

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

刘丹¹, 朱靖博^{1,2*}, 王永华³, 丁燕^{1,2}, 寇自农^{2,4}, 萧伟⁵

1. 大连工业大学食品学院, 辽宁 大连 116034

2. 大连工业大学 植物资源化学与应用研究所, 辽宁 大连 116034

3. 西北农林科技大学生命学院 生物信息学中心, 陕西 西安 712100

4. 大连工业大学 实验仪器中心, 辽宁 大连 116034

5. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

摘要: **目的** 筛选银杏叶提取物中治疗痛风的活性化合物, 构建活性化合物-靶标-通路网络, 并阐述银杏叶提取物治疗痛风的潜在作用机制。 **方法** 建立银杏叶成分-靶点相互作用的随机森林预测模型, 对银杏叶化学成分进行靶点预测, 然后构建和分析银杏叶“成分-靶点-痛风”复杂网络。 **结果** 在已发现的银杏叶的 158 个化合物中, 以类药性 (DL) ≥ 0.18 和口服生物利用度 (OB) ≥ 30 为条件, 筛选出 39 个活性化合物, 其中包括 11 个黄酮类化合物和 11 个萜类化合物; 银杏叶中有 24 个活性化合物所对应的靶点与痛风中 49 个致病基因相关, 揭示了银杏叶中活性成分与相关靶点的分子作用机制。 **结论** 银杏叶中的活性化合物可能通过 3 种方式治疗痛风: 减少尿酸的产生、增加尿酸的排泄、抑制 NALP3 炎症引起的紊乱。

关键词: 银杏; 痛风; 作用机制; 网络药理学; 靶点; 尿酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)15-2693-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.017

Potential mechanism of *Ginkgo Folium* extract used in treatment of gout based on network pharmacology

LIU Dan¹, ZHU Jing-bo^{1,2}, WANG Yong-hua³, DING Yan^{1,2}, KOU Zi-nong^{2,4}, XIAO Wei⁵

1. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China

2. Institute of Chemistry and Applications of Plant Resources, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China

3. Biological Informatics Center, College of Life Science, North-west Agriculture and Forestry University, Xi'an 712100, China

4. Instrumental Analysis Center, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China

5. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To screen the active compounds of *Ginkgo Folium* extract (GFE) used in the treatment of gout to build network of compounds-target-pathway, and to elaborate the potential mechanism of GFE in the treatment of gout. **Methods** The *G. biloba* compound-target interaction model was established by random forest algorithm, which was then applied to predict the potential targets interacted with compounds of *G. biloba*. The complicated compound-target-disease network of *G. biloba* was then constructed and analyzed. **Results** Among the 158 compounds found in *G. biloba*, with (drug-likeness) DL ≥ 0.18 and (oral bioavailability) OB ≥ 30 as a filter condition, 39 active compounds were screened, including 11 flavonoids and 11 terpenes. There are 24 active compounds in *G. biloba*, which correspond to the 49 pathogenic genes of gout and reveal the molecular mechanism of *G. biloba* in the active ingredient and related targets. **Conclusion** Active compounds in *G. biloba* may cure gout through the following three ways: First, to minimize the production of uric acid; Secondly, to increase the excretion of uric acid; Thirdly, to inhibit disorders induced by NALP3 inflammation.

Key words: *Ginkgo biloba* L.; gout; mechanism; network pharmacology; target; uric acid

痛风与嘌呤代谢紊乱和(或)尿酸排泄减少所致的高尿酸血症直接相关。痛风的西医发病机制主要有 2 种: 尿酸排泄减少、尿酸生成过多^[1]。近年来, 痛风发病率逐渐升高, 且逐渐呈现出年轻化趋

收稿日期: 2016-03-07

基金项目: 大连市科技计划项目(2014E12SF065)

作者简介: 刘丹(1990—), 女, 硕士, 主要从事中药研究。E-mail: liudan_0412@sina.com

*通信作者 朱靖博(1963—), 男, 教授, 从事天然产物化学研究。Tel: (0411)86332109 E-mail: zhujingbo@sina.com

势。西医对痛风的治疗多采用秋水仙碱、非甾体类抗炎药、肾上腺皮质激素、促尿酸排泄药、抑制尿酸生成药等治疗,虽然短期内能取得良好疗效,但易产生成瘾性、肝肾毒性和毒副作用。由此可见,化学药治疗痛风副作用多。而中药在降低复发率、减轻药物自身不良反应等方面有一定优势。国内有多位学者^[2-3]指出银杏对高尿酸血症及痛风具有一定的治疗作用,但具体作用机制并不清楚。目前研究认为,银杏中的主要活性成分有黄酮类^[4]、萜内酯类^[5]、有机酸类,此外还含有聚戊烯醇类酯、多糖类、烷基酚酸类化合物及一些其他营养成分等^[6]。银杏提取物具有减轻神经细胞损伤和脑部缺血的作用^[7]。

