collagenase)	MMP2
T072	P08254	溶基质蛋白酶-1(Stromelysin-1)	MMP3
T073	P14780	基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9)	MMP9
T074	Q15788	核受体辅激活子1(Nuclear receptor coactivator 1)	NCOA1
T075	Q15596	核受体辅激活子2(Nuclear receptor coactivator 2)	NCOA2
T076	P35228	诱导型一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, inducible)	NOS2
T077	P29474	内皮型一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, endothelial)	NOS3
T078	Q9NPH5	NADPH氧化酶4(NADPH oxidase 4)	NOX4
T079	P55055	氧化甾醇受体(Oxysterols receptor, LXR- $\beta$ )	NR1H2
T080	P04150	糖皮质激素受体(Glucocorticoid receptor)	NR3C1
T081	Q9H244	P2Y嘌呤受体12(P2Y purinoceptor 12)	P2RY12
T082	P48736	磷脂酰肌醇4,5-二磷酸-3-激酶催化亚基 $\gamma$ 异构体(Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform)	PIK3CG
T083	P11309	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(pim-1 Serine/threonine-protein kinase pim-1)	PIM1
T084	Q9Y263	磷脂酶A-2激活蛋白(Phospholipase A-2-activating protein)	PLAA
T085	P06746	DNA聚合酶 $\beta$ (DNA polymerase beta)	POLB

续表2

编号	UniProt ID	蛋白质名称	基因
T086	Q03181	过氧化物酶体增殖物激活受体δ(Peroxisome proliferator-activated receptor delta)	PPARD
T087	P37231	过氧化物酶体增殖物激活受体γ(Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)	PPARG
T088	P36873	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶PP1γ催化亚基(Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit)	PPP1CC
T089	P17612	cAMP依赖性蛋白激酶催化亚单位α(cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha)	PRKACA
T090	Q05655	蛋白激酶Cδ型(Protein kinase C delta type)	PRKCD
T091	Q05513	蛋白激酶Cζ型(Protein kinase C zeta type)	PRKCZ
T092	P23219	前列腺素g/H合酶1(Prostaglandin G/H synthase 1)	PTGS1
T093	P35354	前列腺素g/H合酶2(Prostaglandin G/H synthase 2)	PTGS2
T094	P18031	酪氨酸蛋白磷酸酶非受体1型(Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1)	PTPN1
T095	P17706	酪氨酸蛋白磷酸酶非受体2型(Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 2)	PTPN2
T096	P18433	受体型酪氨酸蛋白磷酸酶α(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase alpha)	PTPRA
T097	P10586	受体型酪氨酸蛋白磷酸酶F(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase F)	PTPRF
T098	P10276	视黄酸受体α(Retinoic acid receptor alpha)	RARA
T099	P19793	视黄酸受体RXRα(Retinoic acid receptor RXR-alpha)	RXRA
T100	O00767	酰基辅酶A脱氢酶(Acyl-CoA desaturase)	SCD
T101	Q14524	钠通道蛋白5亚单位α(Sodium channel protein type 5 subunit alpha)	SCN5A
T102	Q8N474	分泌型卷曲相关蛋白1(Secreted frizzled-related protein 1)	SFRP1
T103	P49281	天然抗性相关巨噬细胞蛋白2(Natural resistance-associated macrophage protein 2)	SLC11A2
T104	Q9Y6L6	溶质运载体有机阴离子转运蛋白家族成员1B1(Solute carrier organic anion transporter family member 1B1)	SLCO1B1
T105	Q99835	平滑同系物(Smoothened homolog)	SMO
T106	Q9NYA1	鞘氨醇激酶1(Sphingosine kinase 1)	SPHK1
T107	P19438	肿瘤坏死因子受体超家族成员1A(Tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A)	TNFRSF1A
T108	P11388	DNA拓扑异构酶2-α(DNA topoisomerase 2-alpha)	TOP2A
T109	Q9H4B7	微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1 chain)	TUBB1
T110	Q16739	神经酰胺葡萄糖基转移酶(Ceramideglucosyltransferase)	UGCG
T111	P16662	UDP-葡萄糖醛酸基转移酶2B7(UDP-glucuronosyltransferase 2B7)	UGT2B7
T112	P11473	维生素D3受体(Vitamin D3 receptor)	VDR

