

基于网络药理学的乌药主要化学成分药效作用研究

邓桂明¹, 向彪¹, 肖小芹², 欧阳林旗^{1*}, 刘景诗³, 魏凤¹, 朱青³, 蒋司晨¹

1. 湖南中医药大学第一附属医院 药学部, 湖南 长沙 410007

2. 湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南 长沙 410208

3. 中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院 药学部, 湖南 长沙 410013

摘要: **目的** 以乌药主要化学成分预测其作用靶点和药效作用, 构建乌药多成分-多靶点网络。**方法** 选取乌药挥发油、生物碱和呋喃倍半萜及其内酯 3 大类成分中的 7 个代表性化合物(乌药烯酯、异瑟模环烯醇、新木姜子碱、 β -葑草烯、母菊萹、六驳碱、香樟内酯)为研究对象, 利用网络药理学的方法对其潜在作用靶点和通路进行预测, 通过数据整合剖析乌药主要化学成分药效作用。**结果** 7 个化合物可作用于 40 个潜在靶点和 20 条相关信号通路, 涉及抗炎、镇痛、胃肠运动调节、抗氧化、抗肿瘤、肝损伤保护等多个环节; 各类成分之间有共同的作用靶点及通路群, 有共同的药效作用又各有侧重。**结论** 乌药挥发油、生物碱和呋喃倍半萜及其内酯通过多个蛋白靶点和信号通路的调节与转导, 显示出不同成分间的多靶点、多途径的协同作用, 为系统研究乌药药效作用及机制提供了参考。

关键词: 乌药; 网络药理学; 挥发油; 生物碱; 呋喃倍半萜及其内酯; 乌药烯酯; 异瑟模环烯醇; 新木姜子碱; β -葑草烯; 母菊萹; 六驳碱; 香樟内酯

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)21-5125-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.025

Pharmacodynamic effects of main chemical components of *Lindera aggregata* based on network pharmacology

DENG Gui-ming¹, XIANG Biao¹, XIAO Xiao-qin², OUYANG Lin-qi¹, LIU Jing-shi³, WEI Feng¹, ZHU Qing¹, JIANG Si-chen¹

1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

2. The College of Integrated Traditional Chinese and Western medicine of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. Department of Pharmacy, The Affiliate Cancer Hospital of Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410013, China

Abstract: **Objective** To predict the pharmacological effect and targets of main chemical components of *Lindera aggregata*, and construct the multi-target network. **Methods** The potential targets and pathways of linderene acetate, isocembrol, lauroilsine, β -humulene, chamazulene, laurotetanine, and lindstenolide, selected as the representative compounds of oils, alkaloids, and furan sesquiterpene lactones from *Linderae Radix*, were predicted by methods of network pharmacology. The pharmacodynamic effects of main chemical constituents of *L. aggregata* was analyzed by data integration. **Results** The *in silico* prediction results showed that seven compounds of *L. aggregata* affected 20 related pathways through 40 potential targets. The pathways were involved in several links including inflammatory, analgesic, gastrointestinal movement regulation, anti-oxidation, antitumor, liver injury protection, and immunoregulation. The various components showed common targets, pathways, and pharmacodynamic effects and had different emphases. **Conclusion** The pathways related to *L. aggregata* oils, alkaloids, and furan sesquiterpene lactones were connected by the common targets, showing the synergistic effect of different compounds by acting on multi-targets and multi-pathways. This study provides references for systematic exploration on the pharmacological actions and mechanisms of *L. aggregata*.

Key words: *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm; network pharmacology; volatile oil; alkaloid; sesquiterpene lactones; linderene acetate; isocembrol; lauroilsine; β -humulene; chamazulene; laurotetanine; lindstenolide

收稿日期: 2018-04-21

基金项目: 中国博士后基金项目(2016T90752); 湖南省中医药科研计划项目(201429); 湖南省教育厅项目(14A107); 2017年湖南省重点中医建设项目(湘中医药函[2017]11号); 张志国全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教教育[2016]); 湖南省自然科学基金资助项目(2018JJ6040)

作者简介: 邓桂明, 女, 博士(后), 副主任药师, 研究方向为临床中药学。Tel: (0731)85600467 E-mail: guimingd1004@163.com

***通信作者** 欧阳林旗, 主管药师。Tel: (0731)85600467 E-mail: oylq03@163.com

乌药为樟科山胡椒属植物乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根, 性味辛, 温, 具有行气止痛、温肾散寒等功效^[1]。乌药化学成分主要有挥发油、异喹啉类生物碱及呋喃倍半萜、黄酮类等^[2-3], 现代药理学研究表明, 乌药具抗炎、镇痛、抗风湿、抗氧化、抗肿瘤、抗菌、抗疲劳、保护肝脏、保护心血管、调节胃肠运动等多种药理活性^[4], 但其多种成分的作用靶点及分子机制尚待系统研究和探讨。