网络药理学从中药成分、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发,采用复杂网络模型表达和分析研究对象的药理学性质,特别适宜研究中药多成分-多靶点的作用关系,有利于揭示中药成分复杂作用机制^[8-9]。本实验以银杏叶为研究对象,利用随机森林算法建立银杏叶成分-靶点相互作用预测模型,对银杏叶化学成分进行靶点预测,构建银杏叶“成分-靶点-痛风”复杂网络,从网络药理学角度预测银杏叶提取物治疗痛风的有效成分及其潜在靶点,探讨银杏叶预防和治疗痛风的潜在作用机制。

1 模型、数据库和方法

1.1 软件与数据库

1.1.1 预测软件 ChemBioDraw Ultra 12.0、ChemBio3D Ultra 12.0、OBioavail 1.1、Matlab 7.0、Sybyl-X 1.1.1.126、Dragon 5.4、Cytoscape 2.8.3。

1.1.2 数据库 TCMSP (<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>)、TTD (<http://bidd.nus.edu.sg/group/ttd/>)、DrugBank (<http://www.drugbank.ca/>)、SEA (<http://sea.bkslab.org/>)、KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/>)。

1.2 银杏化合物数据库

在 Google 学术、Springer Link 数据库、NCBI、Science direct 数据库和 TCMSP 中,以“银杏叶”“化学成分”“结构”为关键词搜集总结银杏中的化学成分结构式(158 种)。所有化合物的结构用 ChemDraw 绘制分子结构,黄酮糖苷在肠道中可能被肠道酶水解成苷配基^[10],收集到的化合物根据糖苷酶水解反应进一步去糖基的水解产物的结构,去糖基前后所有化合物都另存为 mol2 格式的 3D 结构,得到化合物数据库。

1.3 活性分子筛选

以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 和类药性

(DL) ≥ 0.18 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。其中 OB 使用 OBioavail1.1 系统^[11]进行计算,DL 用 Tanimoto 系数^[12]进行计算。

1.3.1 OBioavail 1.1 系统计算 OB 用 Sybyl 软件对 P450 蛋白分子进行优化、对接,用 DRAGON 软件计算描述符,数据处理得到 OB 值。具体步骤如下:利用 Matlab 软件修改 mol2 格式的化合物名称为 M_形式(如:化合物 Kaempferol 改名为 M_0),并将化合物合并至.m 格式文件,生成“toxName.txt”和“zong.txt”文件;使用 Sybyl 软件对 P450 蛋白分子进行优化,目的是为了将蛋白优化到最适宜于小分子进行对接的结构;使用 Sybyl 软件对小分子化合物 3D 结构进行优化,为了得到最优的空间结构;使用 Sybyl 软件对优化后的 P450 分子和化合物小分子进行对接打分;使用 dragon 软件计算化合物的描述符,将所有分子对接打分,并按照对接打分由小到大排序与其描述符合并至一个表格中;将数据按照 <5 、 $5\sim 6$ 、 $6\sim 7.5$ 、 >7.5 进行分组,生成 4 个“txt”文件,使用 Matlab 及 Sybyl 软件将其处理成“_2.txt”文件;使用 Tanagra 软件计算,数据处理得 OB 值。

1.3.2 Tanimoto 系数计算 DL 按照下列公式计算 DL。

$$T(x, y) = x \cdot y / (\|x\|^2 + \|y\|^2 - x \cdot y)$$

x 代表基于 Dragon 软件计算的银杏叶提取物化合物描述符; y 代表基于 Drago 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

1.4 靶点预测

使用结合了随机森林 (RF) 和支持向量机 (SVM) 2 种方法后设计出来的预测软件^[13]预测化合物作用的相关靶点,同时,从 SEA 数据库中根据化合物结构的相似性对相关人类蛋白靶点进行预测。将 2 种方法预测的靶点进行整理,得到活性化合物与相关靶点之间的作用关系。

1.5 网络构建

为了进一步解释化合物、靶标、通路和疾病之间的复杂关系,构建了 2 个网络。(1) 化合物-靶点网络 (C-T): 将筛选出来的银杏叶活性成分和痛风相关的靶点作用关系用 Cytoscape2.8.3^[14]软件进行建立。(2) 靶点-通路网络 (T-P): 在 KEGG 中对所预测验证过的靶点进行通路搜索,建立靶点与疾病间的通路关系。