节点度越高说明该分子的重要性越大,即节点越大说明该分子的重要性越大。丁香脂素(M009\_qt)、5,4'-二羟基-3,7,3'-三甲氧基黄酮(M019)、5-羟基-3,7,3',4'-四甲氧基黄酮(M022)、木犀草素(M029)、3'-甲氧基-6-羟基-木犀草素(M032\_qt)、芹菜素(M040)、甲基鼠李素(M042)等节点较大且作用于较多的靶点,其中除了M009\_qt属于苯丙素类,而其他6个化合物都属于黄酮类,说明黄酮类化合物在中药裸花紫珠的药效中占据重要作用。

裸花紫珠靶标-疾病-通路网络图见图3。紫色圆形节点代表靶点,绿色圆形节点代表通路,红色方形代表疾病,节点越大,说明该疾病和靶点或者该通路和靶点的相互作用越强。裸花紫珠成分作用的靶点主要靶向以下几种类型的疾病:癌症、心血管疾病、炎症、神经系统以及免疫系统;靶向23条

生物学通路包括:癌症(P001)、PI3K-AKT信号通道(P002)、血小板激活通路(P003)、TRP通道的炎症介质调节(P009)、cGMP-PKG信号通道(P011)、血管平滑肌收缩通道(P013)等。其中靶点ABCB1、NOS3、MAPK14、PPARG、GSK3β、PTGS2等同时靶向治疗多种类型疾病,如MAPK14同时靶向癌症、心血管疾病和血液疾病。

癌症疾病:现在药理研究表明裸花紫珠黄酮类化合物整体显示出对宫颈癌Hela细胞、肺癌A549细胞和乳腺癌MCF-7细胞具有不同程度的抑制作用<sup>[15]</sup>。陈斌等<sup>[4]</sup>发现裸花紫珠乙酸乙酯提取物可以显著抑制乳腺癌细胞系MDA-MB-231的体外黏附、迁移以及侵袭能力,并可显著抑制肿瘤细胞内Snail磷酸化并促进E-cadherin表达,从而调控下游相关靶基因的表达。图3中裸花紫珠和癌症相关的靶点

