

## 基于网络药理学的痹祺胶囊治疗类风湿性关节炎的配伍规律研究

李 新<sup>1,2,3</sup>, 韩彦琪<sup>1,2,3</sup>, 张祥麒<sup>4</sup>, 许 浚<sup>1,2,3</sup>, 王春芳<sup>1,2,3,5</sup>, 王 磊<sup>6</sup>, 张铁军<sup>1,2,3\*</sup>, 刘昌孝<sup>1,2,3\*</sup>

1. 天津药物研究院 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300462
2. 天津药物研究院 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300462
3. 天津药物研究院 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津 300462
4. 天津达仁堂京万红药业有限公司, 天津 300112
5. 天津中医药大学, 天津 301617
6. 津药达仁堂集团股份有限公司, 天津 300193

**摘要:** **目的** 基于网络药理学方法探讨痹祺胶囊的配伍规律, 阐释其治疗类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的机制内涵。 **方法** 按照痹祺胶囊及其单味药材的功效将其分为益气养血组、活血通络组、抗炎镇痛组, 并分别选取药材中的特征成分, 依据反向药效团匹配方法和 TCMS、Uniprot 等数据库预测化合物作用靶点, 与通过 OMIM、DisGeNet、GeneCards 等数据库收集 RA 相关靶点相互交互, 将交互靶点借助 Omicsbean、STRING 等数据库平台对获得靶点进行基因本体功能和京都基因与基因组百科全书通路富集分析, 利用 Cytoscape 软件构建“药材-化合物-靶点-通路-功效”网络。 **结果** 通过网络药理学预测, 得到益气养血组 11 个成分的 67 个潜在靶点, 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析发现白蛋白、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、造血前腺素合成酶 D、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、雄激素受体、 $\beta_2$  肾上腺素能受体等可能为关键核心靶点, 主要通过神经营养信号通路、造血细胞谱系、破骨细胞分化、MAPK 信号通路等 40 条相关通路, 通过调控骨髓造血微环境、骨形成与代谢平衡、免疫调节等生物过程发挥益气养血作用; 得到活血通络组 20 个成分的 117 个潜在靶点, 进一步 PPI 网络分析发现蛋白激酶 B1 (protein kinase B1, AKT1)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53)、纤连蛋白、信号转导子和转录激活子 3、C-C 基序趋化因子 (C-C motif chemokine 2, CCL2)、表皮生长因子受体、细胞间黏附分子 1、IL17A 等可能为核心靶点, 并通过血小板激活、VEGF 信号通路、IL-17 信号通路等 77 条相关通路调控凝血和纤溶系统、血管增生、抗炎镇痛等生物过程发挥活血通络、止痛的作用; 得到抗炎镇痛组 8 个成分的 180 个潜在靶点, 进一步 PPI 网络分析发现 TNF、AKT1、IL-6、TP53、IL1B、VEGFA、前列腺素 G/H 合成酶 2、CCL4、CCL3 等可能为潜在核心靶点, 通过 IL-17 信号通路、T 和 B 细胞受体信号通路、血清素能突触、趋化因子信号通路、核因子- $\kappa$ B 信号通路、花生四烯酸代谢等 77 条通路干预中枢和外周敏化、抗原呈递、免疫细胞激活、炎症反应等生物过程发挥抗炎镇痛的作用。 **结论** 痹祺胶囊中党参、茯苓、白术组成的益气养血组主要在造血系统、免疫系统和骨形成和代谢等方面发挥“固本”的作用, 丹参、三七、川芎、牛膝、地龙组成的活血通络组主要在血液系统、炎症反应等方面发挥“活血化瘀”的作用, 马钱子、甘草组成的抗炎镇痛组主要在免疫调控、炎症反应、中枢和外周镇痛等方面发挥“除湿止痛”的作用, 各组之间的靶点和通路互有交叉, 又各有侧重, 充分体现了痹祺胶囊在治疗 RA 中多成分、多靶点、多通路的特点, 为其配伍理论的深入研究奠定了基础。

**关键词:** 痹祺胶囊; 类风湿性关节炎; 配伍规律; 益气养血; 活血通络; 抗炎镇痛

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)23-7607-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.002

## Compatibility rule of Biqi Capsule in treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology

LI Xin<sup>1,2,3</sup>, HAN Yan-qi<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Xiang-qi<sup>4</sup>, XU Jun<sup>1,2,3</sup>, WANG Chun-fang<sup>1,2,3,5</sup>, WANG Lei<sup>6</sup>, ZHANG Tie-jun<sup>1,2,3</sup>, LIU Chang-xiao<sup>1,2,3</sup>

收稿日期: 2023-07-10

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (U21A20406)

作者简介: 李 新, 助理研究员, 研究方向为中药药理研究。E-mail: lix6@tjipr.com

\*通信作者: 张铁军, 研究员。E-mail: zhangtj@tjipr.com

刘昌孝, 中国工程院院士。E-mail: liucx@tjipr.com

1. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China
2. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China
3. National Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China
4. Tianjin Darentang Jingwanhong Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300112, China
5. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China
6. Tianjin Pharmaceutical Da Ren Tang Group Co., Ltd., Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To explore the compatibility regularity of Biqi Capsule (痹祺胶囊) and elucidate the mechanism and connotation of its treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology. **Methods** According to the efficacy of Biqi Capsule and its single medicinal materials, it was divided into supplementing *qi* and nourishing blood group, promoting blood circulation and dredging collaterals group and anti-inflammatory and analgesic group, and the characteristic components in the medicinal materials were selected respectively, and the target of the compound was predicted according to the reverse pharmacophore matching method and databases such as TCMS and Uniprot. With the help of database platforms such as Omicsbean and STRING, the interactive targets were analyzed by gene ontology function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes pathway (KEGG), and “medicinal material-compound-target-pathway-efficacy” network was constructed by Cytoscape software. **Results** Through the prediction of network pharmacology, a total of 67 potential targets of 11 components in supplementing *qi* and nourishing blood group were obtained, protein-protein interaction (PPI) network analysis found that albumin (ALB), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), hematopoietic prostaglandin D synthase (HPGDS), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), androgen receptor (AR), Beta-2 adrenergic receptor (ADRB2), etc. may be the key core targets, mainly played a role in invigorating *qi* and nourishing blood by regulating biological processes such as bone marrow hematopoietic microenvironment, bone formation and metabolic balance, and immune regulation, through 40 related pathways such as neurotrophic signaling pathway, hematopoietic cell lineage, osteoclast differentiation, MAPK signaling pathway, etc. A total of 117 potential targets of 20 components in promoting blood circulation and dredging collaterals group were obtained, and further PPI network analysis showed that protein kinase B1 (AKT1), matrix metalloproteinase 9 (MMP9), tumor protein p53 (TP53), fibronectin (FN1), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), C-C motif chemokine 2 (CCL2), epidermal growth factor receptor (EGFR), intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1), IL17A, etc. may be the core targets, and mainly played a role in promoting blood circulation and dredging collaterals and relieving pain by regulating coagulation and fibrinolysis system, vascular proliferation and anti-inflammatory and analgesic processes through 77 related pathways such as platelet activation, VEGF signaling pathway and IL-17 signaling pathway. A total of 180 potential targets of eight components in anti-inflammatory and analgesic group were obtained, and further PPI network analysis found that TNF, AKT1, IL-6, TP53, IL1B, VEGFA, prostaglandin G/H synthetase 2, CCL4, CCL3, etc. might be potential core targets. Through 77 pathways, such as IL-17 signaling pathway, T and B cell receptor signaling pathway, serotonergic synapse, chemokine signaling pathway, nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway, arachidonic acid metabolism, etc., it plays an anti-inflammatory and analgesic role by interfering with biological processes such as central and peripheral sensitization, antigen presentation, immune cell activation, inflammatory reaction. **Conclusion** The supplementing *qi* and nourishing blood group composed of Dangshen (*Codonopsis Radix*), Fuling (*Poria*) and Baizhu (*Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*) in Biqi Capsule mainly plays the role of “consolidating the foundation” in hematopoietic system, immune system, bone formation and metabolism, while the promoting blood circulation and dredging collaterals group composed of Dangshen (*Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*), Sanqi (*Notoginseng Radix et Rhizoma*), Chuanxiong (*Chuanxiong Rhizoma*), Niuxi (*Achyranthis Bidentatae Radix*) and Dilong (*Pheretima*) mainly plays the role of “promoting blood circulation and removing blood stasis” in blood system and inflammatory reaction. The anti-inflammatory and analgesic group composed of Maqianzi (*Strychni Semen*) and Gancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*) mainly plays the role of “dehumidification and analgesia” in immune regulation, inflammatory reaction, central and peripheral analgesia, etc. The targets and pathways of each group intersect with each other, and each group has its own emphasis, which fully embodies the characteristics of Biqi Capsule in treating RA with multiple components, multiple targets and multiple pathways, and lays a foundation for the in-depth study of its compatibility theory. **Key words:** Biqi Capsule; rheumatoid arthritis; compatibility rule; supplementing *qi* and nourishing blood; promoting blood circulation and dredging collaterals; anti-inflammation and analgesia