中医药的特色体现在中药具有多成分、多靶点、系统协同调节的特点, 与网络药理学从整体探索药物与疾病的关联, 具有整体性和系统性的特点不谋而合。将网络药理学引入中药的研究有助于预测和辨识中药作用靶点及活性成分群、阐明作用机制、科学解释组方规律、发现新的适应症、发现新的活性化合物等。利用网络药理学技术构建多层次网络模型, 从整体角度对中药进行研究, 已成为一种科学解释中药有效性和科学性的新策略^[5-8]。

本研究利用网络药理学的方法, 在前期乌药化学成分研究基础上^[3], 选取了乌药挥发油、生物碱和呋喃倍半萜及其内酯 3 大类成分中 7 个代表成分进行潜在靶点和作用通路预测, 得到化合物-靶点-通路网络药理图。通过分析实验数据, 获取了各代表性成分特异性靶点和通路及其共同作用靶点和通路, 解析了乌药主要化学成分的药效作用, 为后续研究提供参考和依据。

1 材料

网络药理实验研究的主要材料是分析软件和数据库, 主要包括 BATMAN-TCM 服务器 (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)、ChemBioOffice2010、京东基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)、通路数据库 (<http://www.genome.jp/kegg/>)、UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>)、生物分子功能注释系统数据库 (MoleculeAnnotation System, MAS 3.0, <http://bioinfo.capitalbio.com/mas3/analysis/>)、传统中药数据库 TCMSP (<http://tcmspnw.com>)。

2 方法

2.1 目标化合物的选取

目标化合物选择主要有 3 个原则, 首先必须为乌药主要化学成分。结合文献报道及本课题组前期实验结果, 乌药挥发油、呋喃倍半萜及其内酯和生物碱 3 类化合物是其主要药效物质基础。选取目标化合物另一原则必须是入血成分, 基于绝大多数药物在体内被吸收入血才能发挥药效。第 3 个原则是必须知道化学成分结构式, 才能获取化学成分网络药理学信息。

2.2 目标化合物作用靶点及通路预测

在 BATMAN-TCM 服务器 (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>) Example2 输入“WU YAO”, 乌药化学成分库可以找到 39 个化合物, 有 18 个化合物没有结构信息, 另 21 个化合物有化学结构, 可以找到网络药理学信息。为提高化合物作用靶点预测, 在 core cutoffsh 设置 80, *P* 值取 0.05, 在乌药化学库中可以找到乌药烯酯 (linderene acetate)、异瑟模环烯醇 (isocembrol)、新木姜子碱 (lauroitsine)、 β -葎草烯 (β -humulene)、母菊萹 (chamazulene)、六驳碱 (laurotetanine)、香樟内酯 (lindestrenolide) 7 个代表性化合物 (表 1 和图 1) 有潜在的作用靶点。

以 7 个代表性化合物为研究对象, 采用反向对接方法找到潜在作用靶点。使用 ChemBioOffice 2014 软件绘制 7 个代表性化合物的三维立体结构图。将化合物三维立体结构式反向分子对接 PharmMapper, 进行药物分子的体内靶点预测; 筛选与药物分子相关的体内靶点, 将靶点投入 UniProt

表 1 乌药中筛选的 7 个化合物的主要信息

Table 1 Detail information of seven compounds from *L. aggregata*

化合物类型	中文名	英文名	CAS 号	分子式
挥发油	异瑟模环烯醇	isocembrol	25269-17-4	C ₂₀ H ₃₄ O
挥发油	β -葎草烯	β -humulene	116-04-1	C ₁₅ H ₂₄
挥发油	母菊萹	chamazulene	529-05-5	C ₁₄ H ₁₆
生物碱	新木姜子碱	lauroitsine	5890-18-6	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄
生物碱	六驳碱	laurotetanine	128-76-7	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄
呋喃倍半萜及其内酯	乌药烯酯	linderene acetate	115-95-7	C ₁₇ H ₂₀ O ₃
呋喃倍半萜及其内酯	香樟内酯	lindestrenolide	20267-90-7	C ₁₅ H ₁₈ O ₂

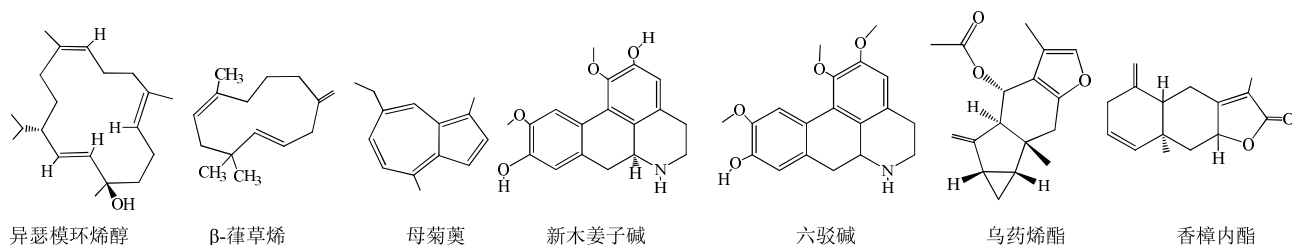


图 1 乌药中筛选的 7 个化合物的结构

Fig. 1 Structure of seven compounds from *L. aggregata*

数据库, 得到所有靶点编号。

将得分较高的靶点投入 MAS 3.0, 得到与靶点相关的信号通路, 查阅 BATMAN-TCM 数据库, 得到乌药作用信号通路 KEGG 的 ID、名称, 以及 Adjusted *P* 值、靶点等。