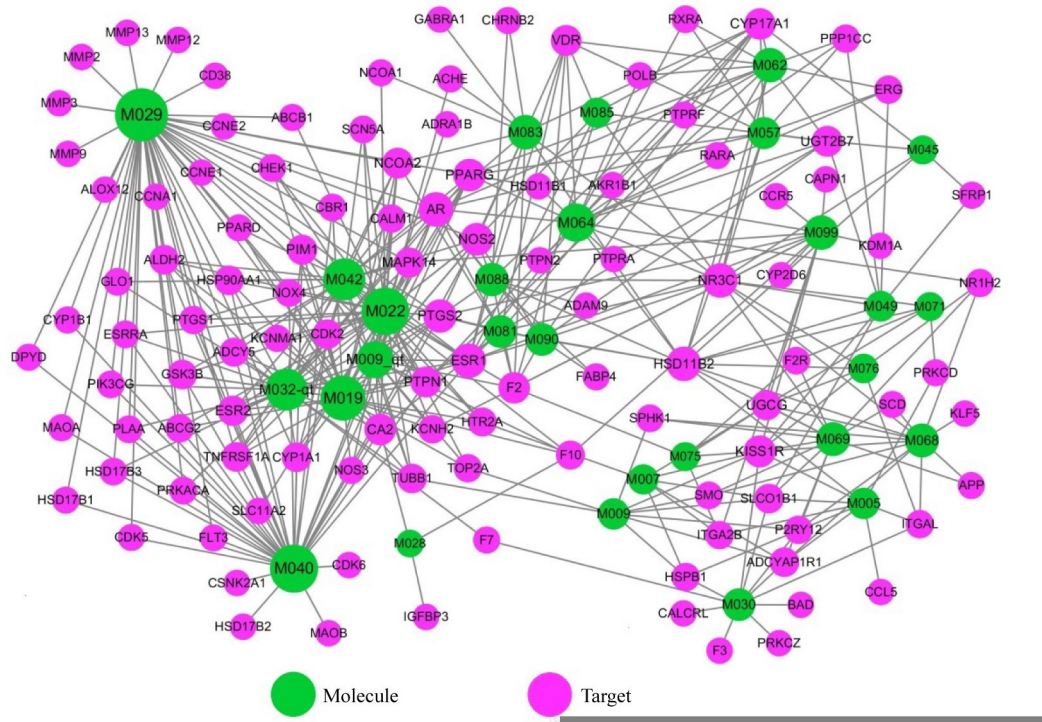


图2 裸花紫珠化合物-靶标通路图  
 Fig. 2 Drug-target network

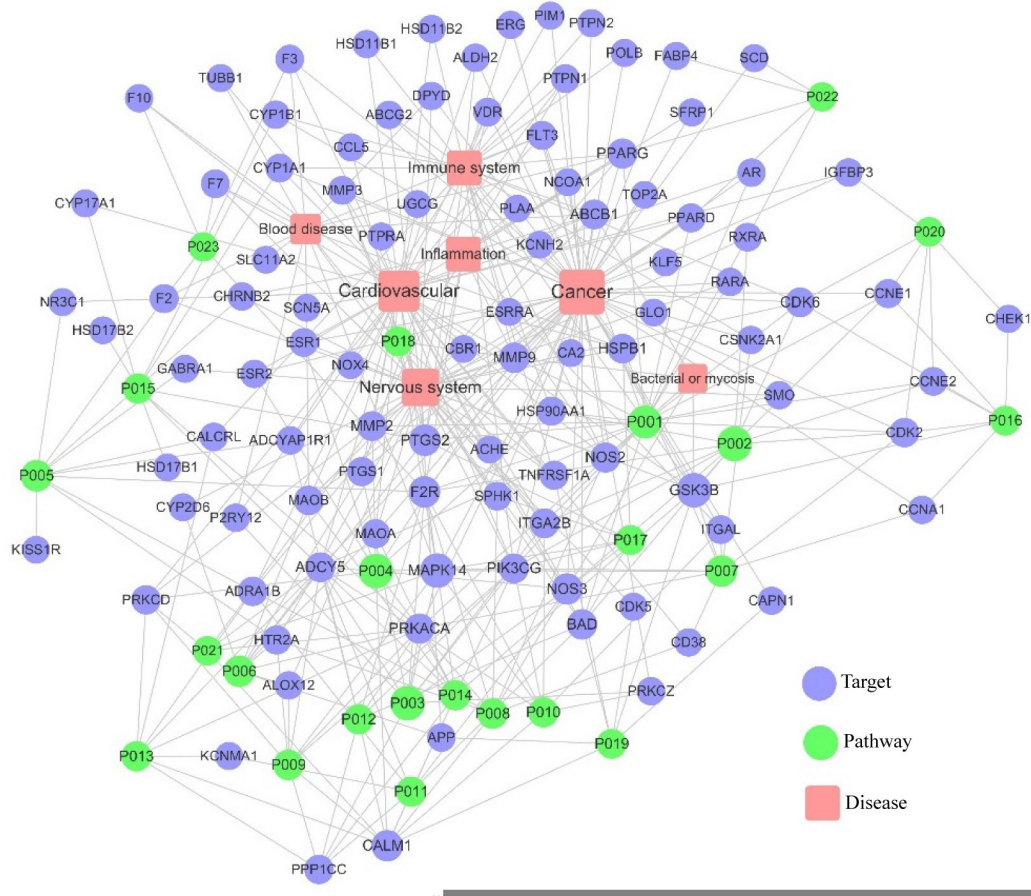


图3 靶标-通路-疾病网络图  
 Fig. 3 Target-Pathway-Disease network



有 59 个, 而其中一部分靶点同时靶向癌症通路(P001)和 PI3K-AKT 信号通路(P002), 因此预测研究裸花紫珠的抗癌活性可以从癌症通路和 PI3K-AKT 信号通路出发, 研究 PIK3CG、CCNE2、CCNE1、HSP90AA1、RXRA、GSK3B、CDK6、NOS3、BAD、CDK2、ITGA2B、F2R 这些基因靶点。

**心血管疾病:** 以前的研究中裸花紫珠对心血管疾病的研究较少, 但本系统药理学研究发现裸花紫珠和心血管相关的靶点有 47 个(图 3), 仅次于癌症疾病, 其中有 3 个基因 PRKCD、ADRA1B、ADCY5 靶向血管平滑肌收缩通道(P013), 研究裸花紫珠和血液疾病的关系可以先从这些靶点出发。

**炎症疾病:** 传统上裸花紫珠就被用作消炎药, 现代药理研究也发现裸花紫珠具有抗炎作用。梁纪军等<sup>[16]</sup>和陈颖等<sup>[17]</sup>分别发现裸花紫珠总黄酮和水煎煮液有抗炎作用, 在对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀和角叉菜胶引起发炎导致大鼠足跖肿胀均具有明显抑制作用。图 2 中裸花紫珠和炎症相关靶点有 12 个, 分别为 CHRN2、F2R、MMP2、MMP9、NOS2、PLAA、PPARG、PTGS2、PTPN1、ABCB1、ITGAL 和 SFRP1, 研究裸花紫珠和炎症的关系可以从这些靶点出发。