中药复方物质组成复杂, 对其药效物质基础及作用机制的阐释带来很大困难, 而网络药理学的兴起为中药复方机制的研究提供了一个全新的角度, 借助网络分析预测中药的作用机制可从新的角度诠释中医理论。网络药理学是基于系统生物学及多向药理学等学科理论, 运用组学、网络可视化等技术揭示药物、基因、疾病、靶点之间复杂的生物网络关系的学科, 可在此基础上预测药物的药理学机制<sup>[1]</sup>。网络药理学从药物、靶点与疾病相互作用的整体性和系统性出发, 通过网络方法分析药物、靶点与疾病的关系, 应用于中医药研究领域, 反映和阐释中药的多成分、多靶点、多途径作用关系<sup>[2]</sup>。网络药理学在中药靶点研究中应用广泛, 且对于阐释中药作用机制具有较大的指导意义<sup>[3]</sup>。

类风湿性关节炎属中医“痹证”, 中医认为痹证的发生, 是因正虚为本, 外邪入侵所致, 痹祺胶囊具有益气养血、祛风除湿、活血止痛的功效, 方中党参、白术、茯苓健脾、益气养血, 丹参、三七、川芎、牛膝、地龙活血化瘀、通络止痛, 马钱子、甘草配伍散结消肿、通络止痛, 10 味药配伍既可补虚固本, 又可活血通络、止痛, 针对痹证对因对症治疗。因此本研究将痹祺胶囊按照功能药味分组, 在前期功能配伍实验的基础上, 从网络药理学角度, 进一步阐释痹祺胶囊配伍合理性, 为进一步作用机制的研究奠定基础。

## 1 材料

ChemBio Office 2014; TCMSP 数据库 (<https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>); CTD 数据库 (<https://ctdbase.org>); PharmMapper 数据库 (<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/>); OMIM 数据库 (<https://omim.org/>); TTD 数据库 (<http://db.idrblab.net/ttd/>); DisGeNet 数据库 (<http://www.disgenet.org/home/>);

GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>); UNIPROT 数据库 (<http://www.uniprot.org/>); KEGG 数据库 (<http://www.genome.jp/kegg/>); STRING 11.5 数据库 (<http://string-db.org/>); Omicsbean 在线分析软件 (<http://www.omicsbean.cn/>); Omicshare Tools 在线制图软件 (<https://www.omicshare.com>); Cytoscape3.6.0 软件。

## 2 方法

### 2.1 目标化合物的选取

在前期对痹祺胶囊化学物质组及血中移行成分研究的基础上, 以 10 味药材的各结构类型代表成分为主, 选择痹祺胶囊中各药材的代表性成分为后续研究的目标化合物, 共选取了 39 个化合物为实验研究对象。

益气养血组包括党参中的 3 个成分(党参炔苷、党参苷 I、党参苷 II); 白术中的 4 个成分(白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、苍术酮); 茯苓中的 4 个成分(土莫酸、茯苓酸、去氢土莫酸、茯苓酸 B), 化合物详细信息见表 1。

活血通络组包括丹参中的 7 个成分(丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub>、丹参新酮); 三七中的 4 个成分(人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、三七皂苷 R<sub>1</sub>、人参皂苷 CK); 川芎中的 4 个成分(阿魏酸、藁本内酯、洋川芎内酯 A、洋川芎内酯 I); 牛膝中的 4 个成分(牛膝皂苷 II、牛膝皂苷 IV、25S-牛膝甾酮、20-羟基蜕皮激素); 地龙中的 1 个成分(次黄嘌呤), 化合物详细信息见表 2。

抗炎镇痛组包括马钱子中的 5 个成分(土的宁、马钱子碱、番木鳖苷酸、咖啡酸、奎宁酸); 甘草中的 3 个成分(甘草苷、异甘草素、甘草次酸), 化合物详细信息见表 3。

表 1 益气养血组化合物信息

Table 1 Compound information of supplementing *qi* and nourishing blood herbs

成分	结构类型	分子式	相对分子质量	来源
党参炔苷	炔类	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> N <sub>8</sub>	396.48	党参
党参苷 I	木质素类	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>18</sub>	678.71	党参
党参苷 II	木质素类	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	372.37	党参
白术内酯 I	内酯类	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	230.30	白术
白术内酯 II	内酯类	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	232.32	白术
白术内酯 III	内酯类	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	248.32	白术
苍术酮	倍半萜类	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O	216.32	白术
土莫酸	三萜类成分	C <sub>31</sub> H <sub>50</sub> O <sub>4</sub>	486.81	茯苓
茯苓酸	三萜类成分	C <sub>33</sub> H <sub>52</sub> O <sub>5</sub>	528.85	茯苓
去氢土莫酸	三萜类成分	C <sub>31</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	484.71	茯苓
茯苓酸 B	三萜类成分	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	484.74	茯苓

表 2 活血通络组化合物信息

Table 2 Compound information of promoting blood circulation and dredging collaterals herbs