综合以上数据, 再通过 KEGG 数据库、UniProt 数据库、生物分子功能注释系统数据库及相关文献查阅对计算出的通路进行分析, 找到和抗炎、镇痛、胃肠运动调节、抗氧化、抗肿瘤和镇痛等相关信号通路, 查阅 BATMAN-TCM, 经 Cytoscape 3.5.1 处理, 得到乌药 7 个代表性化合物靶点通路预测图。

2.3 相关靶点与目标化合物的对接实验

通过上述“2.2”项下的反向对接实验, 可以获得目标化合物的潜在作用靶点, 为了进一步探究反向对接实验结果的可靠性, 通过 PharmMapper 药效团模型进行潜在蛋白靶点与目标化合物的对接实验验证。具体过程如下: (1) 在分子对接前, 首先在 Chemdraw3D 软件中将化合物导入, 进行能量优化并将文件保存为 mol2 格式。(2) 在 TCMS 数据库中搜索找到所研究潜在靶点蛋白的 3D 构象, 并保存为 mol2 格式。(3) 将目标化合物与潜在蛋白在 PharmMapper 对接网站进行反向对接验证, 得到化合物与蛋白靶点对接结果及示意图。

3 结果与分析

3.1 目标化合物潜在作用靶点及通路预测

通过 PharmMapper 服务器反向分子对接实验, 分别得到了乌药烯酯、异瑟模环烯醇、新木姜子碱、β-葎草烯、母菊萹、六驳碱、香樟内酯的潜在作用靶点。之后将预测的蛋白靶点通过 MAS3.0、KEGG 和 BATMAN-TCM 数据库对通路进行分析, 得到每个化合物相关作用通路, 再用 Cytoscape 3.5.1 软件分别构建 7 个化合物的化合物-靶点-通路网络药理图(图 2)。

3.2 相关靶点与目标化合物的对接验证结果

通过上述反向对接实验, 获取了乌药烯酯、异

瑟模环烯醇、新木姜子碱、β-葎草烯、母菊萹、六驳碱、香樟内酯潜在的相关作用靶点, 利用潜在的蛋白靶点与乌药 7 个代表化合物的 docking 实验, 对反向对接结果的可靠性进行了验证。分析结果(表 2)发现, 上述 7 个化合物可以较好地对接到各个相应潜在蛋白靶点的活性空腔, 对接得分较高, 证实了反向对接结果的合理性。

3.3 乌药主要化学成分药理作用分析

利用 Cytoscape 3.5.1 软件将 7 个代表性化合物的潜在作用靶点、作用通路进行整合, 得到了乌药主要化学成分化合物-靶点-通路的网络药理图(图 3)。7 个化合物可作用于 40 个潜在靶点, 涉及相关通路 20 条, 其中挥发油单独作用的靶点 32 个, 通路 8 条, 其中异瑟模环烯醇可通过糖酵解(glycolysis)信号通路作用类固醇激素受体 1 (ERR1) 和雌激素受体 2 (ESR2) 蛋白靶点, 促进细胞代谢、加速糖酵解、将葡萄糖转化为丙酮酸为组织细胞提供能量。郭云柯等^[9]发现用温肾散寒法治疗强直性脊柱炎肾虚寒湿证, ESR2 含量明显升高缓解肾虚寒湿症状; 小茴香、吴茱萸、肉桂 3 种温里、温热药性与类固醇激素受体含量成正相关^[10], 因此, 推测异瑟模环烯醇可通过糖酵解信号通路、ERR1、ESR2 发挥温肾散寒作用。生物碱作用于 29 个靶点、8 条通路, 其中新木姜子碱可通过多巴胺能突触(dopaminergic synapse)和 5-羟色胺能突触(serotonergic synapse)信号通路作用于羧基还原酶 1 (NADPH1)、细胞周期蛋白依赖性激酶 2 和 6 (CDK2、CKD6), 调控多巴胺(DA)神经递质释放, 使其与烟碱乙酰胆碱受体结合; 而 NADPH 是抗炎镇痛药发挥药效的催化酶^[11]; CDK2 能有效减轻乳腺癌和前列腺癌疼痛^[12]; 电刺激大鼠 PAG 神经, 大鼠疼痛与 DA 含量呈正相关^[13]。因此, 推测新木姜子碱基于多巴胺能和 5-羟色胺能突触通路作用 NADPH1、CDK2 和 DA 蛋白靶点发挥行气止痛作用。

