



基于网络药理学和分子对接探讨桑枝改善高尿酸血症的作用机制

阮仕洋, 陈 慧, 曾凡丽, 廖尚高, 罗喜荣

Study on the Mechanism of Mulberry Twig Improving Hyperuricemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

RUAN Shiyang, CHEN Hui, ZENG Fanli, LIAO Shangao, and LUO Xirong

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120340>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于体外药效学结合网络药理学和分子对接对人参-桑椹改善骨质疏松的机制研究

Mechanism of Ginseng-Mulberry Treating Osteoporosis Based on Pharmacodynamics *in Vitro* Combined with Network Pharmacology and Molecular Docking

食品工业科技. 2021, 42(20): 1-13

基于网络药理学与分子对接技术探讨益肝草凉茶解酒保肝的作用机制

Mechanism of Relieving Alcohol and Protecting Liver of Yigancao Herbal Tea Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

食品工业科技. 2021, 42(8): 8-18

基于网络药理学探讨桦褐孔菌降血糖功效成分及作用机制

Action Mechanism of *Inonotus obliquus* in the Treatment of Diabetes and the Material Basis of Pharmacodynamics Based on Network Pharmacology

食品工业科技. 2021, 42(22): 18-29

基于网络药理学探讨预知子抗抑郁的作用机制

Mechanism of Anti-depression Mechanism of Akebiae Fructus Based on Network Pharmacology

食品工业科技. 2021, 42(14): 8-15

基于网络药理学分析咖啡酰奎宁酸类化合物治疗II型糖尿病的作用机制

Mechanism of Caffeoylquinic Acids in the Treatment of Type II Diabetes Based on Network Pharmacology

食品工业科技. 2021, 42(14): 16-24

咖啡酰奎宁酸类化合物抑菌活性的网络药理学研究

Network Pharmacology Study on the Antibacterial Activity of Caffeoylquinic Acids

食品工业科技. 2021, 42(13): 11-20



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

阮仕洋, 陈慧, 曾凡丽, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨桑枝改善高尿酸血症的作用机制 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(19): 22–30. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120340

RUAN Shiyang, CHEN Hui, ZENG Fanli, et al. Study on the Mechanism of Mulberry Twig Improving Hyperuricemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(19): 22–30. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120340

· 未来食品 ·

基于网络药理学和分子对接探讨桑枝改善高尿酸血症的作用机制

阮仕洋¹, 陈 慧¹, 曾凡丽¹, 廖尚高^{1,2,3}, 罗喜荣^{1,*}

(1. 贵州医科大学药学院, 贵州贵阳 550025;

2. 贵州医科大学药学院/省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州贵阳 550025;

3. 贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心/贵州省药物制剂重点实验室, 贵州贵阳 550004)

摘 要:目的: 探讨桑枝 (mulberry twig) 治疗高尿酸血症 (HUA) 的可能作用靶点及机制。方法: 于 TCMS、Batman-TCM、PubMed、CNKI 等数据库进行检索, 获取桑枝组分群, 借助 SwissTargetPrediction 及 PharmMapper 等平台获取桑枝成分靶点; 并利用 GeneCards 和 OMIM 在线平台收集整理 HUA 相关靶点; 将 HUA 靶点与桑枝组分靶点取交集, 得到共有靶点; 利用 STRING 官方平台和 Cytoscape 软件获取蛋白互作网络图, 并借助后者获取“化合物-靶点-通路”网络作用图; 采取 DAVID 平台展开 GO 和 KEGG 富集分析; 借助分子对接 (Molecular docking) 手段对分析结果加以验证。结果: 筛选出桑枝潜在活性组分 45 个, 组分靶点 620 个, HUA 相关靶点 1277 个, 共有靶点 128 个, 经网络拓扑分析, 得到 *VEGFA*、*SRC*、*PIK3CA*、*MAPK1*、*IL6*、*TNF* 等 13 个核心靶点以及木犀草素、槲皮素、环桑色烯、桑辛素 M、桑色素、山奈酚、异鼠李素等 10 个活性组分。GO 富集分析条目共获取 295 条 ($P < 0.01$), 其中, 生物过程 (BP) 共 212 个, 主要包括细胞增殖正相调控、凋亡过程负相调控等; 细胞组成 (CC) 共 31 个, 靶点主要存在于质膜及细胞质等; 分子功能 (MF) 共 52 个, 主要涉及蛋白质结合、ATP 结合等; KEGG 富集共获取信号通路 78 条 ($P < 0.01$), 主要包括 Cancer、TNF、TRP、Toll-like receptor 等信号通路。分子对接结果表明潜在活性组分与核心靶点结合优良。结论: 本研究初步表明桑枝治疗 HUA 作用具有多组分、多靶点、多信号通路的特点, 为后期深入研究桑枝潜在活性组分治疗 HUA 的分子机制奠定科学依据。

关键词: 高尿酸血症, 桑枝, 分子对接, 网络药理学

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)19-0022-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120340

本文网刊:



Study on the Mechanism of Mulberry Twig Improving Hyperuricemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

RUAN Shiyang¹, CHEN Hui¹, ZENG Fanli¹, LIAO Shangao^{1,2,3}, LUO Xirong^{1,*}

(1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;

2. School of Pharmacy, Guizhou Medical University/State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guiyang 550025, China;

3. Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM, Ministry of Education/Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

Abstract: Objective: To explore the possible target and mechanism of mulberry twig in the treatment of hyperuricemia