1.6 研究方法

研究方法和流程见图 1。

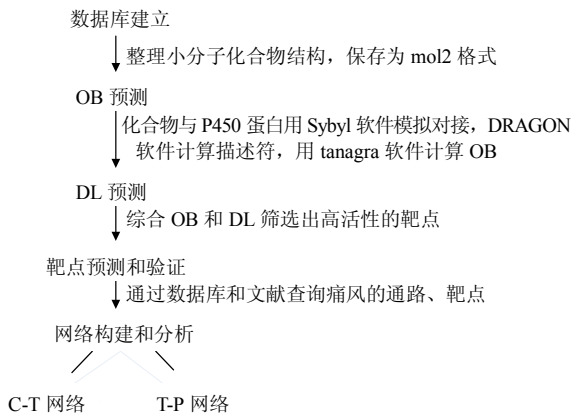


图 1 研究方法流程

Fig. 1 Research methods and processes

2 结果与讨论

采用网络药理学方法来剖析银杏预防和治疗痛风的可能作用机制, 为寻找新的抗痛风先导化合物提供有用的信息。

2.1 活性化合物筛选结果

通过数据库和文献查询共收集到银杏叶中小分子化合物 158 个, 其中包括 61 个黄酮类化合物, 25 个萜类化合物, 以 $DL \geq 0.18$ 和 $OB \geq 30$, 筛选出活性化合物 39 个, 其中包括 11 个黄酮类化合物, 11 个萜类化合物。具体化合物信息见表 1。

银杏黄酮和银杏内酯作为银杏叶中研究深入的小分子化合物, 具有广泛的生物活性。结果显示,

表 1 筛选的 39 个活性化合物的 OB 和 DL

Table 1 OB and DL of 39 active compounds screened

编号	化合物	OB/%	DL
M_0	kaempferol	41.81	0.24
M_12	genkwanin	33.89	0.27
M_81	myricetin	32.62	0.32
M_147	4'-O-methyl-apigenin	34.35	0.27
M_67	3-O-(2-O-{6-O-[p-(β-D-glucosyl) oxy-trans-cinnamoyl]-β-D-glucosyl}-α-L-rhamnosyl) quercetin	49.05	0.24
M_68	3-O-(6-O-(α-L-rhamnosyl)-β-D-glucosyl) quercetin	50.38	0.24
M_69	3-O-(β-D-glucosyl) quercetin	47.37	0.32
M_71	3-O-[2-O-(β-D-glucosyl)-α-L-rhamnosyl] quercetin	44.27	0.31
M_73	3-O-[2-O-[6-O-(p-hydroxy-trans-cinnamoyl)-β-D-glucosyl]-α-L-rhamnosyl] quercetin	47.40	0.37
M_74	3-O-(6'''-p-coumaroylglucosyl-β-1,4-rhamnoside) quercetin	49.69	0.33
M_86	3-O-[6-O-(α-L-rhamnosyl)-β-D-glucosyl] isorhamnetin	47.87	0.21
M_118	thymol	41.84	0.27
M_120	limonene	39.60	0.41
M_126	(E)-10,11-dihydro-6-oxo-atlantone	36.97	0.28
M_128	eudesmol	38.77	0.28
M_121	bilobalide	71.92	0.28
M_131	ginkgolide B	45.02	0.24
M_132	ginkgolide C	48.22	0.24
M_133	ginkgolide J	44.78	0.24
M_134	ginkgolide M	47.52	0.24
M_135	ginkgolide K	46.78	0.24
M_137	ginkgolide L	42.10	0.24
M_138	α-carotene	37.53	0.31
M_139	γ-carotene	31.97	0.24
M_30	protocatechuic acid	71.76	0.28
M_35	hexanoic acid	72.77	0.24
M_36	valeric acid	77.15	0.74
M_37	linolenic acid	45.01	0.73
M_38	linoleic acids	41.90	0.73
M_40	5,9,12-octadecatrienoic acid	44.73	0.75
M_41	oleic acid	33.13	0.76
M_47	2-hexenal	49.22	0.57
M_53	stigmasterol	43.83	0.21
M_54	campesterol	37.58	0.24
M_55	ionone	44.99	0.28
M_58	pinitol	41.78	0.28
M_60	syringaresinol-4'-O-β-D-glucopyranoside	33.33	0.21
M_62	3-[5,7-dihydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-8-yl]-4-methoxybenzoic acid	34.77	0.32
M_64	(Z,Z)-4,4'-(1,4-pentadiene-1,5-diyl) diphenol	40.90	0.27

大多数筛选出来的银杏黄酮和银杏内酯同时具有高的 OB 和 DL, 如 M₆₇ (OB=49.05%, DL=0.24)、M₆₈ (OB= 50.38%, DL=0.24)、M₆₉ (OB= 47.37%, DL=0.32), 目前黄酮类化合物在防治高尿

酸血症和痛风方面已有报道^[15]。其中的槲皮素通过抗炎作用表现出很强的治疗痛风性关节炎功效^[16]。Kaempferol (M₀) 通过抑制黄嘌呤氧化酶从而治疗痛风^[17]。部分具有活性的黄酮和萜类结构式见图 2。