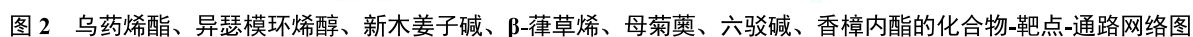


表 2 化合物靶点蛋白对接结果

UniProt	基因	蛋白	疾病	对接分数	化合物
P09210	GSTP1	谷胱甘肽转移酶 P	nephritis（肾炎）	-9.230	异瑟模环烯醇
P03372	ESR1	雌激素受体	colon cancer（结肠癌）	-9.256	乌药烯酯
				-9.157	β -葎草烯
				-7.962	异瑟模环烯醇
				-7.637	新木姜子碱
				-6.702	母菊萸
				-6.206	香樟内酯
Q62986	ESR2	雌激素受体 β		-8.816	β -葎草烯
				-8.488	异瑟模环烯醇
P11309	PIM1	丝氨酸/苏氨酸蛋白激		-8.766	β -葎草烯
				-7.886	母菊萸
				-7.630	新木姜子碱
				-7.804	六驳碱
				-6.342	香樟内酯

续表 2

UniProt	基因	蛋白	疾病	对接分数	化合物
P09211	GSTP1	谷胱甘肽转移酶	sepsis (脓毒症)	-8.543	β -葎草烯
				-8.520	异瑟模环烯醇
				-6.339	母菊萹
				-6.263	香樟内酯
P62508	ESRRA	类固醇激素受体 ERR1		-8.534	β -葎草烯
P15121	AKR1B1	醛糖还原酶	nephropathy (肾病)	-8.236	β -葎草烯
				-6.410	香樟内酯
P21333	FLNA	细丝蛋白-A	otopalatodigital spectrum disorders (泛耳-趾-指(趾)症候群)	-8.233	β -葎草烯
				-6.260	母菊萹
P11473	VDR	维生素 D3 受体		-7.927	β -葎草烯
P11474	ESRRA	类固醇激素受体 ERR1	bone density (骨密度)	-9.199	乌药烯酯
				-8.290	异瑟模环烯醇
				-7.855	β -葎草烯
				-6.781	母菊萹
P03373	ESR1	雌激素受体		-6.686	母菊萹
Q9AIU0	TTGR	HTH 型转录调控因子 TtgR		-9.937	乌药烯酯
				-7.659	六驳碱
				-6.684	母菊萹
O14757	CHEK1	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 Chk1	malignant tumor of colon (结肠恶性肿瘤)	-9.481	乌药烯酯
				-7.965	新木姜子碱
				-7.964	六驳碱
				-6.228	母菊萹
P04585	GAG-POL	Gag-Pol 多蛋白		-6.227	母菊萹
P10276	RARA	视黄酸受体 α	choriocarcinoma (绒毛膜癌)	-6.210	母菊萹
Q96RI1	NR1H4	胆汁酸受体		-8.188	异瑟模环烯醇
P14061	HSD17B1	雌二醇脱氢酶 8		-7.925	异瑟模环烯醇
P00533	EGFR	表皮生长因子受体		-9.277	乌药烯酯
				-7.917	异瑟模环烯醇
P16473	TSHR	促甲状腺素受体		-7.881	异瑟模环烯醇
P56817	BACE1	β -分泌酶 1	Alzheimer's disease (阿尔茨海默病)	-7.812	异瑟模环烯醇
				-6.386	香樟内酯
P04150	NR3C1	糖皮质激素受体	polycystic ovarian syndrome (多囊卵巢综合征)	-9.981	乌药烯酯
				-7.799	异瑟模环烯醇
				-6.125	香樟内酯
P12931	SRC	原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src		-8.360	六驳碱
				-8.313	新木姜子碱
P20248	CCNA2	细胞周期素 A2	kidney diseases (肾脏疾病)	-7.966	新木姜子碱
				-7.887	六驳碱
Q00534	CDK6	细胞周期蛋白依赖性激酶 6	leukemia lymphocytic acute (急性淋巴细胞白血病)	-7.937	新木姜子碱
P16152	CBR1	羧基还原酶 (NADPH 1)	leukemia (白血病)	-7.679	新木姜子碱
P24941	CDK2	细胞周期蛋白依赖性激酶 2		-7.632	新木姜子碱
P11766	ADH5	醇脱氢酶 3 类	metabolic acidosis (代谢性酸中毒)	-7.612	新木姜子碱
Q08881	ITK	酪氨酸蛋白激酶 ITK	neoplasms (肿瘤)	-7.598	新木姜子碱
P13922	RARA	双功能二氢叶酸还原酶-胸苷酸合酶		-7.770	六驳碱
P13631	RARG	视黄酸受体 γ	leukemia promyelocytic acute (早幼粒细胞性急性白血病)	-7.685	六驳碱
P08581	MET	肝细胞生长因子受体	恶性胶质瘤 (malignant glioma)	-7.566	六驳碱
P04637	TP53	细胞肿瘤抗原 p53		-7.539	六驳碱
Q06124	PTPN11	酪氨酸蛋白磷酸酶非受体型 11	X-linked lymphoproliferative syndrome (X-连锁淋巴细胞增殖综合征)	-7.481	六驳碱
				-6.098	香樟内酯
P32754	HPD	4-羟基苯基丙酮酸双加氧酶	nerve degeneration (神经退变)	-9.560	乌药烯酯
P15144	ANPEP	氨肽酶		-9.292	乌药烯酯
P00374	DHFR	二氢叶酸还原酶	parkinson disease (帕金森病)	-9.236	乌药烯酯
P17559	Scgbl1a1	子宫珠蛋白		-9.065	乌药烯酯
P42330	AKR1C3	醛酮还原酶 C3	prostatic hyperplasia (前列腺增生)	-6.401	香樟内酯
O60563	CCNT1	细胞周期蛋白 T1	immunodeficiency syndrome (免疫缺陷综合征)	-6.268	香樟内酯
Q14994	NR1I3	核受体亚科成员 3		-6.091	香樟内酯