**免疫系统疾病:** 陈颖等<sup>[17]</sup>的研究发现裸花紫珠

水提物能提高小鼠碳末吞噬指数和吞噬系数, 可增强小鼠非特异性免疫功能, 从而增强机体免疫能力。图 3 中裸花紫珠和与免疫系统相关靶点有 29 个, 其中与免疫系统疾病最相关的靶标有 CYP1A1、PPARG、PTGS1、TNFRSF1A 和 NOS2, 研究裸花紫珠和免疫系统疾病的关系可以先从这些靶点出发。

**血液相关疾病:** 在临床应用中, 以裸花紫珠提取物相关成药辅助用于治疗皮肤科、妇科、五官科和外科等各类术后出血型疾病, 疗效显著, 尤其对于妇科出血性疾病有明显的疗效。易博等<sup>[18]</sup>通过断尾法和玻片法测定裸花紫珠提取物对小鼠的出血时间和凝血时间的影响, 并发现裸花紫珠提取物具有较好的止血活性。图 3 中裸花紫珠和血液相关疾病相关靶点有 16 个, 其中与血液相关疾病最相关的靶标有 ITGA2B、MAPK14、P2RY12 和 MAOB, 研究裸花紫珠和血液疾病的关系可以先从这些靶点出发。

#### 2.4 GOBP 靶点生物学过程富集分析

为了验证裸花紫珠潜在靶标与疾病的关系, 我们进行 GOBP 分析, 其结果如图 4 所示。图中 Y 轴表示 GOBP 富集的 27 个条目, X 轴表示条目所对应的 -LOG(PValue) 值(PValue ≤ 0.05)。结果表明, 裸花紫珠主要作用于炎症反应(inflammatory response)、

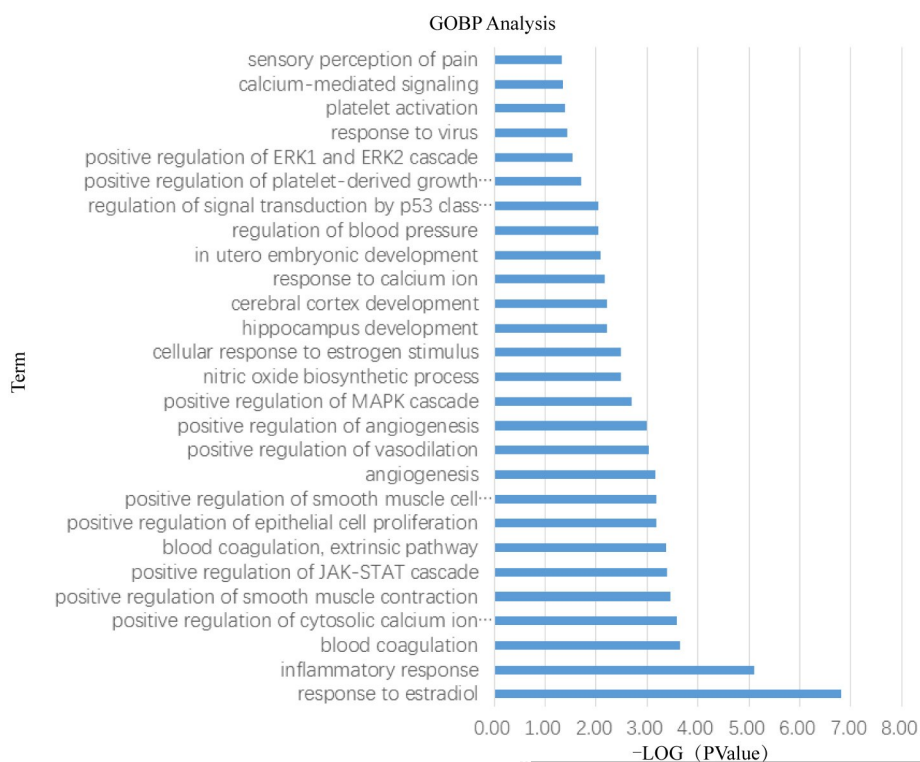


图 4 GOBP 聚类分析图

Fig. 4 GOBP cluster analysis diagram

调节凝血 (blood coagulation)、血管生成 (angiogenesis)、钙离子信号传导 (calcium-mediated signaling)、调节血压 (regulation of blood pressure) 等生物学过程, 其结论和文献报道相符<sup>[3,5,7,19]</sup>。

