

基于网络药理学的七味通痹口服液治疗类风湿性关节炎作用机制研究

柯志鹏^{1,2,3}, 张新庄^{1,2,3}, 耿 婷^{1,2,3}, 鲁明明⁴, 曹泽或^{1,2,3}, 曹 亮^{1,2,3}, 王振中^{1,2,3}, 肖 伟^{1,2,3*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

3. 中成药智能制造国家地方联合工程研究中心, 江苏 连云港 222001

4. 江苏康缘阳光药业有限公司, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 研究七味通痹口服液治疗类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的主要活性成分和潜在的分子作用机制。方法 通过分子对接获得七味通痹口服液成分作用的潜在靶蛋白,结合文本挖掘、数据库联用检索出与RA相关的靶蛋白,将其投射到KEGG数据库阐释七味通痹口服液的分子作用机制,并采用体外抗炎活性实验进行验证。结果 数据分析结果表明,七味通痹口服液中107个潜在活性成分作用于与RA相关的116个靶点和237条通路。进一步的网络特征分析发现高网络度和介数的分子主要为三萜类、黄酮类、甾醇类和生物碱化合物,部分化合物在实验中对炎症介质的释放具有抑制活性;靶蛋白和通路主要发挥抗炎镇痛,免疫调节,滑膜成纤维细胞的增殖、凋亡、迁移与侵袭和破骨细胞分化、迁移、骨吸收等药理作用。结论 七味通痹口服液的活性成分通过与多个靶点蛋白作用,调控多条生物通路,起到减轻关节炎症状和肿痛、防止和减少关节的破坏、促进已破坏的关节和骨修复的作用,为七味通痹口服液药效成分分析和作用机制探索提供了研究基础。

关键词: 七味通痹口服液; 网络分析; 类风湿性关节炎; 网络药理学; 分子对接; 齐墩果酸; 熊果酸; 常春藤皂苷元

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)17-4489-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.17.017

Research on molecular mechanism of Qiwei Tongbi Oral Liquid in treatment of rheumatoid arthritis via network pharmacology

KE Zhi-peng^{1,2,3}, ZHANG Xin-zhuang^{1,2,3}, GENG Ting^{1,2,3}, LU Ming-ming⁴, CAO Ze-yu^{1,2,3}, CAO Liang^{1,2,3}, WANG Zhen-zhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

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

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

3. National and Local Joint Engineering Research Center of Intelligent manufacturing of TCM, Lianyungang 222001, China

4. Jiangsu Kanion Sunshine Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210046, China

Abstract: Objective To investigate the major active components and potential molecular mechanism of Qiwei Tongbi Oral Liquid in treatment of rheumatoid arthritis. **Methods** After protein targets related with rheumatoid arthritis (RA) were collected by mining literature, DrugBank, TTD and OMIM database, the potential protein targets based on molecular docking were projected into KEGG databases to illustrate the molecular mechanism of Qiwei Tongbi Oral Liquid. Then RAW264.7 cells induced by LPS were employed to test the predict results. **Results** Data analysis showed that 107 potential components acted on 116 RA related targets and 237 pathways. Herb-compound-target-pathway network analysis showed that triterpenoid, flavonoids, sterols and alkaloids isolated from Qiwei Tongbi Oral Liquid were the main active ingredients. These compounds could interact with a group of targets and pathways that might participate in anti-inflammatory, analgesic, immune regulation, proliferation, apoptosis, migration and invasion of synovial fibroblasts, osteoclast differentiation, migration and bone resorption. Some compounds against anti-inflammatory activity were verified by *in vitro*. **Conclusion** The active components of Qiwei Tongbi Oral Liquid could regulate multiple biological pathways by acting with multiple target proteins, playing a role in reducing inflammation and swelling of joints, preventing and

收稿日期: 2020-03-27

基金项目: 江苏省青年基金项目(BK20180268)

作者简介: 柯志鹏(1986—),男,山东荣成人,硕士,研究方向为中药新药研究与开发。Tel: 15715168099 E-mail: kzp0901@163.com

*通信作者 肖 伟,博士,研究员,研究方向为中药新剂型研究与开发。Tel: (0518)85521956 E-mail: xw_kanion@163.com

reducing the destruction of joint bones, and promoting the repair of damaged joint bones. The research results not only reveal its molecular mechanism and pharmacodynamic components, but also provide a theoretical basis for the subsequent experimental research of Qiwei Tongbi Oral Liquid.

Key words: Qiwei Tongbi Oral Liquid; network analysis; rheumatoid arthritis; network pharmacology; molecular docking; oleanolic acid; ursolic acid; hederagenin

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种全身性慢性自身免疫性疾病, 其主要病理特征为关节滑膜的慢性炎症和增生导致血管翳形成, 进而侵犯关节软骨、软骨下骨、韧带和肌腱等, 造成关节软骨、骨和关节囊破坏, 如果不及时治疗, 最终导致关节畸形和功能丧失^[1]。目前, 由于 RA 的发病机制尚不完全清楚^[2], 临床上主要使用非甾体类抗炎药、糖皮质激素、改善病情抗风湿药和生物制剂治疗类风湿关节炎, 虽有一定疗效, 但长期服用常伴随胃肠道异常、肝损害、荨麻疹、感染和其他自身免疫性疾病等不良反应^[3]。中药治疗 RA 历史悠久, 具有疗效好、毒副作用小的优势, 近年来越来越受到人们的重视^[4]。