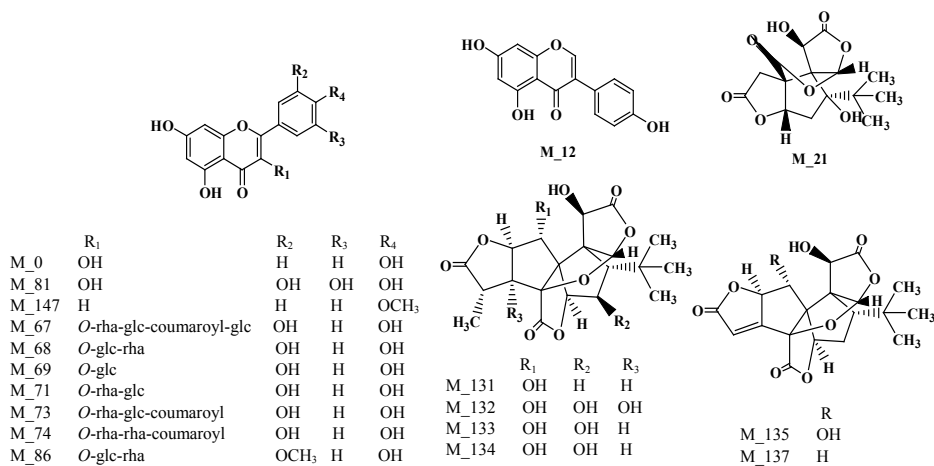


图 2 部分活性化合物结构式

Fig. 2 Structures of some active compounds

2.2 银杏叶抗痛风相关的靶点信息

查阅文献和 CTD (<http://ctdbase.org/>), 搜寻 GOUT 致病基因, 共查到 122 个, 在 Uniprot (<http://www.uniprot.org/>) 网站上查找活性化合物靶点和治病基因的 Uniprot ID, 并一一对应, 相同基因 49 个, 对应 24 个化合物。见表 2。银杏叶中潜在作用于痛风的有 49 个靶点, 它们的作用主要有转运尿酸、抑制尿酸产生以及干扰 NALP3 炎症系统。下面选取了 3 个典型代表进行阐述。

2.2.1 尿酸盐阴离子转运体 1 (URAT1) SLC22A12
2002 年日本学者 Enomoto 等^[18]首次在肾皮质近曲小管发现了大量表达的 URAT1, 并检测到该蛋白在近曲小管内重吸收尿酸的量高达一半左右。URAT1 基因突变会影响尿酸的重吸收过程, 造成血尿酸水平的异常。Shima 等^[19]和关明等^[20]分别在日本和中国的受试者中, 证实了 SLC22A12 中的 rs93006 多态性与高尿酸血症密切相关。因此, Enomoto 等^[18]提出无论是原发性高尿酸血症还是高尿酸合并肾脏损害, 其患者的 URAT1 基因都存在突变现象, 这更有力地说明了 URAT1 参与了尿酸的重吸收过程。在银杏叶中化合物 M₆₇、M₆₈、M₆₉、M₇₁、M₇₃、M₇₄ 都抑制 SLC22A12, 进而可降低尿酸水平。

2.2.2 三磷酸腺苷结合盒 G 超家族成员 2 (ATP-binding cassette subfamily G member 2, ABCG2)
ABCG2 是 1 种三磷酸腺苷结合转运蛋白, 在人的肿瘤

组织和正常细胞中均有表达, 具有抑制消化道吸收某些外源性物质以及参与形成血-脑、胎-血屏障等生理功能。ABCG2 也是一种药物排出泵, 是导致肿瘤耐药的重要机制之一^[21]。最近的研究还显示, ABCG2 也在肾近曲小管刷状缘膜上大量表达, 负责尿酸的排泄, 与高尿酸血症和痛风的发生也密切相关^[22]。

目前认为, 相比其他尿酸盐转运体 (URAT1 和 GLUT9), ABCG2 的基因变异种类最多, 对血尿酸水平的影响最大^[22-23]。除肾脏外, ABCG2 同样也是尿酸排泄的肾脏外调节器, 其除在肾近曲小管刷状缘膜上表达外, 还在小肠上皮细胞的顶端膜和肝脏细胞中大量表达, 负责尿酸在肾脏外的排泄^[24]。日本研究者通过分析 644 名高尿酸血症患者和 1 623 名尿酸值正常者的情况, 发现基因 ABCG2 是否变异与患病风险有关。分析显示, 该基因的变异会导致肾脏功能异常, 而人体内的大部分尿酸是通过肾脏排出。在银杏叶中化合物 M₆₇、M₆₈、M₆₉、M₇₁、M₇₃、M₇₄ 都作用于靶点 ABCG2, 促进尿酸的排泄。