成分	结构类型	分子式	相对分子质量	来源
丹酚酸 B	酚酸类	C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	718.66	丹参
迷迭香酸	酚酸类	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	360.34	丹参
丹参素	酚酸类	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	198.17	丹参
丹参酮 I	丹参酮类	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	276.30	丹参
隐丹参酮	丹参酮类	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	296.39	丹参
丹参酮 II <sub>A</sub>	丹参酮类	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	294.37	丹参
丹参新酮	丹参酮类	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	282.41	丹参
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	皂苷类	C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	801.02	三七
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	皂苷类	C <sub>54</sub> H <sub>92</sub> O <sub>23</sub>	1 109.31	三七
三七皂苷 R <sub>1</sub>	皂苷类	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>18</sub>	933.27	三七
人参皂苷 CK	皂苷类	C <sub>36</sub> H <sub>62</sub> O <sub>8</sub>	622.87	三七
阿魏酸	内酯类	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	194.06	川芎
藁本内酯	内酯类	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	190.24	川芎
洋川芎内酯 A	内酯类	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	192.25	川芎
洋川芎内酯 I	内酯类	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	224.25	川芎
牛膝皂苷 II	皂苷类	C <sub>41</sub> H <sub>62</sub> O <sub>15</sub>	957.24	牛膝
牛膝皂苷 IV	皂苷类	C <sub>41</sub> H <sub>60</sub> O <sub>15</sub>	793.01	牛膝
25S-牛膝甾酮	甾酮类	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	480.30	牛膝
20-羟基蜕皮激素	甾酮类	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	480.60	牛膝
次黄嘌呤	核苷类	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O	136.11	地龙

表 3 抗炎镇痛组化合物信息

Table 3 Compound information of anti-inflammatory and analgesic herbs

成分	结构类型	分子式	相对分子质量	来源
士的宁	生物碱类	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	334.42	马钱子
马钱子碱	生物碱类	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	228.24	马钱子
番木鳖苷酸	环烯醚萜类	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	376.40	马钱子
咖啡酸	有机酸类	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	180.16	马钱子
奎宁酸	有机酸类	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	192.17	马钱子
甘草苷	黄酮类	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	418.40	甘草
异甘草素	黄酮类	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	256.25	甘草
甘草次酸	三萜类	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	470.68	甘草

## 2.2 类风湿性关节炎疾病靶点选取

以“类风湿性关节炎”为关键词，从 OMIM 数据库、TTD 数据库、DisGeNet 数据库和 GeneCards 数据库中检索类风湿性关节炎相关靶点，并借助 Uniprot 数据库校正其靶标蛋白为官方名。

## 2.3 各拆方组靶点的预测及分析

将 3 个拆方组中的化合物英文名称或 CAS 号输入 TCMSP、CTD 等数据库中，筛选与该方适应症密切相关的蛋白靶点名称。然后，把蛋白名称输入 UniProt 数据库，获得其相应靶点的人源的基因名称。将整合的基因导入 STRING 11.5 数据库中，获得蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 关系数据，通过将数据表导入 Cytoscape 软件，并进行 Network Analyzer 分析，筛选得到各拆方组的关键作用靶点。

## 2.4 各拆方组靶点的生物信息学分析

运用 Omicsbean 数据库对靶点蛋白进行生物信息学基因本体 (gene ontology, GO) 分析，包括细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 以及生物过程 (biological process, BP)。同时在 STRING 11.5 数据库中可得到与蛋白靶点相关的信号通路，通过京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库以及查阅相关文献，对得到的通路进行注释分析。

## 2.5 各拆方组作用特点分析及网络构建

通过查阅数据库及文献，对痹祺胶囊各拆方组进行作用特点分析，构建药材-化合物、化合物-靶点、靶点-功效、靶点-通路关系，将其对应关系导入 Cytoscape 3.6.0 软件中，构建痹祺胶囊各拆方组“药

材-化合物-靶点-通路-功效”网络。通过整合网络分析,探究痹祺胶囊各拆方组通过多成分、多靶点、多通路发挥协同作用的机制,并阐释其配伍规律。

### 3 结果

#### 3.1 益气养血组作用特点分析

痹祺胶囊益气养血组由党参、茯苓、白术组成,本研究选取了党参、茯苓、白术中包含党参炔苷、党参苷 I、党参苷 II、白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、苍术酮、土莫酸、茯苓酸、去氢土莫酸、茯苓酸 B 的 11 个化合物,通过 TCMSP、TCD、PharmMapper 等数据库得到了 67 个靶点。将 67 个作用靶点导入 String 数据库中,得到了蛋白间相互作用关系(图 1-A),将 PPI 核心靶点投射至 OmicsBean 在线分析软件中对益气养血组进行功能注释分析(图 2-A)和 KEGG 通路分析,并经 Omicshare 工具对前 20 条通路进行可视化(图 3-A)。最后,通过 Cytoscape 软件,得到药材-化合物-靶点-通路-功效网络(图 4-A)。

对核心靶点分析结果显示,处于益气养血组 PPI 网络中心的白蛋白(albumin, ALB, 度值 30)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF, 度值 28)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL6, 度值 26)、血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA, 度值 23)、IL1B(度值 22)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cystein-aspartate protease-3, CASP3, 度值 22)、造血前列腺素合成酶 D(hematopoietic prostaglandin D synthase, HPGDS, 度值 19)、丝裂原活化蛋白激酶 1(mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1, 度值 19)、MAPK14(度值 19)、MAPK8(度值 19)、雄激素受体(androgen receptor, AR(度值 15)、 $\beta_2$  肾上腺素能受体(Beta-2 adrenergic receptor, ADRB2, 度值 12)等拥有较多蛋白间相互作用,提示益气养血组药材药效机制可能与这些蛋白相关性较大。

将靶点投射于 String 数据库中得到 40 条通路,经分析相关通路过程发现,主要涉及骨髓造血系统、免疫抗炎、骨形成与代谢、神经营养系统等方面,说明益气养血药材可能作用于 ALB、TNF、IL6、CASP3、MAPK1、MAPK14、MAPK8、AR、ADRB2、丝氨酸/苏氨酸激酶 pim1(serine/threonine-protein kinase pim-1, PIM1)、FKBP 脯氨酸异构酶 1A(peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerase FKBP1A, FKBP1A)、醛固酮类还原酶家族 1 成员

C3(aldo-keto reductase family 1 member C3, AKR1C3)等蛋白,进而通过 T 细胞受体信号通路、FoxO 信号通路、神经营养信号通路、造血细胞谱系、催乳素信号通路等调控骨髓造血细胞增殖、凋亡,维持骨髓造血微环境;通过破骨细胞分化、MAPK 信号通路、环磷腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)信号通路、黏着斑、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)信号通路等通路调控骨形成与代谢,抑制血管翳形成,维持关节微环境稳定;通过 NOD 样受体信号通路、Th1 和 Th2 细胞分化等通路调控免疫过程等发挥益气养血作用。

#### 3.2 活血通络组作用特点分析

痹祺胶囊活血通络组由丹参、三七、川芎、川芎和地龙组成,本研究选取了丹参、三七、川芎、白术和地龙中包含丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素、丹参酮 II<sub>A</sub>、人参皂苷 R<sub>g1</sub>、阿魏酸、25S-牛膝甾酮、20-羟基蜕皮激素、牛膝皂苷 II、次黄嘌呤等在内的 20 个化合物,通过 TCMSP、TCD、PharmMapper 等数据库得到了 117 个靶点。将 117 个作用靶点导入 String 数据库中,得到了蛋白间相互作用关系(图 1-B),将 PPI 核心靶点投射至 OmicsBean 在线分析软件中对活血通络组进行功能注释分析(GO 分析,图 2-B)和 KEGG 通路富集分析,并经 Omicshare 工具对前 20 条通路进行可视化(图 3-B)。最后,通过 Cytoscape 软件,得到化合物-靶点-通路网络(图 4-B)。