七味通痹口服液是由蚂蚁、青风藤、鸡血藤、鹿衔草、石楠藤、千年健和威灵仙 7 味药材经提纯精制而成的口服液体制剂, 临床主要用于治疗类风湿性关节炎, 疗效确切^[5-6]。现代研究显示蚂蚁有增强人体免疫功能和抗炎镇痛等作用, 其主要成分包括多巴胺类衍生物、生物碱类、有机酸类、氨基酸类和维生素类等^[7]。青风藤具有通络、止痛和祛风湿等作用, 常用于风湿痹痛、关节肿胀等, 其主要含有生物碱类、甾醇类和脂类等成分^[8]。现代药理学研究证实, 青风藤中的生物碱具有抗炎、镇痛、免疫调节和免疫抑制等作用, 是祛风止痛的主要成分^[8]。鸡血藤是活血、补血、通络的传统中药, 有促进造血、抗炎和抗氧化等多种药理活性, 其主要含有黄酮类、萜类、甾醇类、木脂素类及蒽醌类等化学成分^[9]。鹿衔草有祛风湿、强筋骨和止血等功效, 其主要成分包括酚苷类、黄酮类、醌类和三萜类等^[10]。石楠藤有祛风通经和强腰止痛的作用, 其主要含有木脂素、新木脂素类、酰胺生物碱类和甾醇类等成分^[11]。威灵仙有祛风湿和通经络功效, 其主要成分为皂苷类、黄酮类、木脂素类、三萜类和生物碱类等^[12]。千年健有祛风湿、舒筋活络、止痛、消肿等功效, 其水提物和醇提物都具有良好的镇痛、抗炎、消肿等药理作用^[13]。由于七味通痹口服液所含成分相对复杂, 目前尚未有系统、深入的药效物

质基础和作用机制研究。本研究采用网络药理学方法, 研究阐释七味通痹口服液治疗 RA 的功效成分和可能的分子作用机制, 旨在为后续的实验研究和临床应用提供一定的研究支撑^[14]。

1 方法

1.1 七味通痹口服液成分收集

从中医药网络药理学智能信息平台 (Traditional Chinese Medicine Network Pharmacology Intelligent Information Platform, TCMN, www.tcmn.cn, 软著登字第 0646447 号) 检索七味通痹口服液 7 味药材含有的化学成分, 得到 366 个小分子化合物和相应 UNPD 编号, 导入 Open Babel 加氢后, 选用 MMFF94 力场进行构象优化, 优化时能量阈值设定为 1×10^{-3} J/mol^[15]。

1.2 分子对接

本研究采用分子对接方法计算七味通痹口服液成分与靶蛋白相互作用。在 Drugbank (<https://www.drugbank.ca/>)、Therapeutic Target Database (<http://db.idrblab.net/ttd/>) 和 OMIM (<https://omim.org/>) 数据库中, 以 “rheumatoid arthritis” 为关键词进行检索, 获取 RA 相关靶点基因, 进一步通过 PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) 数据库的文本挖掘确证筛选出与 RA 密切相关的作用靶点^[16]。根据化合物的 UNPD 编号和筛选到的靶点蛋白, 从 TCMN 数据库中获得分子-靶点蛋白的分子对接结果。TCMN 数据库中的分子对接结果在 DOVIS 2.0 平台上 AutoDock^[17] (4.0 version, <http://autodock.scripps.edu>) 内核完成, 具体对接参数设置如下: 以靶点蛋白中原配体分子的坐标为盒子的中心, 盒子大小为 $4 \text{ nm} \times 4 \text{ nm} \times 4 \text{ nm}$, 格点间隔为 0.0375 nm , 采用拉马克遗传算法采集分子构象, 初始种群为 150, 平移步长为 0.20 nm , 旋转步长为 50° , 突变率为 0.02, 交叉率为 0.80, 局部搜索频率为 0.06, 其余均为默认设置^[18]。

1.3 药材-化合物-靶点-通路网络构建与特征分析

本研究以蛋白复合物中原配体的分子对接打分为阈值, 打分高值于该阈值的化合物即认为具有

活性^[19]。从分子对接结果中选取对接打分值大于 6 的分子-靶点蛋白数据^[14]，同时将靶点投射到 KEGG 数据库，获取靶点-通路数据。将药材、化合物、靶点和通路导入 Cytoscape 3.7.0 软件中，构建药材-化合物-靶点-通路网络 (herb-compound-target-pathway network, HCTPN)，并利用 Analyze network 插件对网络进行分析，进而识别出七味通痹口服液中主要功效成分群、靶点和通路，进一步解析七味通痹口服液治疗 RA 的分子作用机制^[14]。