2.2.3 黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XOD)
XOD 在人类嘌呤分解代谢中起重要作用^[25]。XOD 催化次黄嘌呤生成黄嘌呤, 进而生成尿酸^[25-26], 因为尿酸是导致痛风的主要原因^[27], XOD 是这种情况治疗最有前途的目标。目前, 药物别嘌呤醇和非布索坦可通过抑制 XOD 降低血清尿酸水平。

表 2 痛风的调节基因

Table 2 Regulation genes of gout

编号	基因	蛋白	分子功能	Uniprot
P_1	CCL2	C-C motif chemokine 2	细胞因子	P13500
P_2	HMOX1	heme oxygenase 1	氧化还原酶	P09601
P_3	NFKBIA	NF-kappa-B inhibitor alpha		P25963
P_4	PPARA	peroxisome proliferator-activated receptor alpha	催化剂、受体	Q07869
P_5	ABCB1	multidrug resistance protein 1	水解酶	P08183
P_6	ABCG2	ATP-binding cassette sub-family G member 2	转运蛋白	Q9UNQ0
P_7	ACACA	Acetyl-CoA carboxylase 1	连接酶	Q13085
P_8	AKT1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	蛋白质激酶, 丝氨酸/苏氨酸激酶, 转移酶	P31749
P_9	ALB	serum albumin		P02768
P_10	BAX	BCL2-associated X protein	BAX 黏液监管机构	Q07812
P_11	BCL2	apoptosis regulator bcl-2		P10415
P_12	CA2	carbonic anhydrase 2	裂解酶	P00918
P_13	CASP3	Caspase-3	水解酶、蛋白酶、巯基蛋白酶	P42574
P_14	CASP8	Caspase 8	水解酶、蛋白酶、巯基蛋白酶	Q14790
P_15	CASP9	Caspase 9	水解酶、蛋白酶、巯基蛋白酶	P55211
P_16	CCND1	G1/S-specific cyclin-D1	细胞周期蛋白、抑制因子	P24385
P_17	CD36	platelet glycoprotein 4	受体	P16671
P_18	CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1a	蛋白激酶抑制因子	P38936
P_19	CPT1A	carnitine- <i>o</i> -palmitoyltransferase 1, liver isoform	酰基转移酶、转移酶	P50416
P_20	CRP	C-reactive protein		P02741
P_21	CXCL10	C-X-C motif chemokine 10	细胞因子	P02778
P_22	CXCL8	interleukin-8	细胞因子	P10145
P_23	CYP2C19	cytochrome p450 2c19	单氧酶、氧化还原酶	P33261
P_24	CYP3A4	cytochrome p450 3a4	单氧酶、氧化还原酶	P08684
P_25	FABP4	fatty acid binding protein 4, adipocyte		P15090
P_26	FOS	proto-oncogene c-fos		P01100
P_27	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	为病毒进入宿主细胞受体、受体	P05362
P_28	IFNG	interferon, gamma	细胞因子	P01579
P_29	IL1A	interleukin 1, alpha	细胞因子、分裂素、热原质	P01583
P_30	IL1B	interleukin 1, beta	细胞因子、分裂素、热原质	P01584
P_31	IL-6	interleukin 6	细胞因子、生长因子	P05231
P_32	INS	insulin	激素	P01308
P_33	MMP9	matrix metalloproteinase 9	金属蛋白酶、水解酶、蛋白酶	P14780
P_34	MPO	myeloperoxidase	氧化还原酶、过氧化物酶	P05164
P_35	ABCC1	multidrug resistance-associated protein 1	水解酶	P33527
P_36	MYC	myc proto-oncogene protein	催化剂	P01106
P_37	NOS3	nitric oxide synthase, endothelial	氧化还原酶	P29474
P_38	PPARD	peroxisome proliferator-activated receptor delta	激活剂、受体	Q03181
P_39	PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	激活剂、受体	P37231
P_40	PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2 synthase and cyclooxygenase	加双氧酶、氧化还原酶、过氧化物酶	P35354
P_41	SELE	E-selectin		P16581
P_42	SLC22A12/URAT1	solute carrier family 22 member 12		Q96837
P_43	STAT1	signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta	催化剂	P42224
P_44	STAT3	signal transducer and activator of transcription 3 response	催化剂	P40763
P_45	TGFB1	transforming growth factor, beta 1	生长因子、分裂	P01137
P_46	TNF	tumor necrosis factor	细胞因子	P01375
P_47	VCAM1	vascular cell adhesion protein 1		P19320
P_48	VEGFA	vascular endothelial growth factor a	生长因子、有丝分裂原	P15692
P_49	XDH	xanthine dehydrogenase/oxidase	氧化还原酶	P47989

