

基于网络药理学的黄连-吴茱萸药对抗癌及治疗心脑血管疾病机制研究

刘树森¹, 孙文斌¹, 李文兰^{1,2,3}, 图雅⁴, 王心雨¹, 邓玲玉¹, 王旭¹, 吴迪¹, 杨娜娜¹, 徐蓓蕾^{1,2,3*}

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 抗肿瘤天然药物教育部工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

3. 黑龙江省预防与治疗老年性疾病药物研究重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150076

4. 中国中医科学院 中医药发展研究中心, 北京 100700

摘要: **目的** 采用网络药理学阐明黄连-吴茱萸药对多成分、多靶点、多途径的作用特点, 为进一步研究黄连-吴茱萸药对抗癌及治疗心脑血管疾病的药效物质基础和机制提供一定理论参考。**方法** 通过 TCMSP 数据库, 以口服生物利用度 ($OB \geq 30\%$) 和类药性 ($DL \geq 0.18$) 2 个重要参数为依据, 经文献整理, 结合生物学功能、含量、研究热度等因素筛选黄连-吴茱萸药对活性成分; 通过 Drugbank 和 TCMSP 数据库进行靶点预测分析; 通过 Uniprot 数据库整理筛选出作用靶点的所有相关基因; 结合 KEGG 数据库进行 GO 分析和通路分析; 使用 Cytoscape 软件构建化合物-靶点-相关疾病网络图。**结果** 经筛选后得到黄连-吴茱萸药对的 41 个化合物, 212 个潜在靶基因, 44 条主要信号通路, 其中 30 条通路与癌症相关, 7 条通路与心脑血管疾病有关, 7 条通路同时参与癌症与心脑血管疾病。**结论** 黄连-吴茱萸药对活性成分通过多成分、多靶点、多通路上调癌症凋亡基因的表达, 下调细胞周期与抑凋亡相关基因的表达, 而产生抗癌作用; 通过抑制血管钙化, 保护血管细胞, 抑制细胞凋亡与增生达到治疗心脑血管疾病的作用。

关键词: 黄连; 吴茱萸; 药对; 网络药理学; 癌症; 心脑血管疾病

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)01-0109-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.016

Network pharmacology-based study on mechanisms of drug pair of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus* in treating cancer and cardio-cerebrovascular diseases

LIU Shu-sen¹, SUN Wen-bin¹, LI Wen-lan^{1,2,3}, TU Ya⁴, WANG Xin-yu¹, DENG Ling-yu¹, WANG Xu¹, WU Di¹, YANG Na-na¹, XU Bei-lei^{1,2,3}

1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Engineering Research Center of Natural Anti-cancer Drugs, Ministry of Education, Harbin 150076, China

3. Heilongjiang Key Laboratory of Preventive and Therapeutic Drug Research of Senile Diseases, Harbin 150076, China

4. Development Research Center for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To clarify the characteristics of drug pair of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus* on multi-components, multi-targets and multi-pathways based on the network pharmacology, and provide a theoretical reference for further study on the pharmacodynamic basis and mechanism of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus* against cancer and cardio-cerebrovascular diseases. **Methods** Through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) database, the parameters of oral bioavailability ($OB \geq 30\%$) and drug-likeness ($DL \geq 0.18$) combined with the biological function, contents, research hotspot and other factors were used to screen out the active ingredients of the medicine pair of *Coptidis Rhizoma - Euodiae Fructus*. DrugBank and TCMSP databases were used to predict and analyze the targets, and Uniprot database was used to sort out all relevant genes affecting the targets. Combining the KEGG database for GO analysis and pathway analysis, "ingredients-targets-related diseases" network was constructed using Cytoscape software. **Results** A total of 41 compounds and 212 potential target genes, as well as 44 signaling

收稿日期: 2019-07-30

基金项目: 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划 (UNPYSCT-2018134); 哈尔滨商业大学校级科研项目 (17XN028); 哈尔滨市应用技术研究与开发项目 (2016RAQXJ009); 青海省科技计划项目 (2018-ZJ-708); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201810240010)

作者简介: 刘树森 (1998—), 男, 本科在读, 主要研究方向为中药药效物质基础和质量评价。Tel: 18846181644 E-mail: lsshrbcu@163.com

***通信作者** 徐蓓蕾 (1983—), 女, 博士, 讲师, 主要从事中药药效物质基础和质量评价研究。Tel: 15124515866 E-mail: xubeilei2006@163.com

pathways were obtained after screening from *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus*, and there were 44 major signaling pathways involved in 30 pathways related to cancer, seven pathways which were related to cardio-cerebrovascular diseases, seven pathways which were related to cancer and cardio-cerebrovascular diseases. **Conclusion** The active ingredients of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus* can up-regulate the expression of cancer apoptosis genes through multi-components, multi-targets and multi-pathways, down-regulate the expression of cell cycle and apoptosis-related genes, and produce anti-cancer effect; Protecting vascular cells by inhibiting vascular calcification, and to achieve the effect of treating cardio-cerebrovascular diseases by inhibiting apoptosis and proliferation.