### 3 讨论

系统药理学是从系统水平研究药物与机体相互作用及其规律和作用机制的一门新兴学科, 是从分子、网络、细胞, 到组织、器官等不同水平上研究药物治疗疾病时引起机体功能变化机制, 建立药物对于机体的作用从微观(分子、生化网络水平)到宏观(组织、器官、整体水平)的各水平间是相互关联的学问<sup>[8-9]</sup>。中药是多组分、多靶点及其组分间协同作用的复杂体系, 因此采用传统的方法研究其对机体的作用难度很大。目前基于网络药理学, 以分子对接、药-靶网络构建以及网络特征分析为基础的多靶点整体调控的思维方法正逐渐被用于预测中药主要活性成分群和潜在靶标群, 阐述中药作用机制。这种基于系统思维的研究方法更符合中医药的思维模式。

裸花紫珠在临床上应用具有良好的药效, 在本次研究中, 已发现裸花紫珠 99 个成分, 考虑到中药多组分、多靶点及组分间协同作用的特点, 本实验采用了系统药理学方法对裸花紫珠药理机制进行研究。首先对筛选到的 28 个活性成分进行靶标预测, 靶标-疾病-通路网络分析, GO 分析最终发现裸花紫珠可能对癌症、炎症、心血管疾病均有治疗作用, 尤其对癌症和炎症具有治疗作用, 现在临床上仅发现其止血, 消炎和抗感染功效, 同时这些药理机制也已经在现代实验中得到证明<sup>[4,6-7]</sup>。

木犀草素(M029)和芹菜素(M040)是裸花紫珠的两个主要化学成分, 李春雨<sup>[19]</sup>研究发现, 木犀草素可明显降低人肝癌细胞 HepG2 的体外侵袭、迁移及黏附能力, 且在一定浓度范围内呈明显的量效关系。孙悦<sup>[20]</sup>研究发现, 芹菜素对胃癌细胞 SGC-7901 的生长具有明显抑制作用, 随着芹菜素浓度和作用时间的增加, 芹菜素处理后的细胞逐渐出现自噬囊泡和自噬溶酶体, 说明芹菜素可以诱导胃癌 SGC-7901 细胞发生自噬。这与系统药理学的分析结果中可能对癌症具有治疗作用相吻合。

周霄楠<sup>[21]</sup>研究发现, 木犀草素也具有良好的抗炎效果, 可显著地抑制 LPS 诱导 RAW264.7 细胞后 NO、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  以及 IL-6 含量的升高, 且在一定程度上呈剂量相关性。高卫良<sup>[22]</sup>研究发现, 芹菜素

能够明显抑制抗炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  以及 caspase-3、caspase-9 的表达以及凋亡蛋白表达, 从而发挥抑制髓核细胞凋亡的作用。这与系统药理学的分析结果中可能对炎症具有治疗作用相吻合。

周丽嫦<sup>[23]</sup>研究发现, 木犀草素还具有显著的心血管代谢的保护作用, 可有效防止高脂饮食状态下小鼠血压的升高, 保护血管内皮免受高脂状态的损害。药红梅<sup>[24]</sup>研究发现, 芹菜素可通过抑制细胞有丝分裂从而抑制脂多糖诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖的作用。这与系统药理学的分析结果中可能对心血管疾病具有治疗作用相吻合。

董琳<sup>[25]</sup>采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀法研究发现, 5-羟基-3, 7, 3', 4'-四甲氧基黄酮(M022)对肿胀有显著抑制作用, 但在对其机制的研究中董琳等人从影响一氧化氮生成探讨其机制, 发现该化合物在 50  $\mu\text{mol/L}$  时对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放的 NO 都只有轻微的抑制作用, 由于缺少相关资料并未找到该化合物抗炎的合理机制。采用系统药理学的方法就可以对其抗炎的机制有一个预测, 然后根据预测结果有针对性的对其可能的机制进行研究, 大大缩短前期探索时间, 减少财力、人力的投入, 加快研究效率, 从而更好的服务于临床。