对核心靶点分析结果显示,处于活血通络组 PPI 网络中心的 AKT1(度值 86)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinases 9, MMP9, 度值 79)、趋化因子配体 8(chemokine ligand 8, CXCL8, 度值 76)、肿瘤蛋白 p53(tumor protein p53, TP53, 度值 76)、纤连蛋白(fibronectin, FN1, 度值 75)、信号转导子和转录激活子 3(signal transducer and activators of transcription 3, STAT3, 度值 75)、原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src(proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src, SRC, 度值 74)、C-C 基序趋化因子(C-C motif chemokine 2, CCL2, 度值 73)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR, 度值 73)、MMP2(度值 64)等拥有较多蛋白间相互作用,提示活血通络组药材药效机制可能与这些蛋白相关性较大。

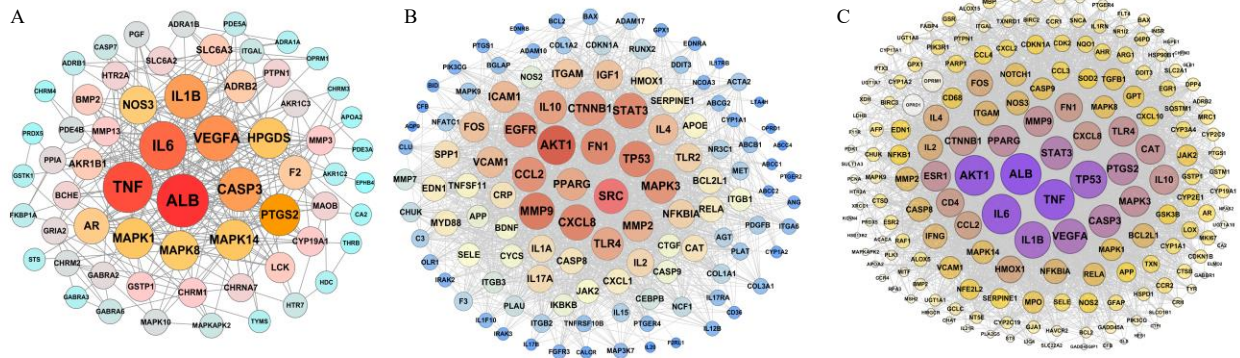


图1 益气养血组 (A)、活血通络组 (B)、抗炎止痛组 (C) 关键靶点的 PPI 网络

Fig. 1 PPI network of key targets in supplementing *qi* and nourishing blood group (A), promoting blood circulation and dredging collaterals group (B), and anti-inflammatory and analgesic group (C)

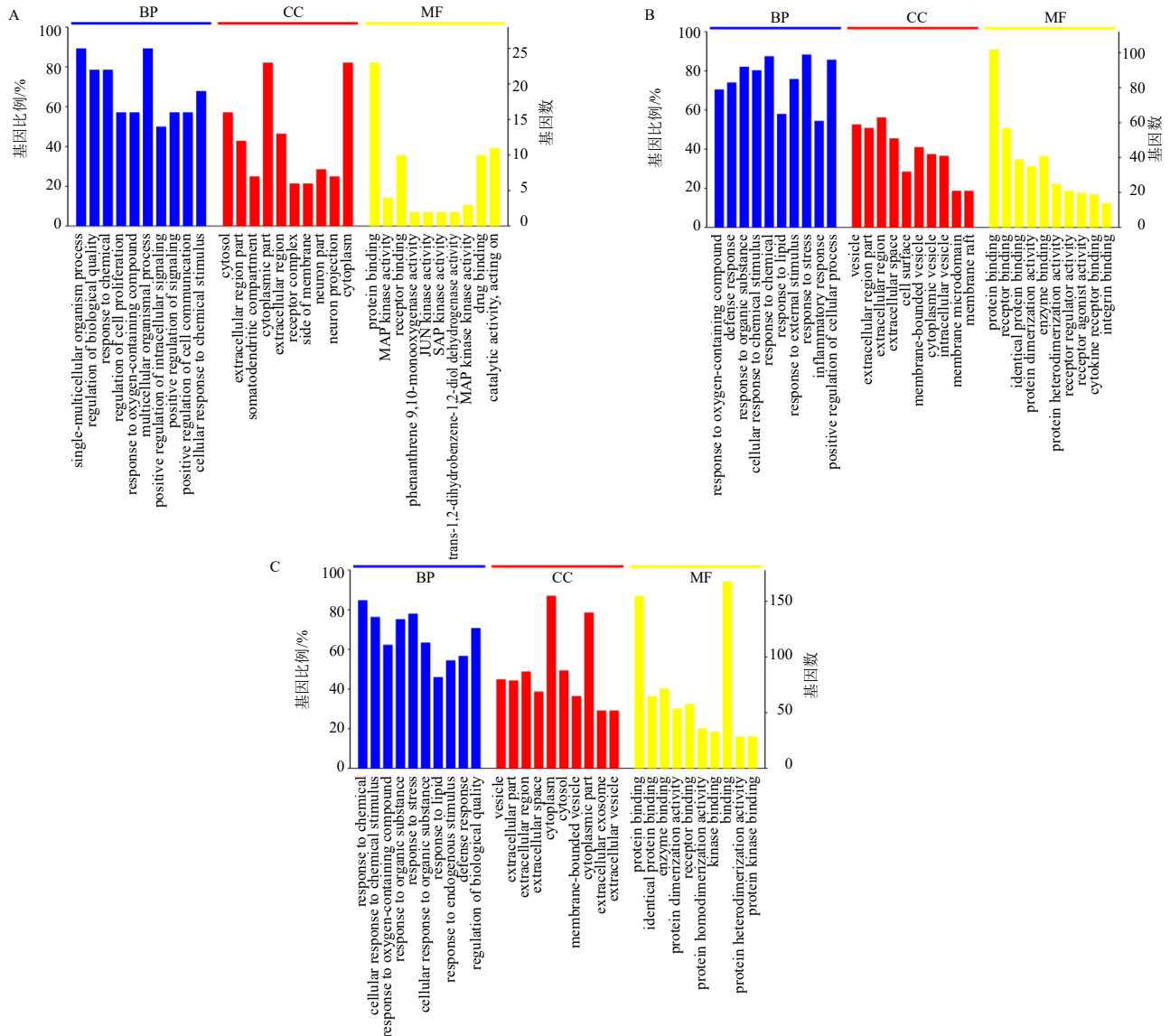


图2 益气养血组 (A)、活血通络组 (B)、抗炎止痛组 (C) 关键靶点的 GO 功能分析

Fig. 2 GO function analysis of key targets in supplementing *qi* and nourishing blood group (A), promoting blood circulation and dredging collaterals group (B), and anti-inflammatory and analgesic group (C)