Key words: *Coptidis Rhizoma*; *Euodiae Fructus*; network pharmacology; cancer; cardio-cerebrovascular disease

黄连 *Rhizoma Coptidis* 味苦, 性寒, 具有清热燥湿、泻火解毒的功效^[1]。其主要化学成分有异喹啉类生物碱, 如小檗碱、巴马汀、表小檗碱、四氢小檗碱、氧化小檗碱等, 此外, 尚含有木脂素、香豆素、黄酮、萜类、甾体、有机酸、挥发油、多糖等多种成分^[2]; 吴茱萸 *Fructus Evodia* 味苦, 性微寒, 具有清热解毒、消肿散结、疏散风热的功效^[1]。吴茱萸的化学成分主要为吲哚型生物碱, 如吴茱萸碱、吴茱萸次碱、去氢吴茱萸碱等, 另有萜类、黄酮、香豆素、木脂素、挥发油、有机酸等^[3]。黄连-吴茱萸药对配伍的方剂, 始见于宋代《太平圣惠方》, 目前, 临床常用有左金丸、茱萸丸、戊己丸、甘露散等, 主要治疗湿热蕴于肝胆、脾胃及大肠所致的各种病症。现代药理学研究发现, 黄连、吴茱萸及其组分配伍具有抗肿瘤、抗抑郁、恢复胃肠功能、改善血管炎症等作用^[4]。

网络药理学融合系统生物学、多向药理学、计算生物学、网络分析等多学科的技术和内容, 进行“疾病-表型-基因-药物”多层次网络的构建, 从整体的角度去探索药物与疾病间的关联性, 发现药物靶标, 并指导新药研发和临床精准用药^[5]。本研究通过应用网络药理学方法构建黄连-吴茱萸药对的主要功效物质靶点的网络模型, 预测分析黄连-吴茱萸药对在抗癌及治疗心脑血管疾病方面的活性成分、作用靶标、效应机制, 以期阐明该药对抗癌及治疗心脑血管疾病的药理作用机制, 明析该药对物质基础, 为进一步开发利用提供依据。

1 资料与方法

1.1 数据库

中药系统药理学分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>), Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>), DrugBank 数据库 (<https://www.drug-bank.ca/>), Pubchem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Cytoscape (3.6.1) 软件 (<http://cytoscapeweb.cytoscape.org/>), 京都基因和基因组百科全书数据库 (<https://www.kegg.jp/>)。

1.2 化学成分筛选

通过 TCMSP 检索与黄连、吴茱萸相关的所有化学成分, 通过页面的过滤器图标自定义筛选结果, 选择化合物分子的筛选条件为口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 , 结合文献报道, 综合考虑该成分的生物学效应、含量以及研究热度等诸多方面的因素, 对化学成分进行筛选。

1.3 黄连-吴茱萸药对中活性成分潜在靶点的预测与筛选

通过 TCMSP 平台寻找候选化合物相关的潜在靶点, 并根据得到的潜在靶点在 TCMSP 平台中找出相关的疾病, 将候选化合物与其潜在的靶点、潜在靶点对应疾病进行整理。整理后的靶点使用 DrugBank 数据库与 Uniprot 数据库, 将靶点的来源物种校正为 Human, 并整理记录靶点蛋白的基因信息, 对没有注明亚型的基因信息也补充列入。

1.4 网络构建

使用 Cytoscape (3.6.1) 软件对候选化合物-潜在靶点和潜在靶点-疾病网络进行构建。网络图中的节点分别为化学成分、潜在靶点、相应疾病。化学成分与潜在靶点或潜在靶点与相应疾病之间有相互作用关系的以边相连。使用 Cytoscape 中 Network Analysis 插件对相应网络进行拓扑性质分析。

1.5 靶点通路富集分析

利用 Cytoscape (3.6.1) 软件中 ClueGo 插件对筛选校正后的靶点进行京都基因百科全书 (KEGG) 通路注释分析。以 $P < 0.05$ 为截点, 获得显著富集的信号通路。

2 结果

2.1 筛选标准的选择及结果分析

基于对样本量、后续数据分析的复杂性以及研究价值的考虑, 本研究选择 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 作为筛选黄连-吴茱萸药对活性化合物的阈值^[6]。TCMSP 数据库中分别得到黄连化学成分 48 个、吴茱萸化学成分 176 个。经大量的文献挖掘与整理,

根据生物学功能、在单味药中的含量、研究热度等 个（其中 3 个化学成分为两药共有）。具体信息见筛选出黄连-吴茱萸药对中具有生物活性的成分 41 表 1。

表 1 黄连-吴茱萸中主要活性成分

Table 1 Main active components of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus*