1.4 体外抗炎活性评价

巨噬细胞及其表达和分泌产物在类风湿关节炎致病机制中具有关键性作用^[20]。为此，选择经典的脂多糖 (LPS) 诱导巨噬细胞炎症模型评价七味通痹口服液中有效成分对前列腺素 E2 (PGE2)、白细胞介素-6 (IL-6) 和一氧化氮 (NO) 等炎症介质释放的影响。分别调整 RAW264.7 细胞 (中国中医科学院提供) 密度至 1×10^5 个/mL (PGE2、IL-6) 及 2×10^6 个/mL (NO)，接种于 24 孔细胞培养板中，每孔 400 μ L，置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h。实验设对照组、模型组、实验组，每组 3 个复孔，24 h 后弃去上清，实验组加入 495 μ L 无血清的含药培养基，对照组和模型组加入含 0.1% 的 DMSO 的无血清培养基，预处理 1 h，加入 LPS (终质量浓度为 1 μ g/mL) 刺激 18 h 后，收集细胞上清，按 ELISA 试剂盒说明书 (PGE2 检测试剂盒购自

Enzo Life Sciences 公司，IL-6 测试试剂盒购自 Invitrogen 公司，NO 检测试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司) 检测细胞因子，并计算抑制率。

抑制率 = (模型组平均含量 - 样品组平均含量) / (模型组平均含量 - 对照组平均含量)

2 结果

2.1 分子对接结果分析

从 TCMN 数据库中获取 660 组对接打分较高 (score ≥ 6) 的分子-靶点蛋白数据，其中包含 107 个分子及 116 个靶点蛋白，平均 1 个分子靶向 6.17 个靶点蛋白，1 个蛋白与 5.69 个分子发生作用，显示了七味通痹口服液多成分、多靶点相互作用的特点。

2.2 药材-化合物-靶点-通路网络分析

将 116 个靶点投射到 KEGG 数据库获取靶点对应的 237 条生物通路信息。利用 Cytoscape 软件构建药材-化合物-靶点-通路网络 (HCTPN)，结果见图 1。从图中可以看出七味通痹口服液治疗 RA 主要是通过多种有效成分与多种疾病相关的靶点综合影响而相互作用产生的。网络分析 (network analysis) 作为网络药理学中常用方法已被广泛用于医药研发的多个领域，其中网络度 (degree) 和介数 (betweenness) 常用于刻画网络节点重要程度^[14]。HCTPN 中药材、化合物、靶点和通路网络分析的部分重要节点的网络特征值见表 1~3。

从 HCTPN 网络特征分析来看，药材中青风藤、

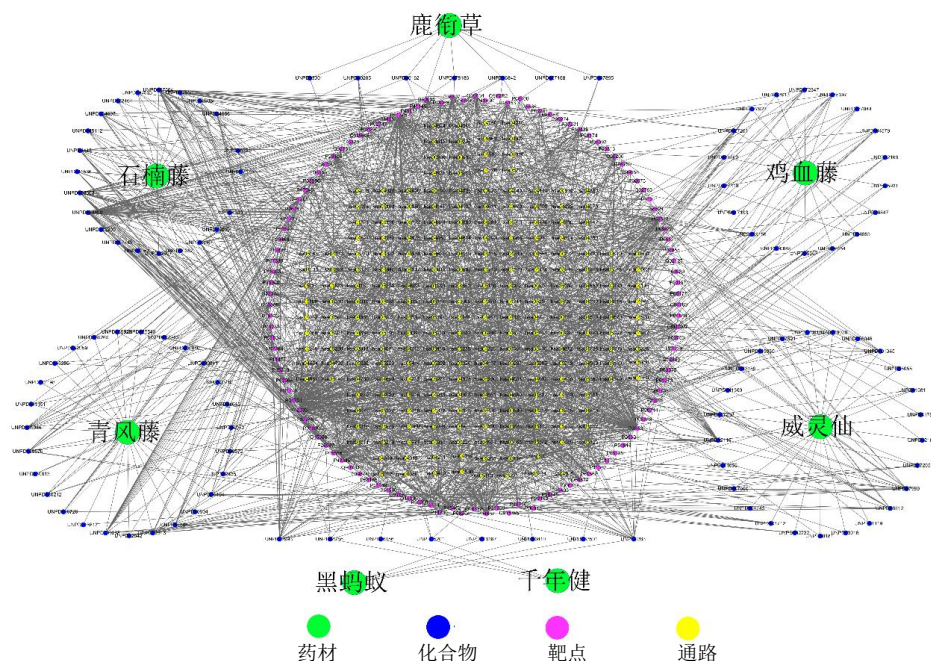


图 1 药材-化合物-靶点-通路网络 (HCTPN)

Fig. 1 Herb-compound-target-pathway network (HCTPN)