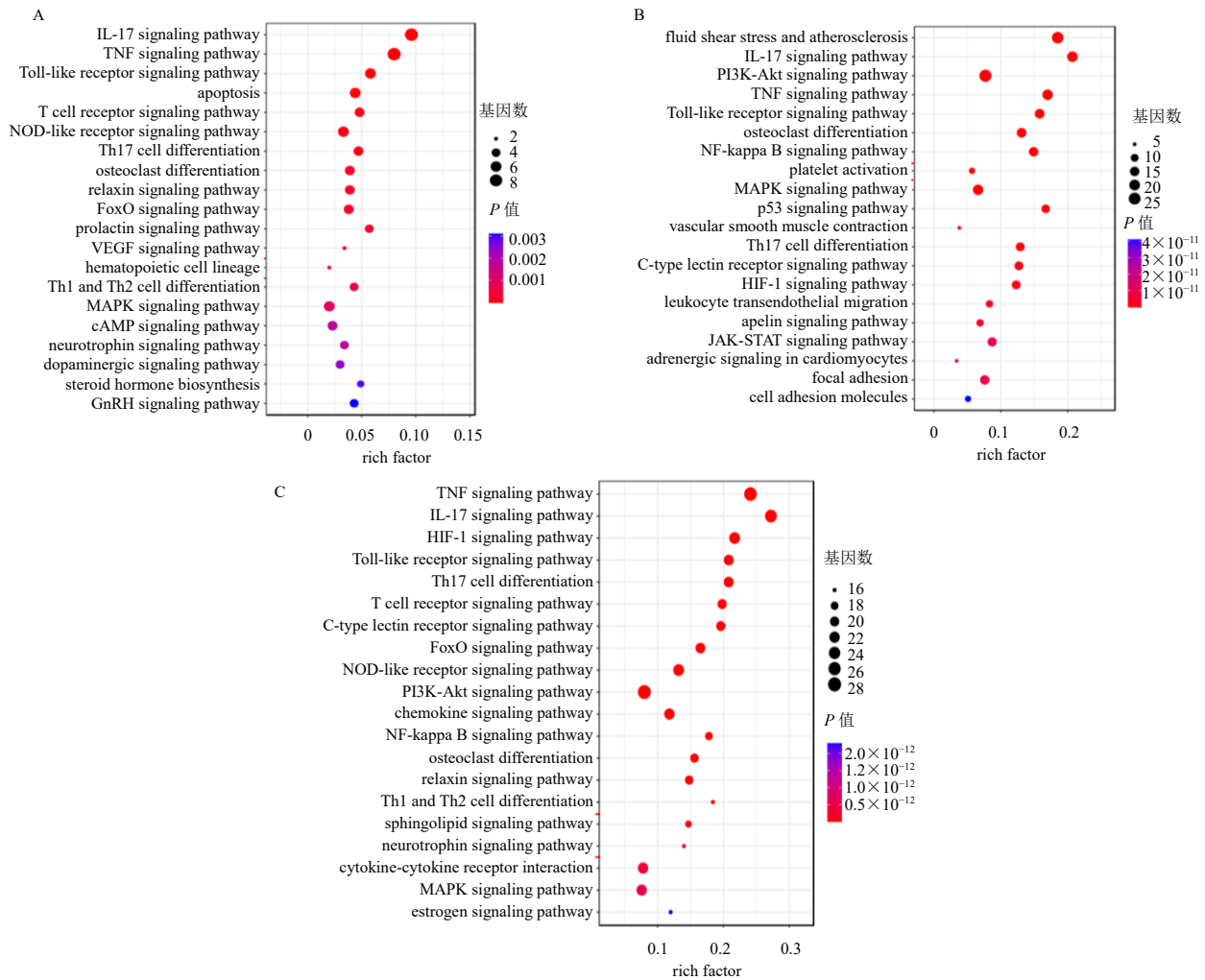


图 3 益气养血组 (A)、活血通络组 (B)、抗炎镇痛组 (C) 关键靶点的 KEGG 通路分析

Fig. 3 KEGG pathway analysis of key targets in supplementing *qi* and nourishing blood group (A), promoting blood circulation and dredging collaterals group (B), and anti-inflammatory and analgesic group (C)

将靶点投射于 String 数据库中得到 77 条通路，经分析相关通路过程发现，涉及血液微循环、凝血和纤溶系统、免疫抗炎、血管内皮损伤、骨代谢等方面，说明活血通络药材可能作用于凝血因子 III (coagulation factor III, F3)、FN1、金属羧肽酶 CPX1 (probable carboxypeptidase X1, CPX1)、血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HMOX1)、细胞间黏附因子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM1)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚单位  $\gamma$  亚型 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform, PIK3CG)、一氧化氮合酶 2 (nitric oxide synthase 2, NOS2) 等蛋白，通过流体剪切应力与动脉粥样硬化代谢通路、血小板激活、醛固酮调节的钠重吸收、环磷酸鸟苷 (cyclic 3',5'-monophosphate, GMP)-蛋白激酶 G (protein kinase G,

PKG) 信号通路等通路调控血流动力学、凝血系统过程；通过 PI3K-Akt 信号通路、VEGF 信号通路、血管平滑肌收缩等通路调控血管内皮增生、血管收缩过程；通过 IL-17 信号通路、Toll 样受体信号通路、核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路、趋化因子信号通路等通路调控淋巴细胞分化、抑制炎症因子释放等发挥免疫炎症、软骨保护等作用。

### 3.3 抗炎镇痛组作用特点分析

痹祺胶囊抗炎镇痛组由马钱子和甘草组成，本研究选取了马钱子、甘草中包含的士的宁、马钱子碱、甘草苷、甘草次酸在内的 8 个化合物，通过 TCMSP、TCD、PharmMapper 等数据库得到了 180 个靶点。将 180 个作用靶点导入 String 数据库中，得到了蛋白间相互作用关系 (图 1-C)，将 PPI 核心靶点投射至 OmicsBean 在线分析软件中对抗炎镇痛组进行功