收稿日期: 2022-01-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.U1812403); 贵州省中药、民族药活性物质筛选新技术开发应用科技创新人才团队项目 (黔科合平台人才 [2020]5006); 贵州省高层次人才项目 (黔科合平台人才 [2020]6011)。

作者简介: 阮仕洋 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 天然药物活性成分, E-mail: 1766646014@qq.com。

*** 通信作者:** 罗喜荣 (1973-), 女, 硕士, 教授, 研究方向: 药物新剂型、新技术及药代动力学研究, E-mail: 1341323603@qq.com。

(HUA). Methods: Batman-TCM, TCMSP, PubMed, CNKI databases were used to obtain components of mulberry twig, component-related targets were collected through SwissTargetPrediction and PharmMapper online analysis platform. HUA targets were collected through GeneCards and OMIM databases. The intersection of disease targets and component targets was taken to obtain shared targets, protein interaction networks were constructed using the STRING database and the Cytoscape software, the compound-target-pathway network was constructed by Cytoscape software. The GO and KEGG enrichment analysis were performed using the DAVID database. Molecular docking was used to verify the results. Results: A total of 45 active components of mulberry twig, which corresponding to 620 targets, 1277 related disease targets of HUA, 128 intersecting targets for active components and HUA were screened out. After topological analysis, there were 13 core targets including *VEGFA*, *SRC*, *PIK3CA*, *MAPK1*, *IL6*, *TNF*, etc. And 10 active components including Luteolin, Quercetin, Cyclomulberrochromene, Moracin M, Morin, Kaempferol, Isorhamnetin, etc. 295 GO entries ($P < 0.01$) and 78 KEGG ($P < 0.01$) signal pathways were obtained by enrichment analyses. Among them, there are 212 biological processes (BP), which mainly included positive regulation of cell proliferation and negative regulation of apoptosis processes, 31 cell composition (CC), with targets mainly located in the plasma membrane and cytoplasm, molecular functions (MF) 52 in total, mainly related to protein binding, ATP binding, etc. KEGG enrichment analysis mainly involved such signaling pathways as Cancer, TNF, TRP and Toll-like receptor. Molecular docking revealed a good binding activity of the main active components to the core targets. Conclusions: This study preliminarily showed that the treatment of HUA with mulberry twig had the characteristics of multi-component, multi-target and multi-signal pathway, which provided a scientific basis for further study on the molecular mechanism of the treatment of HUA with the potential active components of mulberry twig.

Key words: hyperuricemia; mulberry twig; molecular docking; network pharmacology

高尿酸血症(Hyperuricemia, HUA)作为一种常见的代谢性疾病,主要是由于嘌呤在代谢过程中发生异常所致,体外嘌呤摄入过多、内源性嘌呤生产过剩以及嘌呤排泄不及时等都是诱发高尿酸血症的关键因素^[1]。根据发病过程中机制的差异性,可将其划分为原发性 HUA 和继发性 HUA 两大类型,由基因突变引起的多为原发性 HUA,为遗传性类;由药物使用或肾脏等疾病诱导的多为继发性 HUA^[2]。许多研究证明血清尿酸(UA)的升高已成为与疾病密切相关的独立危险因素,如痛风^[3]、糖尿病^[4]、心血管方面疾病^[5]、高血压^[6]和肾脏方面慢性疾病^[7]等。临床上,降低血清尿酸常作为防治 HUA 的措施^[8],目前常用抑制尿酸生成药、改善尿酸排泄药、尿酸酶合成剂和碱化尿液药等 4 类药物治疗 HUA^[9],但治疗过程中副作用较为明显,临床应用受到了限制。近年来传统中药成为研究热点,主要由于其在疗效突出的同时,兼具安全性高及多靶点治疗的特性,所以在调节尿酸水平及发挥抗炎作用方面的优势是西医无法替代的。

桑枝(*Morus alba* L.)又名桑条,通常为桑树干燥嫩枝的统称,其药性平和,味略苦涩,归于肝经,具有祛风湿、改善关节等功效,常用于治疗关节炎及风湿病等^[10-11]。据 2022 年发布的药食同源最新目录,桑枝被收录于可用于保健食品的物品名单中,表明桑枝可作为保健食品的原料,具有较大的开发及应用前景。此外,桑枝治疗痛风痹证历史悠久,《苍生司命》中已有记载^[12];陈宝刚等^[13]及高忠恩等^[14]在整理及论述总结传统医籍治疗名方时,该功效也被论证。此外,研究表明,桑枝提取物能有效控制黄嘌呤氧化酶(XOD)的活性^[15-16],从而降低 HUA 模型小鼠的血清尿酸水平。近年来中药研究领域,网络药理学被广泛

应用,作为建立在系统生物学理论基础上的一门新技术,网络药理学主要阐述药物相互作用机制,特性主要包括“整体性”与“系统性”,通过从整体角度揭示药物的作用机制,与中药治疗具有一致性^[17],同时中医的整体观念也是如此,两者之间不谋而合^[18]。结合现有研究报道及实验室前期工作基础,可知桑枝具有抗 HUA 作用,但发挥防治作用的药效物质及作用方式缺少整体认识。因此,本实验采取网络药理学这一新技术来探讨桑枝治疗 HUA 的药效组分及作用靶点,以期桑枝后续开发及临床研究给予方向及思路。