编号	化合物名称	OB/%	DL	度值
MOL000098	槲皮素 (quercetin)	46.43	0.28	154
MOL000354	异鼠李素 (isorhamnetin)	49.60	0.31	37
MOL000358	β -谷甾醇 (beta-sitosterol)	36.91	0.75	38
MOL000359	谷甾醇 (sitosterol)	36.91	0.75	3
MOL000622	广玉兰内酯 (magnograndiolide)	63.71	0.19	4
MOL000762	棕榈素 A (palmidin A)	35.36	0.65	0
MOL000785	巴马汀 (palmatine)	64.60	0.65	19
MOL001454	小檗碱 (berberine)	36.86	0.78	17
MOL001458	黄连碱 (coptisine)	30.67	0.86	9
MOL002662	吴茱萸次碱 (rutaecarpine)	40.30	0.60	18
MOL002668	甲基黄连碱 (worenine)	45.83	0.87	7
MOL002894	小檗红碱 (berberrubine)	35.74	0.73	13
MOL002897	表小檗碱 (epiberberine)	43.09	0.78	11
MOL002903	(R)-氢化小檗碱 [(R)-canadine]	55.37	0.77	31
MOL002904	小檗浸碱 (berlambine)	36.68	0.82	20
MOL002907	corchoroside A_qt	104.95	0.78	2
MOL003942	吴茱萸苦素 (rutaevine)	66.05	0.58	0
MOL003943	芸香里尼定 (rutalinidine)	40.89	0.22	16
MOL003947	1-甲基-2-[(Z)-10-十五碳烯]-4-喹诺酮 (1-methyl-2-[(Z)-pentadec-10-enyl]-4-quinolone)	48.45	0.46	8
MOL003950	1-甲基-2-[(Z)-6-十一碳烯基]-4-喹诺酮 (1-methyl-2-[(Z)-undec-6-enyl]-4-quinolone)	48.48	0.27	0
MOL003956	二氢吴茱萸次碱 (dihydorrutaecarpine)	42.27	0.60	13
MOL003957	1-甲基-2-十五烷基-4-喹诺酮 (1-methyl-2-pentadecyl-4-quinolone)	44.52	0.46	13
MOL003958	吴茱萸碱 (evodiamine)	86.02	0.64	22
MOL003960	1-(5,7,8-trimethoxy-2,2-dimethylchromen-6-yl) ethanone	30.39	0.18	13
MOL003963	羟基吴茱萸碱 (hydroxyevodiamine)	72.11	0.71	13
MOL003964	1-甲基-2-十一碳烯-4-喹诺酮 (1-methyl-2-undecyl-4-quinolone)	47.59	0.27	14
MOL003972	1-甲基-2-壬基-4-喹诺酮 (1-methyl-2-nonyl-4-quinolone)	48.42	0.20	22
MOL003974	吴茱萸新碱 (evocarpine)	48.66	0.36	11
MOL003975	二十碳-11,14,17-三烯酸甲酯 (icosa-11,14,17-trienoic acid methyl ester)	44.81	0.23	0
MOL003994	24-methyl-31-norlanost-9(11)-enol	38.00	0.75	1
MOL004002	5 α -O-(3'-甲基-3'-苯基丙酰基)烟碱 [5 α -O-(3'-methylamino-3'-phenylpropionyl) nicotaxine]	30.86	0.49	0
MOL004004	6-OH 木犀草素 (6-OH-luteolin)	46.93	0.28	6
MOL004014	吴茱萸酰胺 (evodiamide)	73.77	0.28	15
MOL004017	石杉碱乙 (fordimine)	55.11	0.26	0
MOL004018	吴茱萸果酰胺 I (goshuyamide I)	83.19	0.39	22
MOL004019	吴茱萸果酰胺 II (goshuyamide II)	69.11	0.43	17
MOL004020	棉花皮素 (gossypetin)	35.00	0.31	10
MOL004021	gravacridoneshiline	63.73	0.54	6
MOL004025	去甲基吴茱萸酰胺 [N-(2-methylaminobenzoyl) tryptamine]	56.96	0.26	12
MOL008647	穆坪马兜铃酰胺 (moupinamide)	86.71	0.26	0
MOL013352	黄柏酮 (obacunone)	43.29	0.77	0

2.2 黄连-吴茱萸药对活性成分-靶点作用网络分析

通过 TCMSP 平台寻找与 41 个候选化合物相关的潜在靶点, 由于在此数据库中有 8 个活性成分未收录与之对应的靶点, 故针对有相应靶点的 33 个活性成分, 通过 Cytoscape (3.6.1) 软件绘制出活性成分-靶点相互作用网络图, 见图 1。有效成分节点网络基本拓扑性质分析结果见表 1。网络图直观地反映这些成分与靶标的相互作用。图中中间部分“V”形代表黄连-吴茱萸药对中活性化合物, 圆形代表作用靶点。节点之间的边代表了成分与靶点之间的作用关系。此网络中包含了 245 个节点和 617 条边。黄连-吴茱萸药对中每个活性成分平均作用于 18.70

(617/33) 个靶标, 每个靶标平均连接 2.91 (617/212) 个化合物。

筛选结果表明黄连-吴茱萸药对中主要组分包含生物碱、萜类、黄酮类、苷类和酯类。本次筛选生物碱、黄酮和苷类成分具有良好的 OB 和 DL 值；例如四氢小檗碱（度值 31）、吴茱萸碱（度值 22）、巴马汀（度值 19）、吴茱萸次碱（度值 18）、小檗碱（度值 17）、槲皮素（度值 154）、异鼠李素（度值 37）。