表 1 HCTPN 中部分化合物网络特征

Table 1 Network features of compounds in HCTPN

UNPD_ID	介数	网络度	化合物名称	来源
UNPD129690	0.136 3	57	serrulatin A	石楠藤
UNPD197564	0.045 3	36	3 β -hydroxy-12-keto-9(11)-ursen-28,13 β -olide	石楠藤
UNPD138503	0.051 7	34	serrulatin C	石楠藤
UNPD12116	0.029 1	25	齐墩果酸 (oleanic acid)	威灵仙
UNPD42993	0.016 2	23	β -谷甾醇 (β -sitosterol)	鹿衔草
UNPD76367	0.020 1	21	熊果酸 (ursolic acid)	石楠藤
UNPD2383	0.021 3	20	穿贝海绵甾醇 (clionasterol)	蚂蚁
UNPD109268	0.014 4	18	7',8'-dihydro-1,1'-disinomenine	青风藤
UNPD67989	0.016 7	18	prosapogenin CP0	威灵仙
UNPD1448	0.010 4	17	科罗索酸 (corosolic acid)	石楠藤
UNPD143189	0.005 9	16	葳岩仙皂苷 A (leontoside A)	威灵仙
UNPD27558	0.005 3	14	serrulatin B	石楠藤
UNPD154697	0.016 4	13	刺梨苷 F1 (kaji-ichigoside F1)	石楠藤
UNPD68512	0.008 3	13	clemaphenol A	威灵仙
UNPD72313	0.010 5	13	noroliveroline	青风藤
UNPD139576	0.006 6	11	白兰花碱 (michelalbine)	青风藤
UNPD34556	0.002 4	11	山楂酸 (maslinic acid)	石楠藤
UNPD115156	0.004 1	10	甘草素 (liquiritigenin)	鸡血藤
UNPD127261	0.003 2	10	漆黄素 (butin)	鸡血藤
UNPD139946	0.006 6	10	双青藤碱 (disinomenin)	青风藤
UNPD54404	0.006 8	10	(1R,9R,10S)-3-hydroxy-4,12-dimethoxy-17-methyl-17-azatetracyclo [7.5.3.01,10.02,7] heptadeca-2 (7),3,5,11-tetraen-13-one	青风藤
UNPD57884	0.004 1	10	四氢表小檗碱 (tetrahydroepiberberine)	青风藤
UNPD175397	0.005 4	9	aloeemodin-11-mono- α -L-rhamnosid	鸡血藤
UNPD191345	0.002 3	9	常春藤皂苷元 (hederagenin)	威灵仙
UNPD93697	0.001 7	9	serrulatin E	石楠藤

表 2 HCTPN 中部分靶点网络特征

Table 2 Network features of targets in HCTPN

Uniprot_ID	介数	网络度	基因	Uniprot_ID	介数	网络度	基因
P28482	0.113 6	109	ERK2	O43318	0.013 4	29	TAK1
P31751	0.095 0	98	AKT2	O60603	0.014 6	29	TLR2
P42336	0.072 2	94	PIK3CA	P08254	0.028 2	29	MMP3
P01375	0.089 8	72	TNF- α	Q00534	0.012 9	29	CDK6
P42345	0.045 2	55	MTOR	P19438	0.007 7	28	TNFR1
P00533	0.033 0	51	EGFR	P15153	0.007 3	27	RAC2
P04637	0.034 7	51	TP53	P05556	0.022 7	26	ITGB1
P14780	0.038 1	36	MMP9	P36897	0.011 6	26	TGFBR1
Q9UQM7	0.037 4	34	CaMKII	P03956	0.028 7	24	MMP1
O00206	0.018 0	32	TLR4	P29474	0.014 0	24	eNOS
P52564	0.014 2	31	MKK6	P35228	0.018 0	24	iNOS
P45452	0.027 0	30	MMP13				

表 3 HCTPN 中部分通路网络特征

Table 3 Network features of pathways in HCTPN

KEGG_ID	介数	度	通路
hsa01100	0.048 9	28	metabolic pathways
hsa04151	0.008 6	19	PI3K-Akt signaling pathway
hsa04010	0.004 8	16	MAPK signaling pathway
hsa04066	0.005 7	13	HIF-1 signaling pathway
hsa04380	0.003 3	12	osteoclast differentiation
hsa04064	0.002 7	11	NF-kappa B signaling pathway
hsa04210	0.005 2	11	apoptosis
hsa04218	0.003 1	11	cellular senescence
hsa04668	0.005 2	11	TNF signaling pathway

威灵仙、石楠藤和鸡血藤具有较高的网络度，分别为 27、25、24、18，表明这 4 味药材在治疗疾病的过程中发挥了重要作用。从化合物网络特征来看，在 107 个活性化合物中，节点网络度大于 9 的有 25 个化合物（表 1），提示这些化合物可能是治疗 RA 的主要活性成分。从靶点网络特征来看，在 116 个潜在靶点中，节点网络度大于 24 的有 23 个靶蛋白（表 2），提示这些靶蛋白在七味通痹口服液治疗 RA 的调控网络中起着重要的作用。生物通路通过其构成的不同靶蛋白间的相互作用来执行特定的生物学功能，是理解疾病临床表现的生理学基础。从通路网络特征来看，在 237 条通路中，节点网络度大于 11 的有 26 条，其中 PI3K-Akt signaling pathway、MAPK signaling pathway 和 HIF-1 signaling pathway 等 9 条生物通路（表 3）与类风湿性关节炎关节炎密切相关。

2.3 体外抗炎活性结果

从节点网络度大于 9 的 25 个化合物中随机选取 3 个化合物齐墩果酸、熊果酸和常春藤皂苷元进行体外活性测试。通过网络分析发现这 3 个化合物作

用于 mTOR、TLR4、eNOS、MKK6、TAK1、TGFB1、TLR2 和 TNF- α 等 11 个靶点，见图 2。这些靶点参与 RA 的抗炎镇痛和免疫调节等。利用 WebGestalt (<http://www.webgestalt.org>) 对 11 个靶点进行通路和生物过程进行富集，并用 AP (affinity propagation) 聚类算法降低冗余度，结果见图 3。信号通路的富集结果显示靶点主要集中在与炎症相关的 Toll-like receptor signaling pathway 和 PI3K-Akt signaling pathway，生物过程富集结果显示这些靶点参与了 NO 代谢和 NIK/NF- κ B 信号调控。为此，经典的 LPS 诱导巨噬细胞炎症模型可以进一步验证网络预测结果的准确度，结果见表 4。体外抗炎活性结果显示齐墩果酸、熊果酸和常春藤皂苷元对炎症介质释放均有不同程度的抑制。