1 实验方法

1.1 桑枝组分及靶点建立

以“桑枝”、“Sangzhi”、“mulberry twig”为检索词,于 TCMSP(<http://tcmsp.com/tcmsp.php/>)、Batman-TCM(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>)、PubMed(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)、CNKI(<https://www.cnki.net/>)等数据库平台进行检索,获取桑枝组分群,TCMSP 平台中口服生物利用度(Oral bioavailability)和类药性(Drug-like)及 SwissTargetPrediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据库中的 Pharmacokinetics 和 Druglikeness 等中药体内 ADME 相关指标参考程欢欢等^[19]进行,借助 SwissTargetPrediction 及 PharmMapper(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)在线平台检索组分靶点,去除重复值,建立桑枝组分靶点库。

1.2 HUA 靶点获取

于 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)和 OMIM(<https://omim.org/>)平台,以“Hyperuricemia”、“Gout”等为检索关键词,获取 HUA 靶点;借助 UniProt(<https://www.uniprot.org/>)数据库,设定物种

类型为“Homo sapiens”,得到靶点名称并去重,建立疾病靶点库。

1.3 关键靶点获取

分别将“1.1”和“1.2”项下的靶点输入在线平台(<https://bioinfo.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)制作靶点韦恩图,获取关键靶点。

1.4 蛋白互作网络图(PPI)建立

参照王佰灵等^[20]将“1.3”项下靶点导入到 STRING(<https://string-db.org/>)在线平台分析,并将结果导入到 Cytoscape 3.8.2 平台展开网络拓扑学过程分析,筛选桑枝核心靶点。

1.5 关键靶点富集分析

将关键靶点借助 DAVID(<https://david.abcc.ncifcrf.gov/>)平台进行 GO 功能注释及 KEGG 富集分析($P < 0.01$),限定物种类型为“Homo sapiens”,并将结果可视化。

1.6 “化合物-靶点-通路”网络图建立

利用 Cytoscape 软件平台获取“化合物-靶点-通路”关系网络图,图中节点代表化合物、靶点、通路,边表示彼此之间的交互关系。

1.7 核心靶点晶体结构获取及处理

于 PDB(<https://www1.rcsb.org/>)平台获取核心靶点对应的晶体结构,借助 Discovery Studio 3.5 平台去除受体原配体和水分子、添加氢原子、检测扭转中心和扭转键等,并寻找活性口袋。

1.8 分子对接

采用 AutoDock Vina 1.1.2 软件平台将核心靶点分别与活性组分及对照药(非布司他)进行分子对接验证,对网络分析可靠性加以评价,并将结果可视化。

2 结果与分析

2.1 桑枝组分及靶点

从数据库及文献挖掘共检索到桑枝化合物 156 个,首先依次将 156 个化合物按“1.1”项进行 ADME 筛选,其次采取 SwissTargetPrediction 及 PharmMapper 在线平台对符合 ADME 筛选条件的化合物进行靶点预测,其中 PharmMapper 平台以 Normalized Fit Score ≥ 0.7 为遴选条件,SwissTargetPrediction 平台以 Probability ≥ 0 为遴选条件,然后将每个化合物分别在两个平台中预测所得的靶点进行汇总并去重,得到每个化合物对应的靶点,通过 UniProt 在线平台核对校正。最终共获得符合条件的潜在活性组分 45 个以及汇总去重靶点共 620 个,组分详情见表 1。

2.2 HUA 及共同靶点

以“Hyperuricemia”、“Gout”等为检索关键词,从 Genecards 和 OMIM 在线平台获取疾病作用靶点,共 1277 个。将“2.1”项下的成分靶点与 HUA 相关的 1277 个靶点取交集,获取共同靶点,共 128 个,结果见图 1。

表 1 桑枝潜在活性组分

Table 1 Potential active components of mulberry twig

编号	CAS号	成分	中文名
1	520-18-3	Kaempferol	山奈酚
2	480-16-0	Morin	桑色素
3	548-30-1	Oxysanguinarine	氧化血根碱
4	53846-50-7	8-Prenylnaringenin	8-异戊烯基柚皮素
5	73343-42-7	Albanin A	—
6	73343-43-8	Albanin C	—
7	552-58-9	Eriodictyol	圣草酚
8	—	Euchrenone-a7	—
9	480-19-3	Isorhamnetin	异鼠李素
10	137832-27-0	Kenusanone A	—
11	62949-77-3	Kuwanon A	桑黄酮A
12	67172-84-3	Kuwanon D	桑黄酮D
13	68401-05-8	Kuwanon E	桑黄酮E
14	71344-07-5	Kuwanon F	桑黄酮F
15	56317-21-6	Moracin M	桑辛素M
16	123702-97-6	Moracin O	桑辛素O
17	—	Morusignin L	—
18	62949-93-3	Morusinol	桑根皮醇
19	62393-99-1	Mulberranol	环桑色醇
20	480-41-1	Naringenin	柚皮素
21	29700-22-9	Oxyresveratrol	氧化白藜芦醇
22	99-50-3	Protocatechuic acid	原儿茶酸
23	202526-51-0	Sanggenol F	桑根醇F
24	480-18-2	Taxifolin	花旗松素
25	480-20-6	Aromadendrin	香树素
26	69065-16-3	4'-Prenyloxyresveratrol	4-异戊烯基氧基白藜芦醇
27	73-24-5	Adenine	腺嘌呤
28	2271-08-1	Cularicine	苦来西碱
29	19275-51-5	Cyclomulberrin	环桑素
30	62596-34-3	Cyclomulberochromene	环桑色烯
31	480-20-6	Dihydrokaempferol	香橙素(二氢山奈酚)
32	18422-83-8	Dihydromorin	二氢桑色素
33	5289-74-7	Ecdysterone	蜕皮甾酮
34	491-70-3	Luteolin	木犀草素
35	519-34-6	Maclurin	2,3',4,4',6-五羟基二苯甲酮
36	67259-16-9	Moracin B	桑辛素B
37	62596-29-6	Mulberrochromene	桑辛素
38	68978-04-1	Mulberrofuran A	桑呋喃A
39	552-41-0	Paeonol	丹皮酚
40	109-52-4	Pentanic Acid	戊酸
41	65914-17-2	Piceid	白藜芦醇苷
42	117-39-5	Quercetin	槲皮素
43	92-61-5	Scopoletin	东莨菪内酯
44	535-83-1	Trigonelline	葫芦巴碱
45	93-35-6	Umbelliferone	7-羟基香豆素