2.3 靶点-疾病相互作用网络分析

靶点-疾病相互作用网络图, 见图 2。图中圆形代表作用靶点, 菱形代表作用相关疾病。此网络中包含了 414 个节点 (其中 107 个靶点、307 种相关

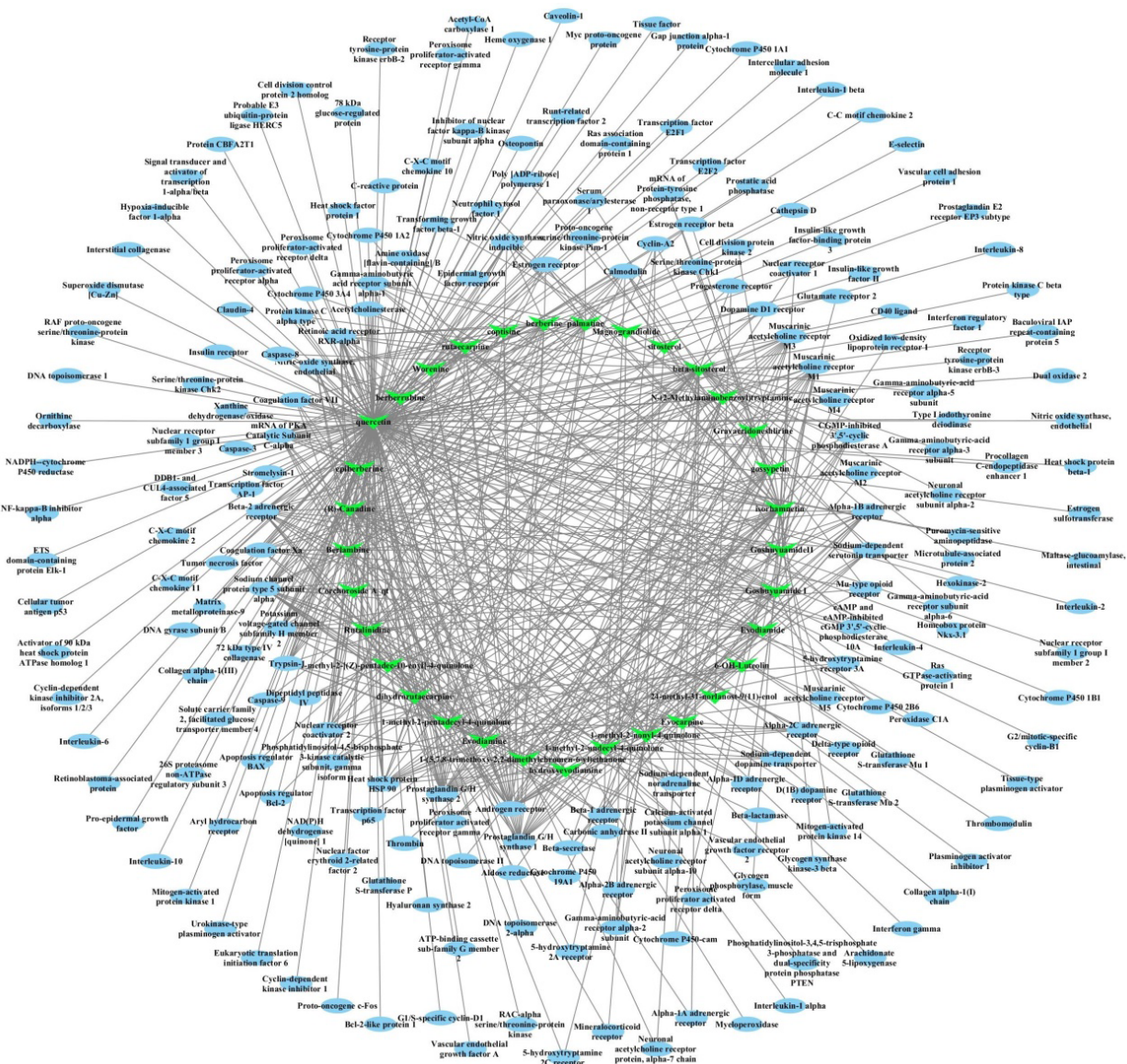


图1 黄连-吴茱萸药对中活性成分对应靶点相互作用网络

Fig. 1 Targets-active ingredients interaction network diagram of *Coptidis Rhizoma-Euodiae Fructus*



疾病)和551条边。在有效成分-靶点相互作用网络图中有212个靶点,而在靶点-疾病相互作用网络图中只有107个相应靶点,由此得知,有105个靶点没有与之相对应的疾病。本实验选取了度值大于平均值(5.15)的靶点进行了整理,靶点信息与网络基本拓扑性质分析结果见表2。

前列腺癌、胰腺癌、肝癌、胃癌、肠癌、糖尿病、非小细胞肺癌、骨髓瘤、脑瘤等多种疾病相关。

通过 KEGG 通路分析, 利用 Cytoscape 软件建立靶点-通路网络图, 212 个靶点可富集到 114 条信号通路, 并形成 283 个节点和 2 491 条边, 与癌症以及心脑血管相关的主要通路 44 条, 见表 3。

本研究预测黄连-吴茱萸药对 44 条主要通路中有 30 条通路与癌症相关, 包括 PI3K-Akt 通路、MicroRNAs in cancer 通路、HIF-1 通路、Transcriptional misregulation in cancer 通路、C-type lectin receptor