3 讨论

类风湿性关节炎是一种慢性、进行性、侵袭性的自身免疫疾病，以关节滑膜炎和关节外病变为主

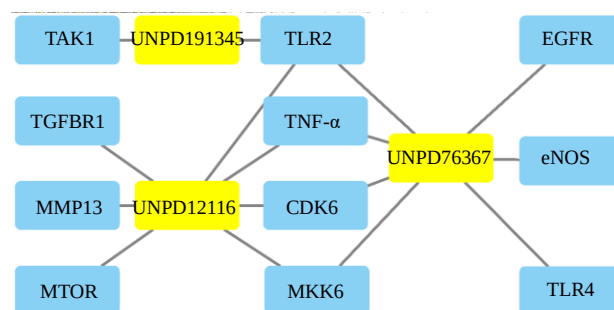


图 2 齐墩果酸 (UNPD12116)、熊果酸 (UNPD76367) 和常春藤皂苷元 (UNPD191345) 与靶点的作用关系

Fig. 2 Interaction between oleanic acid (UNPD12116), ursolic acid (UNPD76367) and hederagenin (UNPD191345) and targets

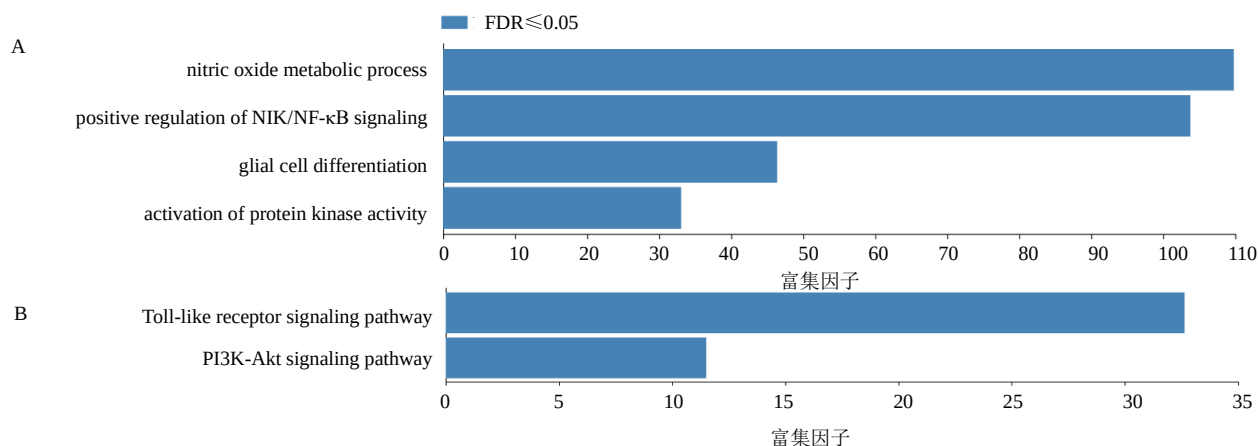


图 3 生物过程 (A) 和 KEGG 通路 (B) 富集结果

Fig. 3 Biological process (A) and KEGG pathway (B) enrichment analysis of targets

表 4 齐墩果酸、熊果酸和常春藤皂苷元的体外抗炎活性

Table 4 Anti-inflammatory activity of oleanic acid, ursolic acid and hederagenin *in vitro*

UNPD_ID	化合物	介数	度	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	抑制率/%		
					IL-6	NO	PGE2
UNPD12116	齐墩果酸	0.029 1	25	100	55.62	2.68	65.37
UNPD76367	熊果酸	0.020 1	21	100	101.16	65.36	56.01
UNPD191345	常春藤皂苷元	0.002 3	9	100	100.20	48.58	42.26

要临床表现^[21]。目前治疗上主要是以减轻关节肿痛,控制关节炎发展,防止和减少关节破坏,促进已破坏关节和骨的修复为主^[22]。中药以其多成分、多靶点的作用特点使其在治疗类风湿性关节炎过程中具有多种功效,这同时也给药物活性成分的鉴定和作用机制的阐明增加了困难。

本研究采用网络药理学方法,系统分析了七味通痹口服液对 RA 的潜在治疗机制。通过分析化合物网络度发现,网络度较高的三萜类化合物齐墩果酸、熊果酸、科罗索酸、常春藤皂苷元和山楂酸主要存在于石楠藤和威灵仙中,具有消炎^[23-26]、抗氧化^[24-25]、增强免疫^[25]、促进滑膜成纤维细胞的凋亡^[27]和促进成骨细胞分化^[24]等药理作用。鸡血藤中的黄酮类化合物甘草素和漆黄素,分别具有缓解大鼠足跖肿胀^[28]、减少氧化应激诱导的细胞死亡^[29-30]等药理活性。来源于青风藤的生物碱类化合物四氢表小檗碱、noroliveroline、白兰花碱和 7',8'-dihydro-1,1'-disinomenine 有镇痛抗炎、免疫调节和免疫抑制等多方面的药理活性^[31-32]。甾醇类化合物穿贝海绵甾醇和 β -谷甾醇分别来源于蚂蚁和鹿衔草,是有效的补体系统经典激活途径抑制剂,在免疫调节及介导免疫病理的损伤性反应起到重要作用^[33]。由此,推测这些化合物是七味通痹口服液治疗类风湿性关节炎的关键活性成分群。