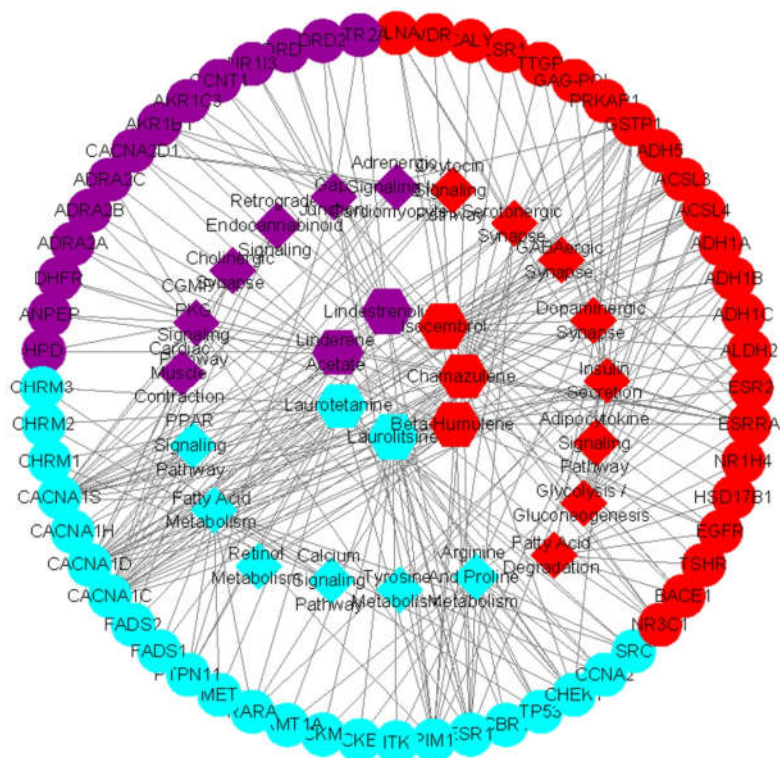


图3 乌药7个代表性成分化合物-靶点-通路网络图

Fig. 3 Compound-Target-Pathway network of seven compounds selected from *L. aggregata*

呋喃倍半萜及其内酯作用于 26 个靶点, 通路 6 条。挥发油和生物碱共同作用的靶点 13 个, 有 3 条共同信号通路; 挥发油和呋喃倍半萜及其内酯共同作用的靶点 13 个, 有 2 条共同信号通路; 生物碱和呋喃倍半萜及其内酯共同作用的靶点 7 个, 有 1 条共同信号通路; 挥发油、生物碱和呋喃倍半萜及其内酯共同靶点有 6 个, 有 1 条共同信号通路, 相关信号通路信息见表 3。分析 7 个代表性化合物的整合数据可见, 生物碱、挥发油、呋喃倍半萜及内酯 3 类成分既有共同作用的靶点及通路群, 又各有侧重, 典型信号通路有过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR) 信号通路, PPAR 是由脂肪酸及其衍生物激活的核激素受体, 有 PPAR- α 、PPAR- β 和 PPAR- γ 3 种, 具有促进细胞增殖功能、参与炎症损伤组织修复、并能抑制脂肪氧化、促进细胞抗氧化功能^[14]; 5-羟色胺递质是一种单胺类神经递质, 5-羟色胺能突触信号通路可调控其与受体结合, 调控胃肠运动功能和内分泌等生理功能^[15]; 乙酰胆碱是广泛分布于中枢、外周和肠道神经系统 (CNS) 中的神经递质, 胆碱胺能突触 (cholinergic synapse) 信号通路调控其与受体烟碱乙酰胆碱结合发挥镇

痛作用^[16]；肾上腺能通路（adrenergic pathway）参与肿瘤细胞的分化，并诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用^[17]。上述预测的作用通路涉及抗炎、镇痛、胃肠运动调节、抗氧化、抗肿瘤、保护肝损伤等多个环节，各通路间通过共有靶点连接，表明乌药不同成分间的多靶点、多途径的协同作用。