表 2 主要靶点网络节点基因名称及拓扑学性质

Table 2 Topology characteristics and genes of main hub nodes from targets network

基因 ID	靶点	基因	度值
P35354	prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2	32
P37231	peroxisome proliferator activated receptor gamma	PPARG	26
P09917	arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	26
P03372	estrogen receptor	ESR1	18
Q16539	mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14	13
P09211	glutathione S-transferase P	GSTP1	13
P00533	epidermal growth factor receptor	EGFR	13
P01375	tumor necrosis factor	TNF	13
P24941	cell division protein kinase 2	CDK2	13
P08253	72 kDa type IV collagenase	MMP2	13
P08238	heat shock protein HSP 90	HSP90AB1	12
P28223	5-hydroxytryptamine 2A receptor	HTR2A	10
P08254	stromelysin-1	MMP3	9
P29474	nitric-oxide synthase, endothelial	NOS3	9
P08172	muscarinic acetylcholine receptor M2	CHRM2	9
P03956	interstitial collagenase	MMP1	9
P08588	β -1 adrenergic receptor	ADRB1	8
P11388	DNA topoisomerase II	TOP2A	8
Q03181	peroxisome proliferator activated receptor delta	PPARD	8
P00734	thrombin	F2	8
P10275	androgen receptor	AR	8
P05231	interleukin-6	IL6	7
P00742	coagulation factor Xa	F10	7
P13500	C-C motif chemokine 2	CCL2	7
P05412	transcription factor AP-1	JUN	7
P07550	β -2 adrenergic receptor	ADRB2	7
P13726	tissue factor	F3	7
P08235	mineralocorticoid receptor	NR3C2	7
P16581	E-selectin	SELE	6
P49841	glycogen synthase kinase-3 beta	GSK3B	6
Q14524	sodium channel protein type 5 subunit alpha	SCN5A	6

通路、NOD-like receptor 通路、Toll-like receptor 通路、FoxO 通路、p53 通路等；通过作用于 Calcium 通路、cGMP-PKG 通路、Adrenergic signaling in cardiomyocytes 通路、VEGF 通路、Apelin 通路等 7 条通路来产生治疗心脑血管疾病的作用。另外，7 条通路同时参与癌症与心脑血管疾病，包括 TNF 通路、JAK-STAT 通路、NF-kappa B 通路、MAPK 通路等。

3 讨论

黄连-吴茱萸药对作为体现寒热并用、辛开苦降配伍理论的代表药对，历史悠久，临床应用广泛。为了研究黄连-吴茱萸药对的作用机制，本研究依托 TCMSP 中药系统药理学分析平台，研究了黄连-吴

茱萸药对的有效成分，同时构建了化合物-靶点-相关疾病网络图，分析了化合物、靶点、疾病的相互作用关系，为黄连-吴茱萸药对多成分、多靶点、多途径的治疗机制提供了参考。

抗癌方面（度值前 15 的化合物），有研究证明小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱等均有良好的抗肿瘤活性，四氢小檗碱、巴马汀、氧化小檗碱等在抗癌方面也有一定活性^[7-8]。研究显示，小檗碱通过抑制花生四烯酸代谢通路、激活 AIF 介导的 Caspase 非依赖途径诱导肝癌细胞凋亡，同时通过干扰该通路，抑制 Caspase-3-PLA2-AA-PGE2 信号通路下调迁移相关蛋白 MMP-2、MMP-9 和 Exo70，从而抑