别嘌呤醇广泛用于治疗慢性痛风, 已超过 40 年的临床应用。然而, 服用别嘌呤常常带来副作用如发热、皮疹、肾功能下降、肝细胞损伤、白细胞增多、嗜酸性粒细胞增多^[28]。在目前的研究中^[29],

槲皮素、桑色素、杨梅酮、山柰酚、葛根素表现出显著的抑制肝脏 XOD 活性。可能类黄酮主要抑制 XOD 活性, 降低血清尿酸盐的水平。化学结构分析表明, 平面结构的羟基黄酮类化合物在降尿酸中起

到了至关重要的作用。

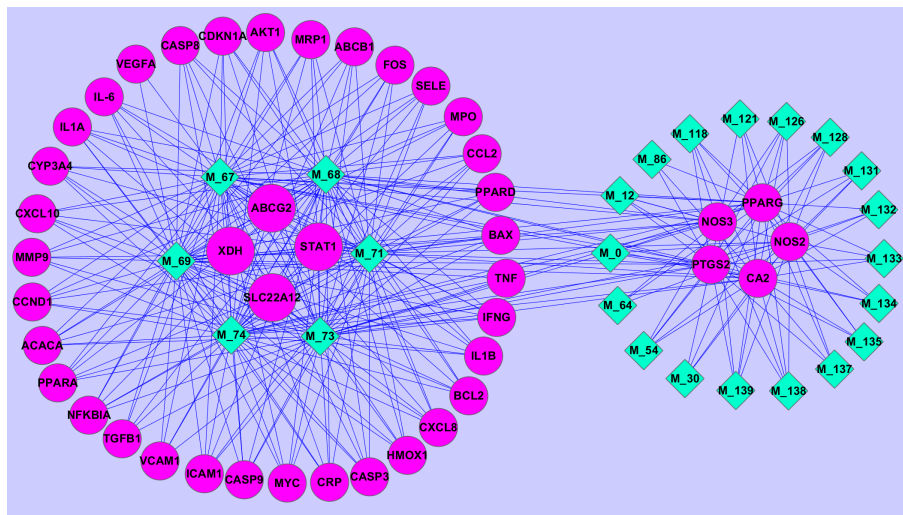
NALP3 炎症体^[30]是一类细胞内膜式识别受体，同 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLR) 一样，是固有免疫系统对病原体的一种重要感受器，广泛参与对病原体上病原相关分子模式的识别，同时也可感知内源性危险信号相关分子模式，产生相应的炎症应答反应。近期研究显示，NALP3 炎症体与痛风炎症发生密切相关。单钠尿酸盐 (MSU) 晶体作为一个危险信号能被模式识别受体识别，活化多个过程最终导致 NALP3 炎症体形成，促进白细胞介素-1 β (IL-1 β) 前体转化为成熟的 IL-1 β ，诱导痛风炎症发生。

2.3 网络构建与分析

研究表明，银杏叶提取物具有降尿酸作用，但是对于具体通过什么方式降低尿酸的研究却很少。

银杏叶提取物对痛风的作用很明显是一个复杂的过程，并非仅是单一化合物作用于单一靶点，而是银杏叶中活性物质共同作用于多个靶点，进而协同作用于痛风疾病的复杂网络。本研究建立了 C-T 和 T-P 网络，通过对这 2 种网络进行分析，来探究活性化合物与其相关靶点之间的关系，分析银杏预防和治理痛风的潜在作用机制。

2.3.1 C-T 网络分析 在对筛选得到的 39 个活性化合物通过靶点预测软件对潜在靶点进行预测，发现有 15 个化合物没有靶点与其相关，删去这 15 个化合物后，将“活性化合物”与“潜在靶点”按照相互对应关系使用 Cytoscape 2.8.3 构建出 C-T 网络(图 3)。C-T 网络中包含 73 个节点 (24 个化合物和 49 个靶点)。从图中可以看出，18 个活性化合物与 NOS3、NOS2、PPARG、PTGS2、CA2 联系紧密。



圆形代表痛风靶点，菱形代表银杏小分子，圆形越大，与该靶点相连的化合物越多
Pink circles represent the targets of gout, cyan diamonds represent the small molecular compounds of ginkgo
While the bigger the circles are, the more compounds the targets connected with