高网络度值的 23 个靶蛋白中 ERK2^[34]、MKK6^[35]、TAK1^[36]、TNFR1^[37]、iNOS^[38]、eNOS^[39]、Rac2^[38]、mTOR^[40]、TNF- α ^[41]、EGFR^[42]、TP53^[43]、CaMKII^[44]、TLR2^[45]、TLR4^[45]和 TGFBR1^[46-47]等靶点参与 RA 的抗炎镇痛和免疫调节,而 ERK2^[34]、Akt2^[48-49]、PI3K^[49]、mTOR^[49]、EGFR^[42]、MMP9^[50]、CDK6^[51]、TGFBR1^[46-47]等靶点与滑膜成纤维细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭相关。滑膜成纤维细胞的异常会导致滑膜炎持续存在,最终导致血管翳形成,侵蚀破坏关节软骨和骨质,因而调控这些靶点可以减轻关节肿痛,控制关节炎的发展,同时防止

和减少关节的破坏。另一方面 ERK2^[34]、TNF- α ^[41]、MMP9^[52]、MMP1^[52]、MMP3^[52]、MMP13^[52]、Rac2^[38]、TGFBR1^[46-47]等靶点调控破骨细胞分化、迁移、骨吸收等,在维护骨、软骨组织的完整性及促进损伤后修复方面发挥着重要作用。进一步的通路网络分析显示,与 RA 密切相关的 9 条生物通路中,metabolic pathways、HIF-1 signaling pathway、cellular senescence、NF-kappa B signaling pathway、TNF signaling pathway 和 MAPK signaling pathway 等通路主要与炎症和免疫调节相关^[53-58],PI3K-Akt signaling pathway、MAPK signaling pathway 和 apoptosis 等通路与滑膜细胞的增殖和凋亡等相关^[58-60],而 osteoclast differentiation 则涉及到诱导骨吸收和促进破骨细胞生成^[61]。这 9 条生物通路包含了 116 个潜在蛋白中的 66 个,大约占 57%。因此,推测七味通痹口服液可能是通过与 RA 相关生物通路中的靶蛋白相作用来维持滑膜内环境稳态,降低炎症反应、防止和减少关节的破坏,从而改善患者生活质量。

为验证网络预测的准确性,随机选取了齐墩果酸、熊果酸和常春藤皂苷元进行体外抗炎活性验证。结果表明 3 个化合物对炎症因子 IL-6、NO、PGE2 的释放均有不同程度的抑制。既往研究表明,齐墩果酸、熊果酸和常春藤皂苷元可以阻断 NF- κ B 信号通路,减少 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 、NO 和 PGE2 等炎症因子的释放^[62-64],这与网络药理学预测结果和体外抗炎活性结果基本一致,表明网络药理学预测结果具有较高的准确度。

综上所述,与目前临床上使用的非甾体类抗炎药、糖皮质激素和生物制剂等相比,七味通痹口服液不仅能减轻关节炎症反应,抑制病变发展及不可逆骨质破坏,同时还可以调节免疫,从而起到标本兼治的目的,这可能是七味通痹口服液治疗 RA 的独特优势。