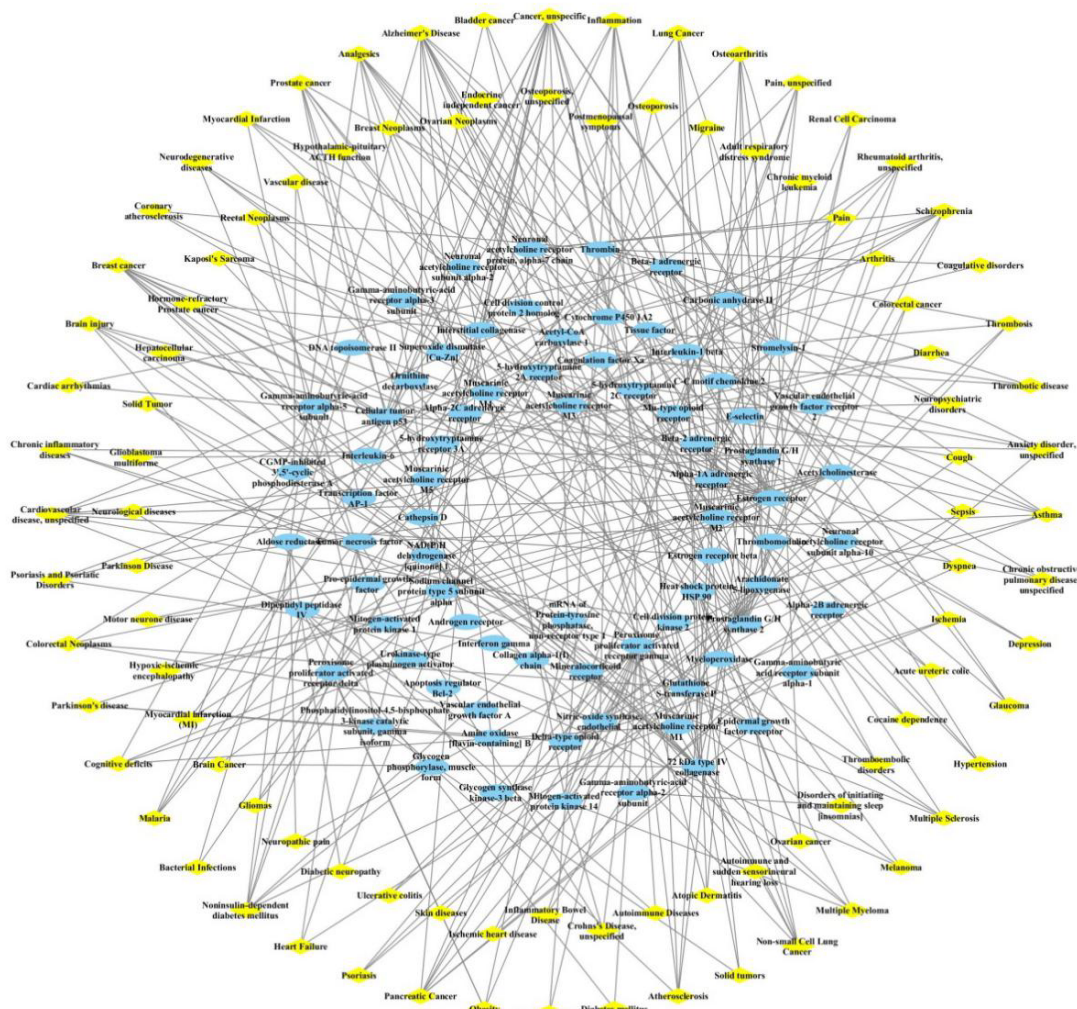


图3 黄连-吴茱萸疾病度值 ≥ 2 条件下的靶标-疾病相互作用网络

Fig. 3 Targets-diseases interaction network diagram of *Coptidis Rhizoma*-*Euodiae Fructus* under condition of degree ≥ 2

制肝癌转移与复发^[9-11]；小檗碱还能通过上调 p-AMPK、p-JNK、FOXO₃ 含量，抑制 FOXO₃ 磷酸化，激活肺腺癌细胞氧化应激反应，发挥诱导肺癌细胞凋亡的作用^[12-13]。此外，小檗碱还可以通过抑制 AMPK 影响 HIF-1 α -p53 信号通路诱导耐药乳腺癌细胞凋亡^[14]。另有研究显示，黄连碱可能通过 AKR1C3、CCNA2、ESR1 和 IL-2 等靶点参与结肠癌的发生发展。通过 PI3K-Akt 和 MEK-ERK 通路抑制肿瘤组织中原癌基因 TNF- β 和 KRAS，上调抑癌基因 p53，下调 MAPK 通路相关基因 mRNA 的表达，抑制结肠癌细胞的增殖^[15]。吴茱萸碱主要通过上调促凋亡基因的表达，下调细胞周期及抑凋亡相关基因的表达，产生抗癌作用^[16]；通过激活 p53 信号通路和 Caspase 家族^[17]，激活 AMPK 信号通路，引起自噬从而发挥抗结肠癌作用^[18]；吴茱萸碱还能

够抑制 PGI 的表达, 抑制 JAK2/STAT3 信号通路的激活, 使得其下游蛋白 MMP-3 合成和分泌减少, 或者激活 IkB α /NF- κ B-p65 信号通路, 发挥抑制结肠癌细胞迁移与侵袭相关蛋白表达的作用^[17,19]。研究还显示, 吴茱萸碱通过抑制细胞周期蛋白 cyclinA1 的表达引起癌细胞周期阻滞^[17]; 使胃癌细胞在一定时间内 Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 蛋白表达上调, 从而执行细胞凋亡^[20]; 抑制 PI3K/Akt、ERK1/2 MAPK、p38 MAPK 信号通路诱导小细胞肺癌细胞凋亡、影响卵巢癌细胞的增殖、分化、凋亡和转移等过程^[21-22]。通过抑制 Wnt/ β -catenin 降低 VEGFa 转录活性, 阻滞血管形成, 发挥抗肝癌作用^[23], 也有报道显示吴茱萸碱还能通过抑制 NOD1 信号通路的激活诱导肝癌细胞凋亡^[24]。研究显示, 黄连-吴茱萸的配伍通过上调促凋亡基因表达, 下调细胞周期