图 3 化合物-靶点网络

Fig. 3 Compound-target network

化合物 M_67、M_68、M_69、M_71、M_73、M_74 与疾病相关的靶点数分别为 42、40、42、38、41、40。

2.3.2 T-P 网络分析 抑制动力学分析表明^[17]，山柰酚 (M_0) 可逆性竞争抑制 XOD 活性。银杏叶中的 M_67、M_68、M_69 能抑制尿酸代谢中的黄嘌呤氧化酶 (XDH)，降低尿酸的产生。

对痛风致病基因与银杏叶中的靶点进行通路富集，结果显示大部分通路炎症通路相关联，Toll-like 相关：AKT2、CASP8、NFKBIA、FOS、

TNF、IL1B、STAT1、CXCL10；NOD-like 相关：CASP8、IKB、CCL2、TNF、IL1B。

CASP8、IkB、CCL2、TNF- α 、IL-1 β 为 NOD-like 通路中的相关靶点。MSU 作为一个内源性危险信号，沉积于组织会激发强烈的炎症反应，并且能被模式识别受体识别，激活多个过程，最终导致 NALP3 炎症体的形成 (图 4)。NALP3 炎症体作为一个多蛋白复合体，活化后可以介导半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (caspase-1) 的激活，从而促进 IL-1 β 前体转化为成熟的 IL-1 β ，诱导痛风炎症的发生^[31]。

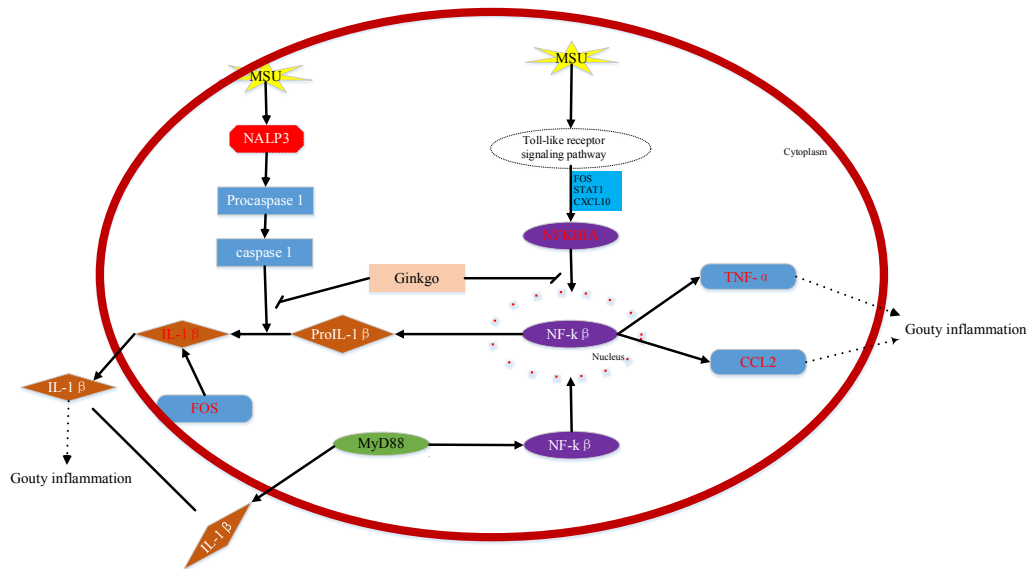


图 4 MSU 诱导的 NALP3 炎性体信号通路

Fig. 4 NALP3 inflammatory body signal pathway induced by MSU

3 讨论

痛风是一种复杂的过程，涉及多个基因和各种复杂的疾病，这使得破译痛风机制更加困难。在本研究中，通过毒药物动力学（ADME）筛选、靶点预测、网络构建以及通路分析的网络药理学方法对银杏叶进行研究，筛选出了银杏叶中的活性分子，对其治疗痛风的潜在作用机制进行了阐述。银杏叶中小分子化合物 158 个，其中包括 61 个黄酮类化合物，25 个萜类化合物，以 $DL \geq 0.18$ 和 $OB \geq 30$ ，筛选出活性化合物 39 个，其中包括 11 个黄酮类化合物和 11 个萜类化合物。

通过网络和通路分析，银杏叶提取物可能通过以下 3 种方式治疗痛风：减少尿酸生成、增加尿酸的排泄、抑制由疾病造成 NALP3 炎性紊乱。

本研究首次应用网络药理学研究系统对银杏叶中的活性化合物及其对痛风的作用机制进行系统研究，从理论预测、分析角度，阐明了银杏叶提取物治疗痛风的潜在作用机制。然而，仍然需要进一步的实验及临床研究对其进行验证及完善。

参考文献

[1] 张瑞芬, 赵晶. 痛风发病机制研究进展 [J]. 实用药物与临床, 2007, 10(4): 244-246.
 [2] 程虹毓, 朱继孝. 银杏叶提取物降尿酸及对黄嘌呤氧化酶抑制作用研究 [J]. 中医药通报, 2013, 12(2): 61-63.
 [3] 李文英, 田大虎, 闫稳平, 等. 银杏叶片对高尿酸血症

患者认知功能障碍的疗效观察 [J]. 世界中医药, 2013, 8(1): 48-50.