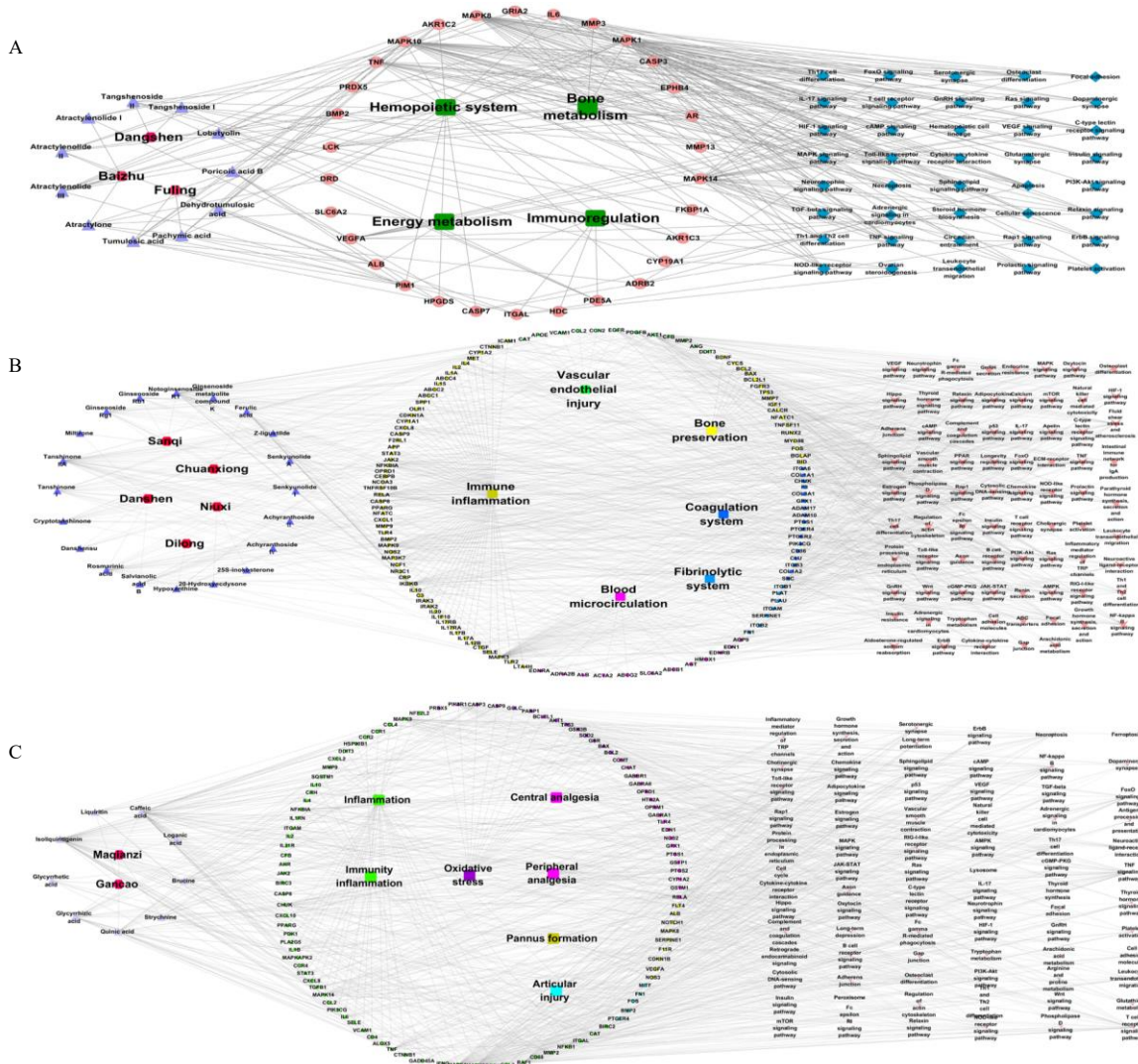


图4 益气养血组 (A)、活血通络组 (B)、抗炎镇痛组 (C) 的“药材-化合物-靶点-通路-功效”网络  
 Fig. 4 “Medicinal material-compound-target-pathway-efficiency” network of supplementing *qi* and nourishing blood group (A), promoting blood circulation and dredging collaterals group (B), and anti-inflammatory and analgesic group (C)

能注释分析 (GO 分析, 图 2-C) 和 KEGG 通路分析, 并经 Omicshare 工具对前 20 条通路进行可视化 (图 3-C)。最后, 通过 Cytoscape 软件, 得到化合物-靶点-通路网络 (图 4-C)。

对核心靶点分析结果显示, 处于抗炎镇痛组 PPI 网络中心的 TNF(度值 124)、AKT1(度值 123)、IL6(度值 122)、TP53(度值 114)、IL1B(度值 111)、VEGFA (度值 104)、前列腺素 G/H 合成酶 2 (prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2, 度值 95)、CCL4 (度值 47)、CCL3 (度值 47) 等拥有较多蛋白间相互作用, 提示抗炎镇痛组药材药效机制可能与这些蛋白相关性较大。

将靶点投射于 String 数据库中得到 77 条通路, 经分析相关通路过程发现, 涉及中枢镇痛、外周抗

炎镇痛、免疫炎症调节、骨代谢平衡等方面, 说明抗炎镇痛药材可能作用于 TNF、IL6、PTGS2、OPRM1、OPRD1 等蛋白, 通过 Toll 样受体信号通路、鞘脂信号通路、血清素能突触、长时程抑制、长时程增强、趋化因子信号通路等通路抑制中枢敏化调控中枢镇痛过程; 通过 C 型凝集素受体信号通路、FoxO 信号通路、NF-κB 信号通路、FcεRI 信号通路、花生四烯酸代谢等抑制炎症因子释放及外周疼痛感受器敏化调控外周抗炎镇痛过程; 通过 IL-17 信号通路、Th17 细胞分化、T 细胞受体信号通路、破骨细胞分化、B 细胞受体信号通路、抗原加工和呈递、cGMP-PKG 信号通路等通路抑制抗原递呈、滑膜中炎症细胞募集、血管翳形成、软骨破坏等过程发挥免疫抗炎、骨保护等作用。



#### 4 讨论

中医对复杂疾病的辨证施治,本表结合,强调整体性,这一思想决定了中药复方的组方原则,中药复方发挥药理作用,具有多组分、多靶点的综合优势,但对于复方配伍机制的本质认识和微观阐述仍然比较模糊。痹祺胶囊由马钱子、党参、白术等10味药物组成,诸药配伍具有益气养血、祛风除湿、活血止痛的作用,切合痹证本需不固,外邪留滞致痰瘀水湿的病因病机。

研究发现,骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)可通过直接接触造血细胞或分泌多种调控造血细胞生成的细胞因子,参与调节造血细胞增殖、分化及凋亡<sup>[4]</sup>。BMSCs本身的增殖、凋亡受到如红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、集落形成刺激因子(colony-stimulating factor, CSF)及IL-3、AKR1C3等多种细胞因子的调节,在实现这种调节的信号通路中,PI3K-Akt-FoxO信号通路、Caspase-3细胞凋亡通路、Janus激酶(Janus kinase, JAK)-信号转导和转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)信号通路等具有重要作用。四物汤可能通过激活PI3K-Akt-FoxO信号通路,下调*Bim*基因表达,从而抑制小鼠骨髓基质细胞凋亡<sup>[5]</sup>。骨形成蛋白表达于骨髓造血微环境,在造血调控中发挥重要作用,其中骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)、BMP4和BMP7参与诱导造血细胞的分化,是重要的诱血因子,主要通过转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )信号通路、Smad信号通路、Wnt信号通路、MAPK信号通路等<sup>[6]</sup>,促进EPO-R的释放和下调内皮转录因子GATA-2(endothelial transcription factor GATA-2, GATA-2)而促进造血<sup>[7]</sup>。活化的淋巴细胞所产生的细胞因子,能够调节机体免疫,研究发现,再生障碍性贫血患者造血负调控处于主导地位<sup>[8]</sup>,IL-17等负性细胞因子分泌的减少,可以促进骨髓造血功能的恢复。类风湿性关节炎的特征主要是炎症细胞向滑膜关节浸润增多,最终导致软骨和骨骼损伤,Th1和Th17 T细胞亚群是炎症滑膜组织中发现的主要细胞类型。Th17细胞主要分泌IL-17,能够诱导发生自身免疫性疾病,激活的T淋巴细胞可以引起造血干细胞的过度凋亡<sup>[9]</sup>,IL-17可进一步诱导巨噬细胞分泌高水平的TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-8等,从而抑制造血祖细胞的增殖<sup>[10-11]</sup>。以上的研究表明造血微环境、免疫细胞的激活、细