表 3 KEGG 主要通路的信息

Table 3 Information of main pathways of KEGG

分类	通路名称	涉及基因数
癌症	pathways in cancer	66
	PI3K-Akt signaling pathway	35
	prostate cancer	28
	proteoglycans in cancer	26
	hepatocellular carcinoma	25
	microRNAs in cancer	24
	small cell lung cancer	21
	breast cancer	20
	HIF-1 signaling pathway	20
	gastric cancer	19
	pancreatic cancer	19
	transcriptional misregulation in cancer	18
	bladder cancer	17
	colorectal cancer	17
	non-small cell lung cancer	17
	C-type lectin receptor signaling pathway	17
	NOD-like receptor signaling pathway	17
	Toll-like receptor signaling pathway	17
	FoxO signaling pathway	17
	melanoma	12
	chronic myeloid leukemia	16
	viral carcinogenesis	15
	p53 signaling pathway	15
	endometrial cancer	14
	glioma	14
	acute myeloid leukemia	11
	central carbon metabolism in cancer	10
	choline metabolism in cancer	10
	chemical carcinogenesis	9
	thyroid cancer	7
心脑血管疾病	fluid shear stress and atherosclerosis	32
	calcium signaling pathway	23
	cGMP-PKG signaling pathway	15
	adrenergic signaling in cardiomyocytes	13
	VEGF signaling pathway	12
	apelin signaling pathway	11
	viral myocarditis	7
同时参与癌症、心脑血管疾病	MAPK signaling pathway	29
	IL-17 signaling pathway	23
	TNF signaling pathway	23
	chemokine signaling pathway	17
	JAK-STAT signaling pathway	15
	NF- κ B signaling pathway	15
	Th1 and Th2 cell differentiation	11

及抑凋亡基因的表达,使得抗肿瘤作用更加明显^[25]。通过阻滞细胞 G₀/G₁ 期、S 期发挥其肿瘤生长抑制作用,显著上调 Bax 和 Bak 蛋白的表达、下调 Bcl-2 和 Bcl-xl 蛋白的表达、显著提高 Caspase-3 和

Caspase-9 的酶活力,作用于线粒体途径^[26];通过恢复 crubms3、E-cadherin 的表达,并抑制 α -SMA 的表达,对抗 TGF- β 1 的促表型转变发挥出抗肿瘤的效应^[27]。

对于心脑血管疾病方面(度值前 15 的化合物),研究显示四氢小檗碱在抗血栓,治疗高血压、心律失常、急性心肌梗死、纤维性颤动及缺血再灌注损伤等方面有良好作用^[28];吴茱萸碱具有较好的降压功效^[29];小檗碱有良好的治疗心脑血管的药理活性^[7];巴马汀、吴茱萸次碱在血管保护方面有良好活性^[30];氧化小檗碱在心脏保护方面有一定作用^[31]。文献报道表明,小檗碱通过部分抑制 ERK1/2MAPK 及 P38 MAPK 信号通路,从而抑制人主动脉血管平滑肌细胞钙化^[32];通过抑制 NF- κ B 通路,下调 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量,增加 NO 水平保护血管内皮细胞^[33];通过调节 Bcl-2 家族蛋白, Caspase 通路抑制心肌细胞缺氧/复氧损伤细胞凋亡^[34];研究还显示小檗碱通过参与 Akt/GSK/CREB 信号通路,从而产生脑保护作用^[35]。吴茱萸次碱通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路,促进 CGRP 释放,保护心肌缺血/再灌注损伤^[36];还能通过阻滞 MAPK 信号通路,促 NO、cGMP 产生,抑制颈总动脉内膜增生^[37]。也有研究表明,当黄连-吴茱萸配伍使用时,在调脂方面协同增效作用明显^[38]。

以上文献报道结果均在本实验结果中得以印证。目前研究显示黄连-吴茱萸药对可用于结肠癌、肝癌、乳腺癌、卵巢癌等多种癌症^[14,21],还可用于治疗冠心病、调节血脂等方面^[33]。此外,本研究提示两药配伍可能在抗膀胱癌、黑色素瘤、甲状腺癌方面也有一定药理作用。

从研究结果来看,黄连-吴茱萸药对中的每个化合物可调控多个靶点,同一靶点可参与多个信号通路和生物学过程,体现了黄连-吴茱萸药对多靶点、多通路协同作用的特点。化合物-靶点-相关疾病网络中度值较高的靶点,参与多个重要的信号通路和生物学过程,为黄连-吴茱萸药对抗癌、治疗心脑血管疾病的研究与临床应用提供科学依据,也为进一步阐明中药黄连-吴茱萸药对的潜在作用机制奠定基础。但是由于所使用平台数据收录更新的相对滞后,使得筛选条件受到一定限制,尚不能囊括所有的化学成分和靶点,因而研究预测的结果存在一定的局限性。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