[1] 王成章, 陈祥, 谭卫红, 等. 银杏叶中黄酮类化合物及其分析方法 [J]. 林产化学与工业, 1998, 18(1): 83-88.
 [2] 郭瑞霞, 李鹭, 李力更, 等. 天然药物化学史话: 银杏内酯 [J]. 中草药, 2013, 44(6): 641-645.
 [3] 徐艳芬, 张丽娟, 宋新波. 银杏叶提取物的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 452-456.
 [4] van Beek T A. Chemical analysis of Ginkgo biloba leaves and extracts [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 967(1): 21-55.
 [5] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇 [J]. 药学学报, 2012, 47(6): 696-703.
 [6] Liu Y F, Ai N, Keys A, et al. Network pharmacology for Traditional Chinese Medicine research: methodologies and applications [J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(1): 18-26.
 [7] Liu J L, Pei M J, Zheng C L, et al. A systems-pharmacology analysis of herbal medicines used in health improvement treatment: predicting potential new drugs and targets [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013. doi: 10.1155/2013/938764.
 [8] Xu X, Zhang W, Huang C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6): 6964-6982.
 [9] Yamanishi Y, Kotera M, Kanehisa M, et al. Drug-target interaction prediction from chemical, genomic and pharmacological data in an integrated framework [J]. *Bioinformatics*, 2010. doi: 10.1093/bioinformatics/btq176.
 [10] Yu H, Chen J X, Xu X, et al. A systematic prediction of

- multiple drug-target interactions from chemical, genomic, and pharmacological data [J]. *PLoS One*, 2011. doi: 10.1371/journal.pone.0037608.
- [11] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [12] 夏道宗, 张 英, 吕圭源. 黄酮类化合物防治高尿酸血症和痛风的研究进展 [J]. *中国药理学杂志*, 2009, 44(10): 721-723.
- [13] 黄敬群, 李舒焯, 朱妙章, 等. 槲皮素对急性痛风性关节炎模型大鼠炎症因子的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2011 (S2): 5017-5020.
- [14] Wang Y J, Zhang G W, Pan J H, *et al.* Novel insights into the inhibitory mechanism of kaempferol on xanthine oxidase [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(2): 526-534.
- [15] Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, *et al.* Molecular identification of a renal urate-anion exchanger that regulates blood urate levels [J]. *Nature*, 2002, 417(6887): 447-452.
- [16] Shima Y, Teruya K, Ohta H. Association between intronic SNP in urate-anion exchanger gene, SLC22A12, and serum uric acid levels in Japanese [J]. *Life Sci*, 2006, 79(23): 2234-2237.
- [17] 关 明, 陈宇明, 张 炯. SLC22A12 基因 rs893006 基因型与中国人血尿酸水平密切相关 [A] // 中华医学会第七次全国检验医学学术会议资料汇编 [C]. 北京: 中华医学会, 2008.
- [18] Doyle L A, Yang W, Abruzzo L V, *et al.* A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(26): 15665-15670.
- [19] Matsuo H, Takada T, Ichida K, *et al.* Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout: a function-based genetic analysis in a Japanese population [J]. *Sci Transl Med*, 2009. doi: 10.1126/scitranslmed.3000237.
- [20] Krishnamurthy P, Schuetz J D. Role of ABCG2/BCRP in biology and medicine [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2006, 46: 381-410.
- [21] Woodward O M, Köttgen A, Köttgen M. ABCG transporters and disease [J]. *Febs J*, 2011, 278(18): 3215-3225.
- [22] Love B L, Barrons R, Veverka A, *et al.* Urate-lowering therapy for gout: focus on febuxostat [J]. *Pharmacotherapy*, 2010, 30(6): 594-608.
- [23] Chao J, Terkeltaub R. A critical reappraisal of allopurinol dosing, safety, and efficacy for hyperuricemia in gout [J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2009, 11(2): 135-140.
- [24] Wyngaarden J B. Overproduction of uric acid as the cause of hyperuricemia in primary gout [J]. *J Clin Invest*, 1957, 36(10): 1508-1515.
- [25] Singer J Z, Wallace S L. The allopurinol hypersensitivity syndrome. Unnecessary morbidity and mortality [J]. *Arthritis Rheum*, 1986, 29(1): 82-87.
- [26] 王彩萍. 桑枝提取物主要成分及其调节有机离子转运改善高尿酸血症机理研究 [D]. 南京: 南京大学, 2009.
- [27] 贺玲玲, 赵东宝. NALP3 炎性体在痛风发病中的作用 [J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7(11): 4992-4994.
- [28] 何琴花, 王一飞, 张 明. Nalp3 炎性体与 MSU 晶体及其在痛风发病中的作用 [J]. *医药前沿*, 2015, 5(31): 134-137.