2.3 蛋白互作网络(PPI)结果

将 128 个关键靶点导入到 STRING 平台分析并用 Cytoscape 软件平台建立 PPI 图,结果见图 2。节点代表不同靶点,交互作用强弱以节点连线数量表示,节点颜色由外到内变化代表相应的 degree 值由小到大。Degree 值均大于中位数 12 的靶点共有 56 个,其中靶点 STAT3、MAPK8、VEGFA、SRC、

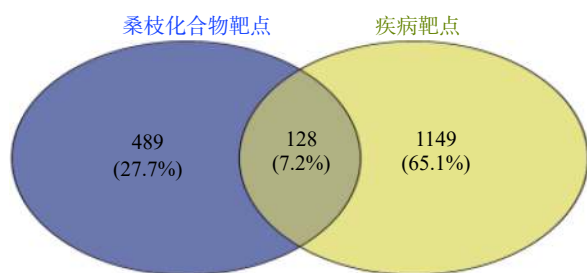


图1 HUA 靶点与活性组分靶点交集韦恩图

Fig.1 Venn diagram of the intersection of HUA target and active component target

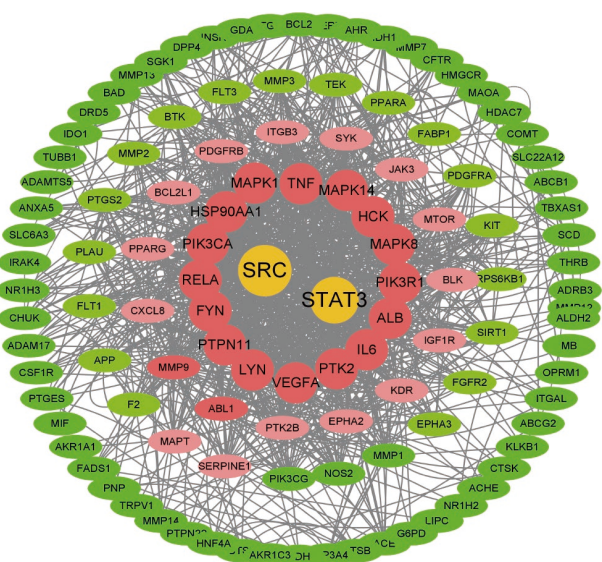


图2 蛋白互作网络图

Fig.2 Protein interaction network diagram

PIK3CA、*MAPK1*、*PIK3R1*、*IL6*、*FYN*、*HSP90AA1*、*TNF*、*ALB*、*XDH* 的 Degree 值大于中位数的 3 倍, 表明以上靶点可能为桑枝治疗 HUA 的核心靶点, 对发挥治疗作用具有重要意义。

2.4 交集靶点富集分析

于 DAVID 平台进行 GO 功能注释及 KEGG 富集分析($P < 0.01$)^[21]。GO 分析共获取 295 个条目, 将前 10 结果可视化, 结果见图 3。生物过程(BP)共 212 个, 主要包括细胞增殖正相调控、凋亡过程负相调控等; 细胞组成(CC)共 31 个, 靶点主要存在于质膜及细胞质等; 分子功能(MF)共 52 个, 主要涉及蛋白质结合、ATP 结合等。

KEGG 富集分析结果表明, 128 个交集靶点总共涉及 78 条通路($P < 0.01$), 信号通路排名前 25 的结果见图 4, 主要包括 PI3K-Akt、TNF、Ras、Rap1、HIF-1、TRP、Cancer、Toll-like receptor 等信号通路。

2.5 “化合物-靶点-通路”网络作用图

将成分、靶点及通路预测结果处理后, 导入到 Cytoscape 平台, 搭建三者之间交互作用图, 结果见图 5。其中, 环桑色烯(Cyclomulberrochromene)、槲皮素(Quercetin)、柚皮素(Naringenin)、异鼠李素(Isorhamnetin)、圣草酚(Eriodictyol)、山奈酚(Kaempferol)、桑色素(Morin)、桑辛素 M(Moracin M)、木犀草素(Luteolin)、桑黄酮 E(Kuwanon E) 等的 degree 值较高(图中蓝色圆点), degree 值分别为 32、28、25、28、23、27、27、27、27、26, 均能与多个靶点相互作用, 推测上述组分可能是桑枝治疗 HUA 的主要活性组分。

2.6 分子对接结果

将“2.3”项下靶点蛋白分别与“2.5”项下活性组分及对照药(非布司他)进行分子对接验证, 结果见图 6。当配体与受体相互作用时, 一般认为结合能小于 -5.0 kcal/mol, 则表明两者结合良好, 并且该值越小代表结合越良好, 相互作用越强^[20]。结果显示,