参考文献

[1] 中华医学会风湿病学分会. 类风湿关节炎诊治指南

- [J]. 现代实用医学, 2004, 16(3): 184-188.
- [2] Ain Q, Zeeshan M, Khan S, *et al.* Biomimetic hydroxyapatite as potential polymeric nanocarrier for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2019, 107(12): 2595-2600.
- [3] Abbasi M, Mousavi M J, Jamalzehi S, *et al.* Strategies toward rheumatoid arthritis therapy; the old and the new [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 10018-10031.
- [4] 赵玲, 胡耀华, 柳润辉, 等. 中药治疗类风湿性关节炎及临床应用的研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2011, 29(6): 416-420.
- [5] 徐蕾, 陈月月, 徐长松, 等. 七味通痹口服液治疗类风湿性关节炎 30 例 [J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(6): 586-588.
- [6] 陈红燕, 陈志军, 肖正运. 七味玄驹通痹口服液治疗类风湿性关节炎临床研究 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2004, 12(6): 30-33.
- [7] 杨志欣, 刘慧, 许贵军, 等. 黑蚂蚁的化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中国药房, 2020, 31(9): 1148-1152.
- [8] 曾茜垚, 杨华. 青风藤药用成分、药理作用及栽培繁育研究进展 [J]. 湖南生态科学学报, 2018, 5(1): 46-51.
- [9] 余弯弯, 双鹏程, 张凌. 鸡血藤化学成分及药理作用研究概况 [J]. 江西中医药大学学报, 2014, 26(4): 89-92.
- [10] 盛华刚. 鹿衔草的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2012, 27(4): 383-385.
- [11] 冀治鑫, 赵兵, 李文婧, 等. 石楠藤的化学成分、药理及临床应用研究 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(18): 9663-9665.
- [12] 谭珍媛, 朱秋莲, 邱莉, 等. 威灵仙化学成分、药理作用及机制研究进展 [J]. 海峡药学, 2018, 30(6): 1-10.
- [13] 赵鹏, 叶静. 千年健药理活性研究进展 [J]. 海峡药学, 2016, 28(4): 107-109.
- [14] 柯志鹏, 张新庄, 丁玥, 等. 桂枝茯苓方治疗痛经、盆腔炎以及子宫肌瘤的活性成分和分子作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(6): 999-1004.
- [15] 陶晓倩, 柯志鹏, 张新庄, 等. 基于网络药理学和分子对接技术的金振口服液干预新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的作用机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2326-2333.
- [16] Ke Z P, Zhang X Z, Cao Z Y, *et al.* Drug discovery of neurodegenerative disease through network pharmacology approach in herbs [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 78(2016): 272-279.
- [17] Jiang X, Kumar K, Hu X, *et al.* DOVIS 2.0: An efficient and easy to use parallel virtual screening tool based on AutoDock 4.0 [J]. *Chem Cent J*, 2008, 2: 18.
- [18] 张新庄, 萧伟, 徐筱杰, 等. 利用网络药理学方法研究热毒宁注射液抗流感病毒的分子作用机制 [J]. 物理化学学报, 2013, 29(7): 1415-1420.
- [19] 柯志鹏, 张新庄, 曹泽戡, 等. 基于网络药理学研究淫羊藿治疗骨质疏松症的分子作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(18): 4048-4052.
- [20] 奚正德, 葛海良. 巨噬细胞及其表达和分泌产物在类风湿性关节炎发病中的作用 [J]. 自然杂志, 2009, 31(5): 262-267.
- [21] 张靖, 周彬, 王彦丽, 等. 抗类风湿性关节炎中药的研究进展 [J]. 中草药, 2013, 44(15): 2189-2194.
- [22] 白英汤联合西药治疗类风湿性关节炎的临床研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
- [23] Yap W H, Lim Y M. Mechanistic perspectives of maslinic acid in targeting inflammation [J]. *Biochem Res Int*, 2015, 2015(10): 1-9.
- [24] Stohs S J, Miller H, Kaats G R. A review of the efficacy and safety of banaba (*Lagerstroemia speciosa* L.) and corosolic acid [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(3): 317-324.
- [25] 周志勇, 袁丁. 齐墩果酸药理作用研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(23): 2031-2033.
- [26] 邢颖, 南敏伦, 王雪, 等. 常春藤皂苷元的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22): 226-234.
- [27] Kim E Y, Sudini K, Singh A K, *et al.* Ursolic acid facilitates apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by inducing SP1-mediated Noxa expression and proteasomal degradation of Mcl-1 [J]. *FASEB J*, 2018, 32(11): 6174-6185.
- [28] Kim Y W, Zhao R J, Park S J, *et al.* Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF-kappaB-dependent iNOS and proinflammatory cytokines production [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 154(1): 165-173.
- [29] Zhang R, Lee I K, Piao M J, *et al.* Butin (7,3',4'-trihydroxydihydroflavone) reduces oxidative stress-induced cell death via inhibition of the mitochondria-dependent apoptotic pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(6): 3871-3887.
- [30] Zhang R, Chae S, Lee J H, *et al.* The cytoprotective effect of butin against oxidative stress is mediated by the up-regulation of manganese superoxide dismutase expression through a PI3K/Akt/Nrf2-dependent pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(6): 1987-1997.
- [31] 蒙其森, 梁洁, 吴桂凡, 等. 生物碱类化合物药理作用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2003, 14(11): 700-702.
- [32] 刘微微, 朱尧, 汪悦. 青风藤生物碱的活性成分及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(8): 1765-1769.