中药成分复杂, 且作用于多靶点、多途径, 使中药活性成分及机制研究困难重重。系统药理学可以更全面、更快速的了解一个药物的机制, 分析预测中药信号通路作用机制, 为实验工作提供方向指导, 从而大大减少了中药活性成分及机制研究的盲目性, 对中药活性成分和机制的研究具有深远的意义。

### 参考文献

- [1] 冯世秀, 张旻, 易博, 等. 裸花紫珠化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(5): 1015-1026.
- [2] 罗跃华, 马双成, 胡寿荣, 等. 裸花紫珠化学成分研究 [J]. 中药材, 2015, 38(11): 2306-2310.
- [3] Huang B, Fu H Z, Chen W K, et al. Hepatoprotective triterpenoid saponins from *Callicarpa nudiflora* [J]. Chem Pharm Bull, 2014, 62(7): 695-699.
- [4] 陈斌, 罗跃华, 王珊, 等. 裸花紫珠提取物的抗乳腺癌转移作用及其机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(18): 94-98.
- [5] 高秀丽, 程萍, 刘杰麟. 紫珠果实提取成分对 Hep-2 细胞株的抑制作用 [J]. 贵阳医学院学报, 2001, 26(6): 523.
- [6] 王杰, 罗晨媛, 王珊, 等. 裸花紫珠正丁醇提取物止血作用及其机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(3): 99-102.

- [7] 周芹芹, 侯林, 田景振, 等. 裸花紫珠不同提取部位体外抗单纯疱疹病毒I型作用研究 [J]. 山东中医杂志, 2017, 36(04): 329-330.
- [8] 张文娟, 王永华. 系统药理学原理、方法及在中医药中的应用 [J]. 世界中医药, 2015, 10(2): 280-286.
- [9] 王永华. 基于系统药理学的现代中药研究体系 [J]. 世界中医药, 2013, 8(7): 801-808.
- [10] 王锻, 白旭光, 戴旖旎, 等. 基于系统药理学探索女贞子有效成分的药理作用机制 [J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(19): 4-6.
- [11] 刘惠. 基于系统药理学的甘草作用机制和新药发现研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [12] 刘丹, 朱靖博, 王永华, 等. 基于网络药理学的银杏叶提取物治疗痛风潜在作用机制初探 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2693-2700.
- [13] 李娜. 基于系统药理学对中药材姜的活性成分和作用机制的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [14] 赖艳妮, 严一文, 徐培平. 基于系统药理学探索莪术有效成分的药理作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 177-182.
- [15] 马燕春, 张旻, 徐文彤, 等. 裸花紫珠化学成分及细胞毒活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(16): 3094-3101.
- [16] 梁纪军, 徐凯, 李留法, 等. 裸花紫珠总黄酮的抗炎、止血作用研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(26): 3161-3162.
- [17] 陈颖, 杨国才. 裸花紫珠抗炎作用及增强免疫功能的实验研究 [J]. 广东微量元素科学杂志, 2006, 13(8): 39-41.
- [18] 易博, 张旻, 林海, 等. 黎药裸花紫珠在小鼠体内止血活性部位的研究 [J]. 药学实践杂志, 2015, 33(3): 235-237.
- [19] 李春雨, 王琪, 申坤, 等. 木犀草素对人肝癌 HepG2 细胞株侵袭、迁移和黏附能力的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(9): 1606-1610.
- [20] 孙悦, 余洋, 吴坤. 芹菜素诱导胃癌 SGC-7901 细胞自噬及其对凋亡的影响 [J]. 癌变·畸变·突变, 2017, 29(4): 289-294, 299.
- [21] 周霄楠, 韩超, 宋鹏琰, 等. 木犀草素和槲皮素体外抗炎作用研究 [J]. 动物医学进展, 2017, 38(10): 56-61.
- [22] 高卫良, 付晓丽, 安兆威. 芹菜素通过抗炎性反应和细胞凋亡保护大鼠髓核细胞 [J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(1): 28-31.
- [23] 周丽嫦, 徐艳燕, 曾婉君, 等. 木犀草素预防高脂介导的小鼠胸主动脉血管内皮依赖性舒张功能损害 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2011(22): 146-148.
- [24] 药红梅, 贾永平, 薛铮, 等. 芹菜素可抑制脂多糖诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖 [J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45(4): 323-328.
- [25] 董琳, 张晓菁, 刘明生. 裸花紫珠 5-羟基-3,7,3',4'-四甲氧基黄酮抗炎作用研究 [J]. 海南医学院学报, 2014, 20(11): 1460-1462.