4 讨论

异瑟模环烯醇、 β -葑草烯和母菊萸为乌药挥发油类代表成分,可单独作用乙醇脱氢酶 1C (ADH1C)、ESR2、胆汁酸受体 (NR1H4)、雌二醇 17- β -脱氢酶 (HSD17B1) 等 12 个蛋白靶点和 5-羟色胺能突触、糖酵解/糖异生途径 (gluconeogenesis)、催产素 (oxytocin) 等 5 条信号通路。这些靶点和信号通路可推测乌药挥发油能抑制核转录因子- κ B (NF- κ B)、白细胞介素-6 (IL-6) 等炎症因子表达,修复肠道黏膜维持肠道稳态平衡;抑制肿瘤细胞增殖与凋亡,发挥抗肿瘤作用;调控 5-羟色胺 (5-HT) 和胆碱能递质传递,调节平滑肌运动;促进血小板形成发挥凝血作用;调节钙离子通道维持机体内钙离子平衡。实验证实,乌药块根挥发油可抑制食道癌、胃癌、肝癌、结肠癌细胞增殖,诱导凋亡^[18-19]。聂子文等^[20]发现乌药挥

表 3 潜在信号通路生物学信息分析

Table 3 Biological information analysis of potential signaling pathways

KEGG ID	KEGG 通路名称	P 值	靶点
hsa00010	glycolysis/gluconeogenesis	0.017 6	ADH5
hsa00071	fatty acid degradation	5.68×10^{-5}	ACSL3、ACSL4、ADH1A、ADH1B、ADH1C、ALDH2
hsa00330	arginine and proline metabolism	3.13×10^{-5}	ALDH2、CKB、CKM、CKMT1A、CKMT1B、CKMT2、GAMT
hsa00350	tyrosine metabolism	3.71×10^{-3}	ADH1A、ADH1B、ADH1C、TPO
hsa00830	retinol metabolism	2.66×10^{-3}	ADH1A、ADH1B、ADH1C、ALDH1A1、ALDH1A2
hsa01212	fatty acid metabolism	6.70×10^{-3}	ACSL3、ACSL4、FADS1、FADS2
hsa03320	ppar signaling pathway	8.65×10^{-6}	ACSL3、ACSL4、FADS2、PPARD、PPARG、RXRA、RXRB、RXRG
hsa04020	calcium signaling pathway	6.23×10^{-7}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1H、CACNA1S、CHRM1、CHRM2、CHRM3、DRD1、DRD5、HTR2A、HTR2B、HTR2C、SLC8A1
hsa04022	CGMP-PKG signaling pathway	6.94×10^{-3}	ADRA2A、ADRA2B、ADRA2C、CHRM1、CHRM2、CHRM3、DRD1、DRD2、DRD3、DRD4、DRD5、F2、GABRB2、GABRB3、HTR1A、HTR1B、HTR1D、HTR2A、HTR2B、HTR2C、TRPV1
hsa04260	cardiac muscle contraction	1.26×10^{-4}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、CACNA2D1、CACNA2D2、CACNB2、SLC8A1
hsa04261	adrenergic signaling in cardiomyocytes	4.31×10^{-3}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、CACNA2D1、CACNA2D2、CACNB2、SLC8A1
hsa04540	gap junction	8.48×10^{-3}	DRD1、DRD2、HTR2A、HTR2B、HTR2C
hsa04723	retrograde endocannabinoid signaling	3.60×10^{-3}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、GABRB2、GABRB3、PTGS2
hsa04725	cholinergic synapse	5.02×10^{-3}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、CHRM1、CHRM2、CHRM3
hsa04726	serotonergic synapse	2.25×10^{-10}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、GABRB2、GABRB3、HTR1A、HTR1B、HTR1D、HTR2A、HTR2B、HTR2C、KCND2、PTGS1、PTGS2
hsa04727	GABAergic synapse	8.48×10^{-3}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、GABRB2、GABRB3
hsa04728	dopaminergic synapse	4.27×10^{-4}	CACNA1C、CACNA1D、CALY、DRD1、DRD2、DRD3、DRD4、DRD5
hsa04911	insulin secretion	7.90×10^{-3}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、CHRM3、FFAR1
hsa04920	adipocytokine signaling pathway	5.93×10^{-4}	ACSL3、ACSL4、PRKAB1、RXRA、RXRB、XRG
hsa04921	oxytocin signaling pathway	1.51×10^{-3}	CACNA1C、CACNA1D、CACNA1S、CACNA2D1、CACNA2D2、CACNB2、PRKAB1、PTGS2