- [2] 盖晓红, 刘素香, 任涛, 等. 黄连的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4919-4927.
- [3] 赵楠, 李达翎, 李占林, 等. 吴茱萸化学成分的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2016, 33(2): 103-109.
- [4] 周昕, 林晶晶, 王静, 等. 黄连-吴茱萸组分配伍对高脂模型大鼠脂代谢相关基因的影响研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(3): 605-608.
- [5] 梁日欣, 杨洪军, 许海玉, 等. 中药药理学研究进展 [M]. 北京: 科学出版社, 2017.
- [6] 谢盈戔, 刘璐, 李渊芳, 等. 基于网络药理学的四妙勇安汤在血管新生中的作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4319-4330.
- [7] 杨庆珍, 郑司浩, 黄林芳. 小檗碱提取方法和药理活性研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(5): 519-525.
- [8] 邱超, 崔元璐, 齐学洁, 等. 黄连和吴茱萸配伍现代研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4): 582-587.
- [9] 郑慧琳. 黄连素对“凤凰涅槃”信号通路引起肝癌转移的抑制作用及机制探讨 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [10] Huang Q, Li F, Liu X, *et al.* Caspase 3-mediated stimulation of tumor cell repopulation during cancer radiotherapy [J]. *Nat Med*, 2011, 17(7): 860-866.
- [11] 陈彬彬. 黄连素对人结肠癌细胞凋亡和迁移作用的研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2014.
- [12] 柯昌康, 刘毓英, 倪云峰, 等. 腺苷酸活化蛋白激酶在黄连素诱导人肺腺癌细胞凋亡中的作用机制 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(9): 3977-3980.
- [13] 刘红岗, 赖远阳, 朱以芳, 等. JNK/FOXO3 信号通路介导黄连素促人肺腺癌 PC-9 细胞凋亡的研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(17): 846-850.
- [14] 潘悦. 基于以 AMPK 为靶点的药物抗肝癌和抗乳腺癌多药耐药作用及其机制探讨 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [15] 黄涛. 黄连碱的结肠癌预防作用及其机制研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2017.
- [16] 袁晓龙. 吴茱萸碱诱导人肾癌细胞凋亡的分子机制研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- [17] 赵绿翠. 吴茱萸碱对人结肠癌 HCT-116 细胞体外增殖和迁移的影响及其作用机制的研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2015.
- [18] 吕艳伟, 郭星娟, 周鹏, 等. 吴茱萸碱激活结肠癌细胞自噬抑制其增殖的研究 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4851-4856.
- [19] 周鹏, 吕艳伟, 李静, 等. 吴茱萸碱通过 NF- κ B-p65 信号通路抑制人结肠癌细胞 SW480 的迁移和侵袭 [J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(6): 549-555.
- [20] 张曼. 酸性鞘磷脂酶调节的内质网应激在胃癌细胞凋亡中的作用探讨 [D]. 贵阳: 贵阳医学院, 2014.
- [21] 祁迪. 吴茱萸碱及其衍生物抑制 PI3K/AKT 通路诱导小细胞肺癌细胞凋亡 [D]. 重庆: 第三军医大学, 2016.
- [22] 魏丽娟. 吴茱萸碱对人高转移卵巢癌细胞 HO-8910PM 的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [23] 杨凡. 吴茱萸碱抗肝癌作用及机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [24] 郭星娟, 李晓朋, 吕晓婷, 等. 吴茱萸碱抑制 NOD1 通路诱导肝癌 HepG2 和 SMMC-7721 细胞凋亡 [J]. 中国药理学通报, 2018, 34(11): 1588-1593.
- [25] 张凌杭. CAFs 诱导肠上皮细胞表型改变及中药单体的干预作用 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [26] 许丽娜. 左金丸体外抗肿瘤活性及作用机制的初步研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2012.
- [27] 黄超. TGF- β 1 诱导肠上皮表型转变相关表观遗传机制及中药单体干预 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
- [28] 季宇彬, 刘欣, 于蕾, 等. 四氢小檗碱药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(24): 5270-5275.
- [29] 滕之颖, 蔡雪婷, 杨洋, 等. 吴茱萸碱对炎症相关性结直肠癌的预防作用研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2015, 31(3): 234-237.
- [30] Deng J, Qin J, Cai Y, *et al.* Rutaecarpine suppresses proliferation and promotes apoptosis of human pulmonary artery smooth muscle cells in hypoxia possibly through HIF-1 α -dependent pathways [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2018, 71(5): 293-302.
- [31] Saranya S, Baskaran R, Poornima P, *et al.* Berberine ameliorates isoproterenol-induced myocardial infarction by inhibiting mitochondrial dysfunction and apoptosis in rats [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 3101-3113.
- [32] 张鑫鹏. 黄连素通过 MAPK 信号通路抑制 AGEs 诱导的人主动脉血管平滑肌细胞钙化 [D]. 重庆: 西南医科大学, 2018.
- [33] 曹雪明, 朱娜. 黄连素对冠心病大鼠血管内皮细胞损伤的保护机制研究 [J]. 中医药学报, 2018, 46(5): 30-33.
- [34] 车奕宏. 黄连素通过调节 Bcl-2 家族蛋白和 Caspase 通路抑制缺氧/复氧诱导的 H9C2 细胞凋亡 [D]. 西安: 第四军医大学, 2014.
- [35] 张晓林. 脑梗死早期应用黄连素对缺血性脑组织的保护作用及对 pAkt, pGSK, pCREB 和 NF- κ B 调节作用的实验研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2012.
- [36] 杨晶, 张晓坚, 胡长平. 吴茱萸次碱通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路保护大鼠心肌缺血/再灌注损伤 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(12): 1707-1712.
- [37] 徐洋. 吴茱萸总碱和吴茱萸次碱对球囊损伤所致大鼠颈总动脉内膜增生影响的研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2013.
- [38] 王静. 从血脂调控 Leptin/JAK2/STAT3 信号通路探索黄连吴茱萸配伍的降脂效应 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.