胞因子的释放等均是造成患者正气虚弱的原因。本研究发现,益气养血组可维持骨髓造血微环境、调控骨形成与代谢和免疫过程等发挥益气养血作用。

痰浊、瘀血、水湿在痹证的发生发展过程中起着重要作用。现代医学认为,血液及关节局部的纤凝异常是类风湿性关节炎一个重要病理特征<sup>[12]</sup>。血小板聚集性增高是血瘀证临床诊断标准之一<sup>[13]</sup>。研究表明,在血瘀证形成过程中,血小板异常活化,血小板平均体积、血小板体积分布宽度较正常人明显增高,使血液处于“高聚”状态<sup>[14]</sup>。谈冰等<sup>[15]</sup>认为机体内长期慢性炎症导致细胞因子失衡及免疫紊乱,造成血管内皮细胞受损,从而直接或间接激活凝血-纤溶系统,会导致微循环障碍的发生。RA滑膜的各类细胞产生多种细胞因子,包括IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、IL-15、TNF- $\alpha$ 、IL-17等,其中TNF- $\alpha$ 、IL-17等炎症因子的升高,引起NF- $\kappa$ B信号通路异常活化,而活化后的NF- $\kappa$ B信号通路又可以引起IL-1、TNF- $\alpha$ 及VEGF的大量释放,刺激内皮细胞分泌炎症介质,激活凝血系统并抑制纤溶,促使血管翳的形成。贾杰芳等<sup>[16]</sup>发现类风湿性关节炎患者血清细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)异常升高,导致内皮细胞损伤,从而加剧血瘀的发生。滑膜中异常表达VEGF促进血管生成和诱导血管发生,形成血管翳,引起骨、软骨和关节的破坏,导致不可逆的关节功能丧失。PI3K-Akt作为VEGF的下游信号通路,可经下游分子mTOR和Fos促进内皮细胞增殖和血管新生,参与血瘀状态的维持<sup>[17]</sup>。现代药理学验证丹参中丹参素、丹参酮类成分具有抗血小板聚集、抗凝血、钙拮抗等作用<sup>[18-19]</sup>。三七中的人参三醇皂苷能降低脑血管阻力,增加脑血流量,对血压无影响,抑制对二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)诱导的大鼠血小板聚集,从而抑制大鼠动-静脉旁路血栓的形成。川芎中的有效成分藁本内酯、阿魏酸等具有抗血小板聚集、延长凝血酶原时间等作用<sup>[20]</sup>。牛膝具有显著降低血小板聚集性、改善红细胞变形能力、降低纤维蛋白原水平的作用<sup>[21-22]</sup>。地龙中蚓激酶能降低血液黏稠度,改善微循环,可使体外血栓形成的时间延长,既抗凝又不影响止血,有利于血栓的防治<sup>[23]</sup>。本研究发现,活血通络组可调控血流动力学、凝血系统,抑制血管增生,抑制炎症因子释放等发挥活血通络、止痛的作用。

类风湿性关节炎发病过程中,关节软骨的退化、

破坏最为重要的原因之一就是大量炎症因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、IL-17、IL-15 等) 的侵袭, 可促进滑膜细胞增生、软骨细胞凋亡等, 进一步破坏关节软骨。IL-1 $\beta$  在类风湿性关节炎启动中发挥较为关键的作用, IL-1 $\beta$  可促进前列腺素 E<sub>2</sub> (prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)、胶原酶的释放等。IL-6 不仅能促进 T 细胞和 B 细胞的增殖和活化, 诱导肝脏合成急性反应蛋白及类风湿因子, 从而促使炎症反应的产生。IL-17 与受体结合后, 通过 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 等途径发挥生物学作用<sup>[24]</sup>, 其中 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活使脊髓内炎症反应加重、神经递质释放量增加、离子通道功能改变, 脊髓背角内炎症的持续存在, 甚至会导致神经元及神经胶质细胞会产结构性的改变, 最终产生慢性、难治性和神经病理性疼痛<sup>[25]</sup>。中枢  $\mu$ -阿片受体系统与降低对疼痛刺激的疼痛反应有关。脑啡肽是神经内分泌系统产生的一种多肽激素, 属内源性阿片样物质, 存在于大脑功能区的脑啡肽具有广泛的镇痛作用<sup>[26]</sup>。中缝大核内 5-羟色胺受体 2A (5-hydroxytryptamine receptor 2A, 5-HT<sub>2A</sub>) 主要分布在非 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 神经元, 且随外周炎症的发展, 5-HT<sub>2A</sub> 的合成增加。外周 5-HT 通过激活 5-HT<sub>2A</sub> 参与了角叉菜胶的炎症痛, 阻断 5-HT<sub>2A</sub> 会内源性阿片肽及阿片受体表达量的升

高, 从而发挥一定的镇痛作用<sup>[27]</sup>。研究发现, 马钱子碱能抑制外周炎症组织 PGE<sub>2</sub> 的释放, 抑制大鼠血浆 5-HT、6-酮前列腺素 F<sub>1a</sub> 与血栓烷素炎症介质的释放, 降低感觉神经末梢对痛觉敏感性及抑制钙激活钾离子通道发挥抗炎镇痛作用<sup>[28-29]</sup>, 还可增加大脑功能区脑啡肽的含量而镇痛<sup>[30]</sup>。本研究发现, 抗炎镇痛组可通过抑制免疫细胞的激活、炎症因子释放、抑制中枢和外周敏化发挥 (除湿) 抗炎镇痛的作用。

综上, 本研究通过网络药理学的方法基于配伍理论分析了痹祺胶囊 3 个功能拆方组的作用靶点及途径 (图 5), 3 组之间既有共同的作用靶点和通路, 又各有侧重, 协同发挥治疗 RA 的效果, 结合前期对痹祺胶囊的拆方研究发现, 痹祺胶囊中党参、白术、茯苓可提高环磷酸胺诱导的外周血细胞数量、EPO 含量及脾脏 T 细胞分型, 主要发挥益气养血作用, 丹参、三七、川芎、牛膝和地龙可抑制微循环障碍大鼠血液流速、全血黏度, 主要发挥活血化瘀作用, 马钱子、甘草可抑制炎症和疼痛反应, 初步阐述了痹祺胶囊的配伍规律, 进一步显示了中医治疗疾病的整体观念。