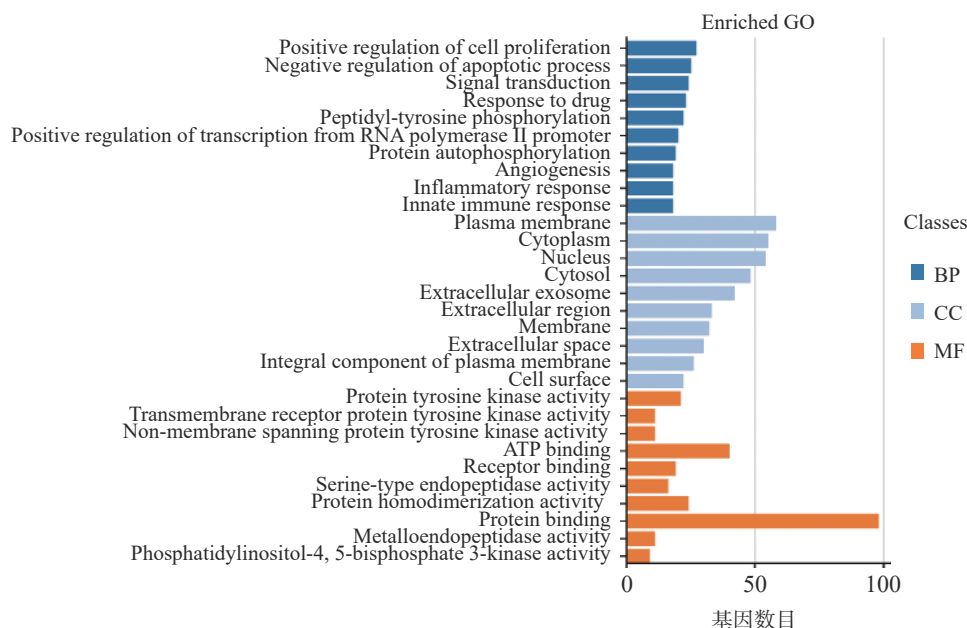


图3 桑枝靶点 GO 功能富集分析

Fig.3 GO function enrichment analysis of the targets of mulberry twig

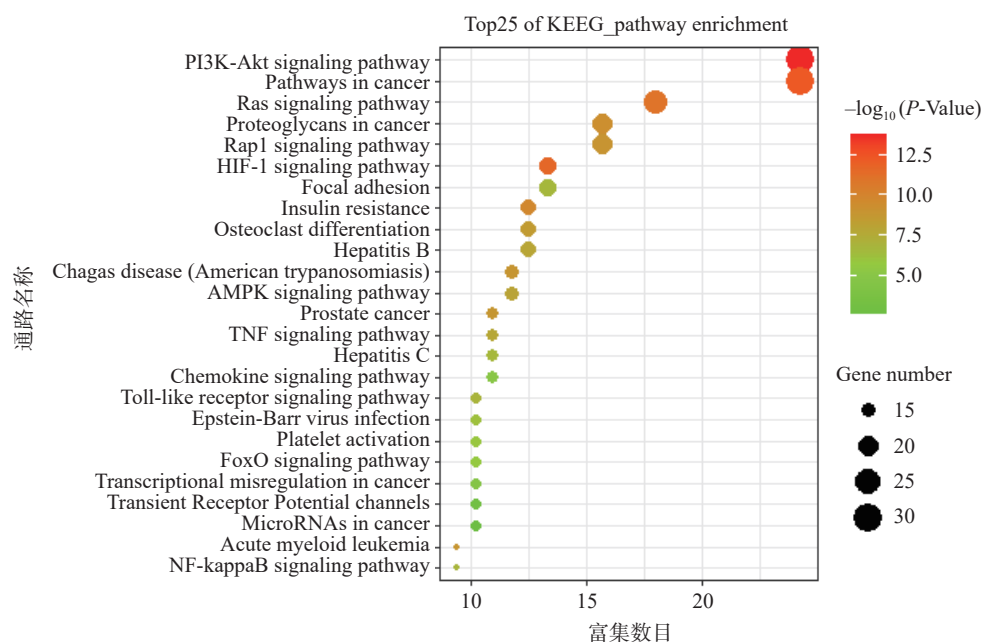


图4 桑枝靶点 KEGG 通路富集分析

Fig.4 KEGG pathway enrichment analysis of the targets of mulberry twig

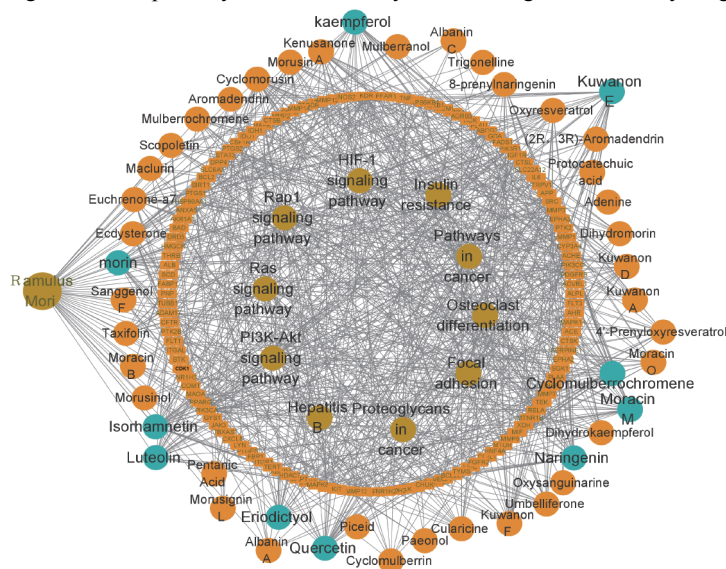


图5 “化合物-靶点-通路”网络图

Fig.5 “Compound-Target-Pathway” network diagram

95% 组分与靶点蛋白之间均具有较好的结合,且部分结合性优于对照药,揭示预测结果较为可靠。

选取结合能较小的结果进行可视化分析,结果见图7。结果表明, Kuwanon E 与 SRC 中的 Pro-249、Tyr-152 形成氢键,与 Phe-153 产生 $\pi-\pi$ 共轭,与 Lys-206、Phe-153 形成疏水作用,使体系能量降低,结构趋于稳定(图7A); Luteolin 分别与 SRC 中的 