发油入血后对兔在体肠运动有抑制作用，乌药水煎液能抑制胃排空和小肠推进；龚明等^[21]发现乌药提取物对胃肠运动有双向调节作用。

新木姜子碱和六驳碱为乌药生物碱代表成分，可单独作用原癌基因酪氨酸-蛋白激酶（Src）、细胞周期素 A2（CCNA2）、细胞肿瘤抗原 p53（TP53）等 12 个靶点和精氨酸与脯氨酸代谢（arginine and proline metabolism）、钙离子信号通路（calcium signaling pathway）、酪氨酸代谢（tyrosine metabolism）等 4 条信号通路。这些蛋白靶点、信号通路可调控细胞周期、增生、迁移，参与细胞免疫和生物信号传递，如 Src 参与细胞增殖、免疫应答和炎症介质分泌，TP53 和电压依赖性 T 型钙通道亚基 α -1H（CACNA1H）传递多种生物学活性物质抑制神经中枢，推测乌药生物碱具有抗炎、镇痛、

抗肿瘤、调节免疫等药理作用^[22-23]。较多研究证实异喹啉类生物碱是乌药抗炎、镇痛作用的主要活性成分^[24-26]，能改善胶原诱导性关节炎大鼠关节的骨侵蚀程度。乌药提取物具有增强小鼠免疫功能^[27]，乌药不同极性提取物均表现出抗肿瘤细胞增殖的作用^[21]，Gan 等^[28]研究发现乌药生物碱对 L1210 和 K562 肿瘤细胞有细胞毒性。

以乌药烯酯和香樟内酯为代表的呋喃倍半萜及其内酯可单独作用 4-羟基苯丙酮酸双加氧酶（HPD）、氨肽酶（ANPEP）、二氢叶酸还原酶（DHFR）、 α -2A 肾上腺素能受体（ADRA2A）等 12 个靶点，共同作用信号通路有环磷酸鸟苷酸（cGMP）-环磷酸鸟苷酸依赖性蛋白激酶（PKG）、脂肪细胞因子（adipocytokine signaling pathway）信号通路。其中 ANPEP、ADRA2A 和核受体亚家族

1 组 I 成员 3 (NR1I3) 能调控脂肪酸和视黄酸代谢, 5-羟色胺受体 2A (HTR2A) 等蛋白靶点能调控 5-羟色胺 G 蛋白偶联受体, 推测乌药呋喃倍半萜及其内酯能抑制脂肪酸代谢保护肝组织, 作用胃肠平滑肌细胞调节胃肠运动。实验表明乌药醇提取物可提高急性酒精中毒性肝组织的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 增加抗氧化能力, 并可降低肝细胞炎症因子, 保护肝组织^[29]; 还具有调血脂和对脂肪性肝损伤的护肝作用^[27]。Gan 等^[30]研究发现乌药倍半萜类化合物对 H₂O₂ 诱导的 HepG2 细胞的氧化损伤具有保护活性, 发挥保护肝组织作用。

另外, 网络药理学信息显示乌药 3 大类化合物之间有共同作用的蛋白靶点和信号通路, 显示出多成分、多靶点的协同作用特点。如过氧化物酶体增生物激活受体 (PPAR signaling pathway) 是 3 大类代表物质共同信号通路, 研究发现 PPAR 能抑制炎症表达和改善心血管功能, 可激活 cGMP-PKG 信号通路发挥抗炎、镇痛作用^[31-32]。现有研究发现乌药中 2 类或 3 类成分均有镇痛、抗炎、抗肿瘤和调节胃肠运动等药理作用, 但多用提取物如水提物或醇提物进行研究, 提取物是含有多类物质的混合体, 因此, 对单一或单类成分的药效学筛选有待进一步深入研究。