但网络药理学毕竟基于数据预测, 在痹祺胶囊配伍机制的研究中具有一定的局限性, 后续仍然需要经过细胞/分子水平进行验证。

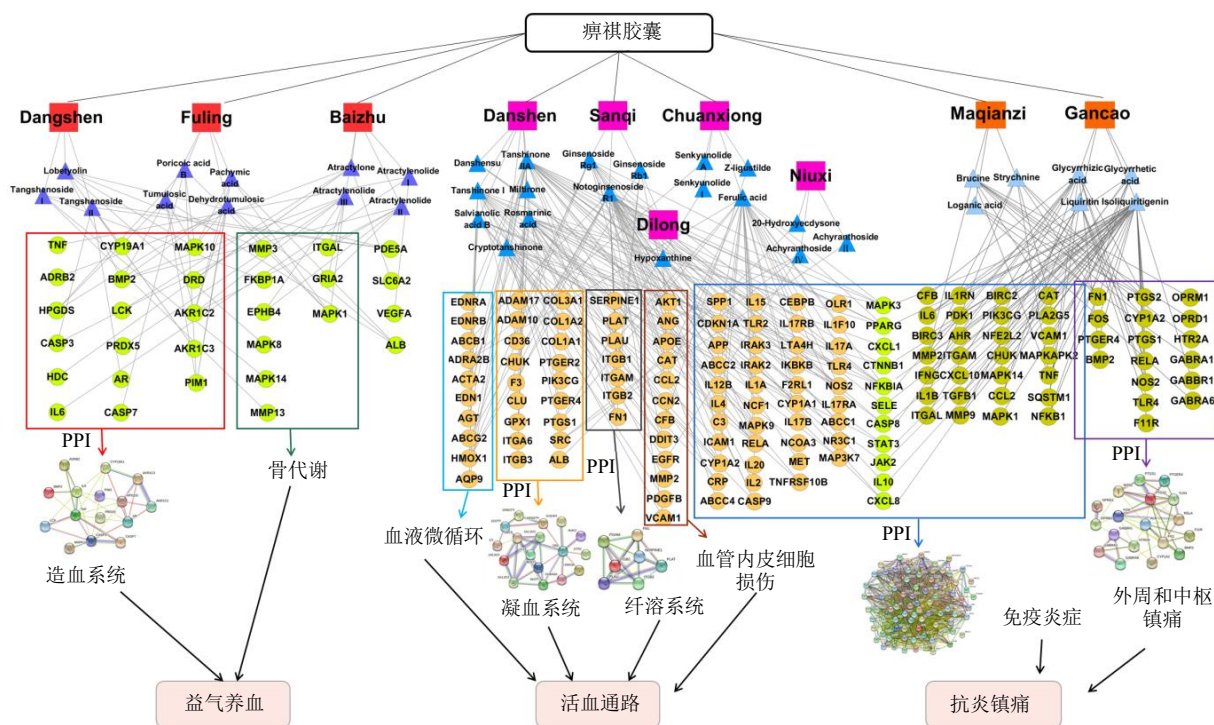


图 5 痹祺胶囊各拆方组作用特点网络分析

Fig. 5 Network analysis of pharmacological characteristics of BiQi Capsule and cits disassembled formulas

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Hopkins A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11): 682-690.
- [2] 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.
- [3] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [4] 李仙峰, 任明姬. 骨髓基质细胞参与造血调控研究 [J]. *医学综述*, 2008, 14(1): 45-47.
- [5] 冯伟科, 胡琦, 张亚楠, 等. 基于 PI3K-Akt-FoxO 信号通路的四物汤对小鼠骨髓基质细胞凋亡的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(2): 304-307.
- [6] 苏约翰. 骨形成蛋白对造血干细胞体外扩增特性和生理功能的影响 [D]. 上海: 华东理工大学, 2014.
- [7] Maćeno M, Ong R C, Suzuki A, *et al*. A truncated bone morphogenetic protein 4 receptor alters the fate of ventral mesoderm to dorsal mesoderm: Roles of animal pole tissue in the development of ventral mesoderm [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(22): 10260-10264.
- [8] 郭超, 陈晓涛, 李宝坤, 等. 白细胞介素-17 在破骨细胞凋亡中的作用研究进展 [J]. *口腔医学*, 2018, 38(11): 1031-1034.
- [9] 王志远. 骨髓生血胶囊对慢性再生障碍性贫血患者 IL-17 及 Caspase-3 酶活性的影响 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2020.
- [10] Gu Y, Hu X J, Liu C F, *et al*. Interleukin (IL)-17 promotes macrophages to produce IL-8, IL-6 and tumour necrosis factor-alpha in aplastic anaemia [J]. *Br J Haematol*, 2008, 142(1): 109-114.
- [11] Broxmeyer H E, Starnes T, Ramsey H, *et al*. The IL-17 cytokine family members are inhibitors of human hematopoietic progenitor proliferation [J]. *Blood*, 2006, 108(2): 770.
- [12] 周淑华. 类风湿关节炎从瘀论治概述 [J]. *山西中医*, 2013, 29(12): 43-44.
- [13] 王阶, 姚魁武. 血瘀证诊断标准研究述要及思考 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2004, 11(1): 17-19.
- [14] 刘旭, 吴宿慧, 陈小菲, 等. 基于 vWF/GPIb-IX-V 信号通路的丹红注射液对急性血瘀大鼠模型活血化瘀作用及机制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(4): 1173-1183.
- [15] 谈冰, 刘健, 章平衡. 新风胶囊通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路改善膝关节炎患者高凝状态 [J]. *免疫学杂志*, 2016, 32(9): 781-789.
- [16] 贾杰芳, 杨文东, 马庆海. SLE、RA 患者血清 sICAM-1 和 PTM 水平的变化及其临床意义 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2003, 19(2): 203-204.
- [17] 林章英, 汪元, 黄传兵, 等. 新风胶囊通过调控 miR-126-VEGF/PI3K/AKT 信号通路改善类风湿关节炎患者血瘀状态的作用机制研究 [J]. *海南医学院学报*, 2022, 28(7): 522-527.
- [18] 张持, 赵振宇. 活血化瘀中药丹参及其方药基于中医辨证治疗冠心病的作用机理研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2014, 20(4): 462-464.
- [19] 舒菁菁, 李菲, 董雅芬, 等. 丹参素药理作用及机制的研究进展 [J]. *药学实践杂志*, 2012, 30(4): 266-268.
- [20] 华芳. 川芎活血化瘀功效相关药理作用定量测定方法的建立 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [21] 周军. 牛膝中化学成分和药理作用研究进展 [J]. *天津药学*, 2009, 21(3): 66-67.
- [22] 毛平, 夏卉莉, 袁秀荣, 等. 怀牛膝多糖抗凝血作用实验研究 [J]. *时珍国医国药*, 2000, 11(12): 1075-1076.
- [23] 马艳春, 宋立群, 肖洪彬, 等. 地龙药理作用研究进展概况 [J]. *中国临床保健杂志*, 2009, 12(4): 436-438.
- [24] 谢庆云. IL-17 信号通路关键基因 DNA 甲基化在骨关节炎软骨炎症中的作用及机制研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2017.
- [25] 李云泽. 脊髓内 NF- $\kappa$ B p65 信号通路在膝关节骨性关节炎所致痛觉敏感中的作用 [D]. 济南: 山东大学, 2017.
- [26] Braz J, Beaufour C, Coutaux A, *et al*. Therapeutic efficacy in experimental polyarthritis of viral-driven enkephalin overproduction in sensory neurons [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(20): 7881-7888.
- [27] Zhang Y Q, Gao X, Ji G C, *et al*. Expression of 5-HT<sub>2A</sub> receptor mRNA in rat nucleus raphe Magnus neurons after peripheral inflammation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(10): 923-928.
- [28] 殷武. 马钱子生物碱类成分镇痛作用研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2000.
- [29] 李永丰. 马钱子碱通过钾离子通道调节外周镇痛 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(10): 787-788.
- [30] 崔皎, 许惠琴, 陶玉菡. 马钱子碱透皮贴剂镇痛实验研究及对大鼠脑啡肽含量的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(5): 7-9.

[责任编辑 李亚楠]