His-204、Glu-181、Thr-182 形成氢键,与 Lys-206 产生疏水作用,使体系能量降低,形成稳定结构(图7B);与 TNF 中的 Gln-51、Tyr-224、Asp-228 形成氢键,与 Trp-52 产生疏水作用,降低体系能量,形成稳定结构(图7C);与 PI3KCA 中的 Gln-661、Pro-168、Pro-757 残基形成氢键,与 Arg-662 产生疏水作用,形成稳定结构(图7D);结果表明几者之间均结合良好。

3 讨论与结论

“化合物-靶点-通路”网络拓扑分析表明,桑色素、槲皮素、异鼠李素、山奈酚、木犀草素、柚皮素、环桑色烯、桑辛素 M 等为桑枝治疗 HUA 的主要活性组分。研究表明:桑色素是一种具有抑制和促进尿酸排泄双重作用的天然产物黄酮成分^[22];槲皮素可降低 XOD 活性^[23],并减少葡萄糖转运蛋白 9 在肝脏及肠道中的表达量,从而使血清尿酸(UA)表达水平降低^[24];异鼠李素能够抑制 XOD 在肝脏中的活性,从而使 UA 的产生量减少^[25];山奈酚能抑制 XOD 的活性且具有显著性,当底物与 XOD 活性位点中心结合时,其能够占据该位点,从而使尿酸生成量减少^[26];柚皮素能清除 XOD 活性^[27-29];木犀草素能够降低血清 IL-1 β 和 TNF- α 表达水平,还能通过降低肾脏