本研究通过网络药理学方法, 对乌药 3 大类 7 个代表性成分的作用靶点、信号通路进行了探讨, 筛选出关键蛋白靶点并构建药理作用的网络图, 初步阐释了乌药主要成分作用的分子机制, 大部分药理作用得到了实验研究验证, 提示网络药理学预测的准确性较好, 但相关分子机制研究尚未深入探讨, 部分药效学作用仍待实验室角度的验证与思考。因此, 后续可从实验的角度以关键靶点和信号通路为研究切入点, 结合乌药化学成分研究的基础对乌药药理作用进行更加深入的研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 海萍, 高原, 李蓉涛, 等. 乌药的化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(6): 872-875.
- [3] 邓桂明, 向彪, 肖小芹, 等. 基于 GC-MS 和 UPLC-ESI-MS/MS 法研究乌药化学成分 [J]. 中药材, 2016, 39(10): 2229-2236.
- [4] 陈方亮, 余翠琴. 乌药的药理研究概况 [J]. 海峡药学, 2011, 23(12): 44-46.
- [5] 李泮霖, 苏薇薇. 网络药理学在中药研究中的最新应用进展 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2938-2942.
- [6] Li S, Fan T P, Jia W, *et al.* Network pharmacology in traditional chinese medicine [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2014, doi: 10.1155/2014/138460.
- [7] Zhang Y Q, Mao X, Guo Q Y, *et al.* Network pharmacology-based approaches capture essence of Chinese herbal medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 107-116.
- [8] Liu C X, Liu R, Fan H R, *et al.* Network pharmacology bridges traditional application and modern development of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Herb Med*, 2015, 7(1): 3-17.
- [9] 郭云柯. 温肾散寒、化湿通络法治强直性脊柱炎肾虚寒湿证的临床研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2009.
- [10] 柳俊辉. 三种温里药挥发油与其温热药性及散寒止痛功效相关性研究 [D]. 南宁: 广西中医学院, 2008.
- [11] 李鸣. 羧基还原酶和葡萄糖脱氢酶共表达耦联催化合成 (R)-4-甲氧基-1-苯乙醇 [D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- [12] Tindall G T, Nixon D W, Christy J H, *et al.* Pain relief in metastatic cancer other than breast and prostate gland following transsphenoidal hypophysectomy [J]. *J Neurosurg*, 1977, 47(5): 659-662.
- [13] Murotani T, Ishizuka T, Nakazawa H, *et al.* Possible involvement of histamine, dopamine, and noradrenalin in the periaqueductal gray in electroacupuncture pain relief [J]. *Brain Res*, 2010, 1306(1): 62-69.
- [14] Takahashi N, Goto T, Kusudo T, *et al.* The structures and functions of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) [J]. *Nihon Rinsho Jap J Clin Med*, 2005, 63(4): 557-564.
- [15] Chang W, Kanda H, Ikeda R, *et al.* Merkel disc is a serotonergic synapse in the epidermis for transmitting tactile signals in mammals [J]. *Proceed Nat Acad Sci USA*, 2016, 113(37): 5491-5498.
- [16] Oldenburg I A, Ding J B. Cholinergic modulation of synaptic integration and dendritic excitability in the striatum [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21(3): 425-432.
- [17] Yang J H, Saucerman J J. Computational models reduce complexity and accelerate insight into cardiac signaling networks [J]. *Circul Res*, 2011, 108(1): 85-92.
- [18] Yan R, Yang Y, Zou G. Cytotoxic and apoptotic effects of *Lindera strychnifolia* leaf essential oil [J]. *J Essen Oil Res*, 2014, 26(4): 308-314.
- [19] 晏润纬, 彭小梅, 邹国林. 乌药提取物的抗肿瘤及抗氧化活性 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2011, 57(3): 265-268.
- [20] 聂子文, 郭建生, 王小娟, 等. 乌药挥发油的血清药物

- 化学及对兔在体肠运动的影响 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2013, 34(2): 240-243.
- [21] 龚明, 龚建平, 糜亚男. 乌药不同提取物对小鼠胃肠运动调节作用的实验研究 [J]. 中医药导报, 2015, 21(1): 62-63.
- [22] Taniguchi K, Wu L W, Grivennikov S I, *et al.* A gp130-Src-YAP module links inflammation to epithelial regeneration [J]. *Nature*, 2015, 519(7541): 57-64.
- [23] Xu Z, Zhao L, Yang X, *et al.* Mmu-miR-125b overexpression suppresses NO production in activated macrophages by targeting eEF2K and CCNA2 [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 252-261.
- [24] 张剑, 罗人仕, 杨瑜, 等. 乌药总生物碱抗炎镇痛药理学研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(24): 2187-2190.
- [25] Wei Z F, Li Q, Xia Y, *et al.* Norisoboldine, an anti-arthritis alkaloid isolated from *Radix Linderae*, attenuates osteoclast differentiation and inflammatory bone erosion in an aryl hydrocarbon receptor-dependent manner [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(9): 1113-1126.
- [26] Duan C, Guo J M, Dai Y, *et al.* The absorption enhancement of norisoboldine in the duodenum of adjuvant-induced arthritis rats involves the impairment of P-glycoprotein [J]. *Biopharm Drug Disp*, 2017, 38(1): 75-84.
- [27] Wang J W, Chen X Y, Hu P Y, *et al.* Effects of *Linderae Radix* extracts on a rat model of alcoholic liver injury [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(6): 2185-2192.
- [28] Gan L S, Wei Y, Mo J X, *et al.* Alkaloids from *Lindera aggregata* [J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4(1): 43-46.
- [29] 谭明明, 张泓, 王军伟. 乌药对急性酒精性肝损伤的保护作用及机制初探 [J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(12): 1773-1775.
- [30] Gan L S, Zheng Y L, Mo J X, *et al.* Sesquiterpene lactones from the root tubers of *Lindera aggregata* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(8): 1497-501.
- [31] Soubh A A, Abdallah D M, El-Abhar H S. Geraniol ameliorates TNBS-induced colitis: Involvement of Wnt/ β -catenin, p38MAPK, NF κ B, and PPAR γ signaling pathways [J]. *Life Sci*, 2015, 136(2015): 142-150.
- [32] Zhang A, Zhao L, Li N, *et al.* Carbon monoxide inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication by the cGMP/PKG and NF- κ B signaling pathway [J]. *J Virol*, 2016, 91(1): 112-120.