- [33] Cerqueira F, Watanadilok R, Sonchaeng P, *et al.* Clonasterol: A potent inhibitor of complement component C1 [J]. *Planta Med*, 2003, 69(2): 174-176.
- [34] 张彦景, 张建新. MAPK 信号转导通路与类风湿关节炎的研究进展 [J]. *河北医药*, 2016, 38(17): 2677-2681.
- [35] Hammaker D, Boyle D L, Topolewski K, *et al.* Differential regulation of anti-inflammatory genes by p38 MAP kinase and MAP kinase kinase 6 [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2014, 11: 14.
- [36] Luo X, Chen Y, Lv G, *et al.* Adenovirus-mediated small interfering RNA targeting TAK1 ameliorates joint inflammation with collagen-induced arthritis in mice [J]. *Inflammation*, 2017, 40(3): 894-903.
- [37] Arntz O J, Geurts J, Veenbergen S, *et al.* A crucial role for tumor necrosis factor receptor 1 in synovial lining cells and the reticuloendothelial system in mediating experimental arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(2): R61.
- [38] Dey P, Panga V, Raghunathan S. A cytokine signalling network for the regulation of inducible nitric oxide synthase expression in rheumatoid arthritis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161306.
- [39] Bunjevacki V, Maksimovic N, Jekic B, *et al.* Polymorphisms of the eNOS gene are associated with disease activity in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatol Int*, 2016, 36(4): 597-602.
- [40] Soltani A, Bahreyni A, Boroumand N, *et al.* Therapeutic potency of mTOR signaling pharmacological inhibitors in the treatment of proinflammatory diseases, current status, and perspectives [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(6): 4783-4790.
- [41] 石慧, 王丹彤, 乌日嘎. TNF- α 介导的 NF- κ B 信号通路在类风湿性关节炎血管形成中的作用 [J]. *医学综述*, 2012, 18(15): 2397-2400.
- [42] Yuan F L, Li X, Lu W G, *et al.* Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a therapeutic target in rheumatoid arthritis [J]. *Clin Rheumatol*, 2013, 32(3): 289-292.
- [43] Maas K, Westfall M, Pietenpol J, *et al.* Reduced p53 in peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis is associated with loss of radiation-induced apoptosis [J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(4): 1047-1057.
- [44] Lacey D C, Tagashira S, Blades M, *et al.* Expression and function of CA(2+)/calmodulin dependent protein kinase II (CaMKII) in human rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2006, 45: I28-I29.
- [45] Abdollahi-Roodsaz S, Joosten L A, Koenders M I, *et al.* Stimulation of TLR2 and TLR4 differentially skews the balance of T cells in a mouse model of arthritis [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(1): 205-216.
- [46] 王从妙. 转移生长因子 β_1 (TGF β_1) 治疗类风湿关节炎的展望 [J]. *医学综述*, 1996, 2(2): 56-58.
- [47] 王晔. miR-124a 靶向 TGFBR1 基因对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响 [J]. *解剖科学进展*, 2016, 22(5): 516-519.
- [48] Xu X, Chen H, Zhang Q, *et al.* MiR-650 inhibits proliferation, migration and invasion of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by targeting AKT2 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 535-541.
- [49] 孟明. PI3K/Akt/mTOR 通路与自噬在类风湿关节炎滑膜细胞增生中的意义 [J]. *医学研究与教育*, 2013, 30(5): 69-74.
- [50] Li G, Zhang Y, Qian Y, *et al.* Interleukin-17A promotes rheumatoid arthritis synoviocytes migration and invasion under hypoxia by increasing MMP2 and MMP9 expression through NF-kappaB/HIF-1alpha pathway [J]. *Mol Immunol*, 2013, 53(3): 227-236.
- [51] Fujii R, Komatsu R, Sato T, *et al.* SPACIA1/SAAL1 deletion results in a moderate delay in collagen-induced arthritis activity, along with mRNA decay of cyclin-dependent kinase 6 gene [J]. *Inter J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3828.
- [52] Stojanovic S, Bojana S, Stoimenov T J, *et al.* Association of tumor necrosis factor-alpha (G-308A) genetic variant with matrix metalloproteinase-9 activity and joint destruction in early rheumatoid arthritis [J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(7): 1479-1485.
- [53] Van Hauwermeiren F, Vandenbroucke R E, Libert C. Treatment of TNF mediated diseases by selective inhibition of soluble TNF or TNFR1 [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2011, 22(5/6): 311-319.
- [54] Fearon U, Hanlon M M, Wade S M, *et al.* Altered metabolic pathways regulate synovial inflammation in rheumatoid arthritis [J]. *Clin Exp Immunol*, 2019, 197(2): 170-180.
- [55] Hirota S A, Beck P L, MacDonald J A. Targeting hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) signaling in therapeutics: Implications for the treatment of inflammatory bowel disease [J]. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 2009, 3(1): 1-16.
- [56] Weyand C M, Fulbright J W, Goronzy J J. Immunosenescence, autoimmunity, and rheumatoid arthritis [J]. *Exp Gerontol*, 2003, 38(8): 833-841.
- [57] 郭江燕, 高梓珊, 姜姝姝, 等. IL-17 和 NF- κ B 通路和类风湿性关节炎的相关性研究 [J]. *长春中医药大学学报*, 2015, 31(1): 192-194.
- [58] Lan Y Y, Wang Y Q, Liu Y. CCR5 silencing reduces

- inflammatory response, inhibits viability, and promotes apoptosis of synovial cells in rat models of rheumatoid arthritis through the MAPK signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 18748-18762.
- [59] 于静雅, 陈 勇. PI3K-AKT 信号通路及其在类风湿性关节炎滑膜细胞增殖和凋亡中的作用 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(12): 1326-1329.
- [60] 曹永贺, 刘 健. 中医药调控类风湿关节炎细胞凋亡的研究 [J]. 风湿病与关节炎, 2014, 3(8): 49-52.
- [61] Kudo O, Fujikawa Y, Hirayama T, *et al.* Osteoclast differentiation factor induces synovial macrophage-osteoclast differentiation in rheumatoid arthritis [J]. *Mod Rheumatol*, 2001, 11(4): 314-320.
- [62] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗炎及其抗变态反应 [J]. 抗感染药学, 2011, 8(4): 235-240.
- [63] Lee C W, Park S M, Zhao R, *et al.* Hederagenin, a major component of *Clematis mandshurica* Ruprecht root, attenuates inflammatory responses in RAW 264.7 cells and in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29(2): 528-537.
- [64] Lu S H, Guan J H, Huang Y L, *et al.* Experimental study of antiatherosclerosis effects with hederagenin in rats [J]. *Evid Based Compl Alter Med*, 2015, 2015: 456354.