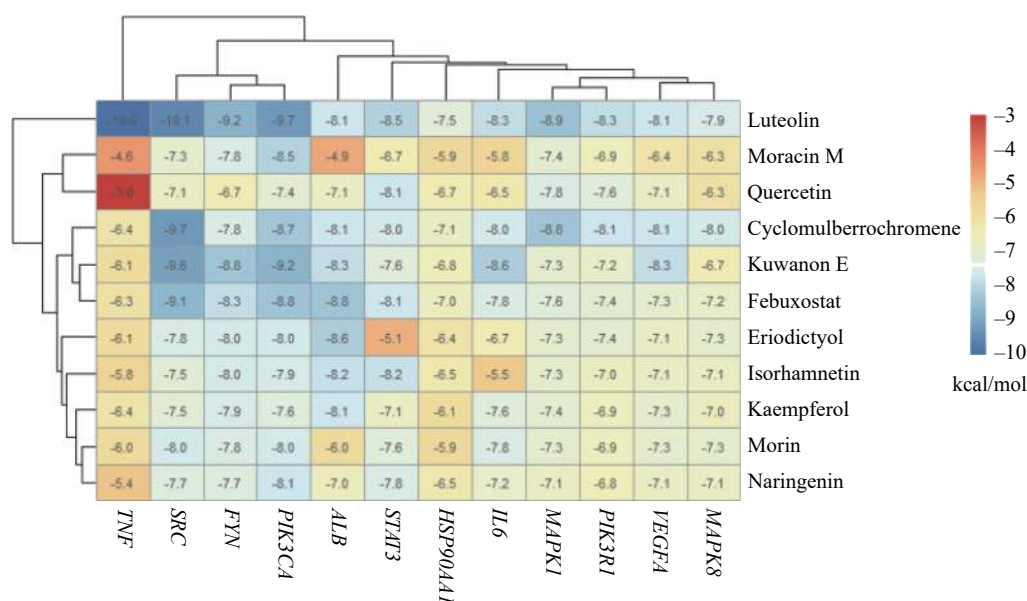


图 6 分子对接能量热图

Fig.6 Molecular docking heat-map

mURAT1,并在一定程度上抑制 XO 活性,对高尿酸血症小鼠具有有效的尿酸排泄作用^[30]。上述结果表明本研究筛选具有一定的理论依据,可为桑枝治疗 HUA 的药效成分研究提供方向,综上初步推测加强尿酸排泄、抑制尿酸生成以及改善炎症 3 个方面可能是桑枝中主要活性组分发挥治疗 HUA 的作用方式。分子对接结果表明,桑枝活性组分与核心靶点结合良好(结合能小于-5.0 kcal/mol),其中对接结合能最好的活性化合物 Luteolin 与关键的 *TNF*、*SRC* 核心靶点蛋白,研究证明 Luteolin 可以浓度依赖性地抑制 *TNF* 靶点蛋白的表达量^[31]; Luteolin 可作为 *SRC* 靶点蛋白的直接抑制剂,从而在 NF- κ B 的激活中起核心作用,证实了 Luteolin 具有较强的抗炎活性,其能够直接阻断 *SRC* 激酶活性^[32]。综上可知活性组分可对关键核心靶点加以调控从而发挥治疗 HUA 作用,另一方面也对网络药理学分析预测结果的可靠性进行了验证。高尿酸血症(HUA)是一种代谢性疾病,与氧化应激和炎症反应密切相关。在桑枝治疗 HUA 的分子机制中,GO 功能注释及 KEGG 通路分析结果表明,128 个核心靶点在功能注释方面,主要参与细胞增殖的正调控、凋亡过程的负调控、信号转导、蛋白质自磷酸化、血管生成、炎症反应、先天免疫反应等发挥关键治疗作用的生物过程;在分子功能方面,发挥蛋白酪氨酸激酶活性、ATP 结合、受体结合、丝氨酸型内肽酶活性、蛋白质结合、磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶活性等关键功能作用,提示桑枝可能通过体内的多种生物学过程发挥治疗 HUA 的作用。KEGG 通路富集分析方面,桑枝活性主要涉及调控 *TNF*、*HIF-1*、*Cancer*、*PI3K-Akt*、*Ras*、*Rap1*、*TRP*、*Toll-like receptor* 等信号通路,结合 PPI 拓扑分析筛选桑枝防治 HUA 的核心靶点,推测桑枝可能通过调控如 *IL-6*、*VEGFA*、*TNF*、*MAPK1*、

STAT3 等靶点,参与细胞增殖、细胞凋亡、炎症反应、免疫反应、蛋白质 ATP 结合的过程,从而抑制炎症反应、改善免疫功能及调节尿酸代谢转运来发挥治疗 HUA 作用。大量研究证明,*TNF* 信号通路在痛风性关节炎的发病机制中意义重大,其机制包括诱导 *IL-1* 活化、增强 *IL-6* 介导的炎症反应、激活 NF- κ B 炎症信号通路,该过程与慢性痛风性关节炎密切相关;并且 *TNF- α* 水平在痛风患者血清中表达会升高,当 NF- κ B 的表达被 *TNF- α* 上调后会引发一系列效应,从而使机体炎症反应程度受到影响,与 HUA 的发生密切相关^[33-36]。*TRP* 通路属离子通道类,与炎症和疼痛发生息息相关,研究揭示,类风湿性关节炎、痛风、骨关节炎等病症和该通路密切相关^[37-38]。*Toll-like receptor* 通路炎症性疾病关系紧密,其能够识别内源性的尿酸盐结晶信号分子,从而激活 NF- κ B,进而诱导 *IL-1*、*IL-6*、*IFN- α* 、*TNF- α* 、*IFN- β* 等炎症因子释放表达,促进痛风性炎症发作^[20,39-40]。*PI3K-Akt* 信号通路和细胞凋亡及细胞增殖两方面紧密相关,调控该信号通路,可以使造血和血小板生成率增加,发挥补血活血的作用,从而促进血管新生,加快生物过程转化^[41-42],推测调控该通路可以促进代谢转运,从而加快尿酸排泄。综上,本研究采取网络药理学对桑枝治疗 HUA 的活性组分、核心靶点及信号通路作了初步探索,并借助分子对接将活性组分及核心靶点加以进一步验证,从系统层面阐释了桑枝治疗 HUA 中多组分、多通路、多靶点的作用特点。但由于中药成分具有复杂性,基于网络药理学对桑枝的初步探索仍具有不足,针对预测结果中桑枝治疗 HUA 的作用靶点及通路,后期将进一步予以实验验证,以期为桑枝治疗 HUA 的药效组分研究提供理论依据及参考,也为后期加强实验设计优化及进一步探讨提供依据。

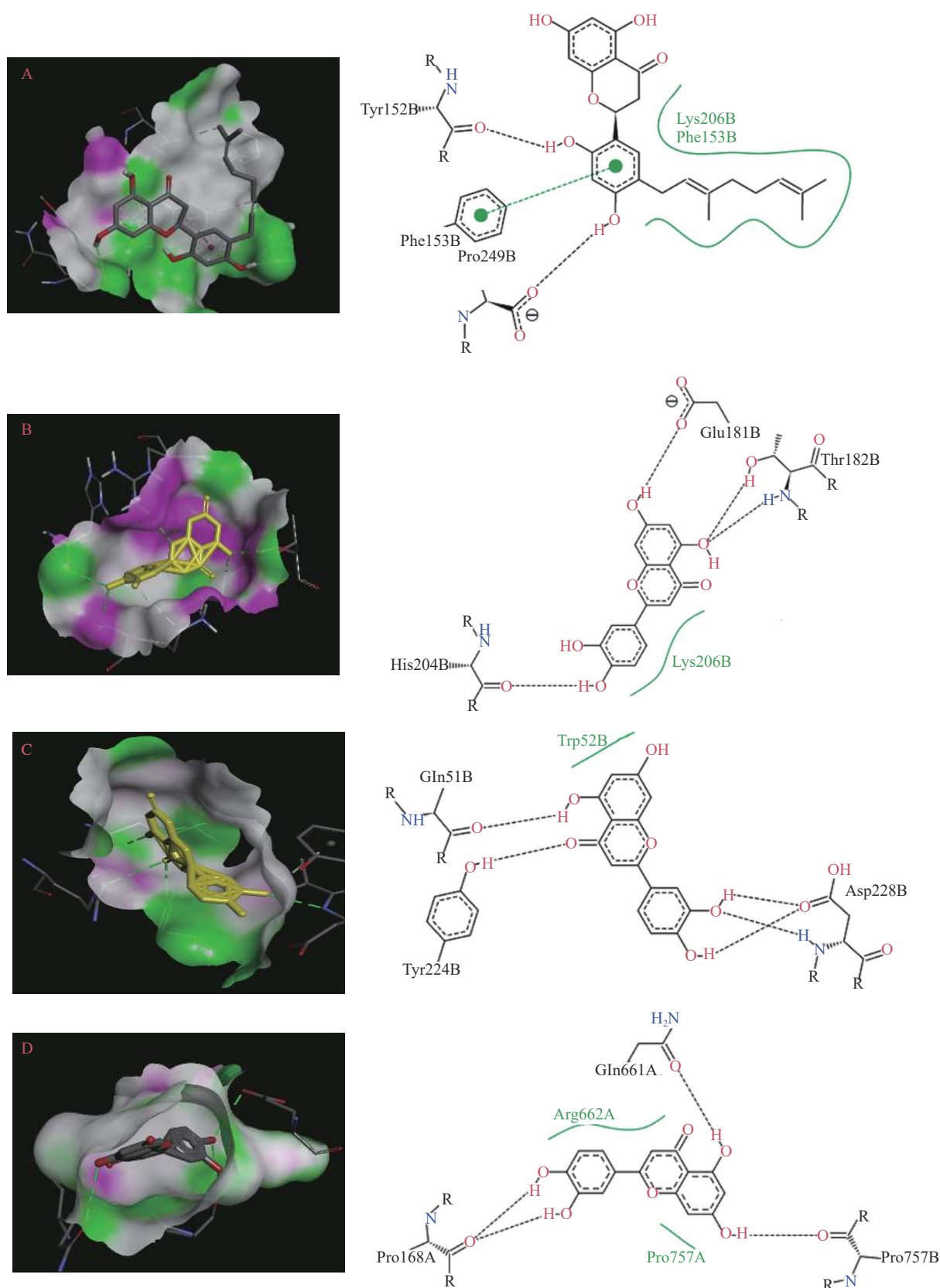


图 7 桑枝分子对接模式图

Fig.7 Molecular docking pattern diagram of mulberry twig

参考文献

[1] 曾丽莹, 邓伊健, 陈洁瑜, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨四妙丸治疗高尿酸血症的作用机制[J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(4): 579-587. [ZENG L Y, DENG Y J, CHEN J Y, et al. Exploring the therapeutic mechanism of Simiao Pills for hyper-

uricemia based on network pharmacology and molecular docking [J]. Journal of Southern Medical University, 2021, 41(4): 579-587.]

[2] 高忠林, 权浩浩, 张晓凤, 等. 基于网络药理学研究青风藤治疗高尿酸血症作用机制[J]. 河北中医, 2021, 43(4): 674-679.

- [GAO Z L, QUAN H H, ZHANG X F, et al. Study on mechanism of Qingfengting for hyperuricemia based on network pharmacology[J]. *Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 43(4): 674–679.]
- [3] KAWAMURA Y, NAKAOKA H, NAKAYAMA A, et al. Genome-wide association study revealed novel loci which aggravate asymptomatic hyperuricemia into gout[J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(10): 1430–1437.
- [4] ZONG J, SUN Y, ZHANG Y, et al. Correlation between serum uric acid level and central body fat distribution in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes: Targets Ther*, 2020, 13: 2521–2531.
- [5] GUPTA M K, SINGH J A. Cardiovascular disease in gout and the protective effect of treatments including urate-lowering therapy[J]. *Drugs*, 2019, 79(5): 531–541.
- [6] WANG Y, ZHANG X Y, GAO W H, et al. Association of uric acid in serum and urine with arterial stiffness: Hanzhong adolescent hypertension study[J]. *Dis Markers*, 2020, 2020: 1638515.
- [7] SINGH J A, CLEVELAND J D. Gout is associated with a higher risk of chronic renal disease in older adults: A retrospective cohort study of US medicare population[J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20(1): 93.
- [8] 刘莉娟, 林梅. 尿酸盐晶体和尿酸与痛风性肾病关系研究进展[J]. *微循环学杂志*, 2020, 30(1): 78–81. [LIU L J, LIN M. Research progress on the relationship between urate crystals and uric acid and gouty nephropathy[J]. *Chinese Journal of Microcirculation*, 2020, 30(1): 78–81.]
- [9] HOSHIDE S, KABUTOYA T, UENO H, et al. Class effect of xanthine oxidase inhibitors on flow-mediated dilatation in hypertensive patients: A randomized controlled trial[J]. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 2020, 22(3): 451–456.
- [10] ZHANG H J, HU Y J, XU P, et al. Screening of potential xanthine oxidase inhibitors in *Gnaphalium hypoleucum* DC. by immobilized metal affinity chromatography and ultrafiltration-ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Molecules*, 2016, 21(9): 1242.
- [11] 江大海, 刘妍如, 唐志书, 等. 桑枝中桑皮苷 A 的提取工艺优化及其含量测定[J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(11): 126–132. [JIANG D H, LIU Y R, TANG Z S, et al. Optimization on extraction technology and determination of mulberroside A in *Morus alba* (L.) by UPLC[J]. *Natural Product Research and Development*, 2018, 30(11): 126–132.]
- [12] 曹晔文, 肖瑶, 许涛, 等. 基于网络药理学的“桑枝-桂枝”药对治疗类风湿关节炎的作用机制研究[J]. *海南医学院学报*, 2021, 27(8): 592–602. [CAO Y W, XIAO Y, XU T, et al. Study on the mechanism of "mulberry twig-cassia twig" in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology[J]. *Journal of Hainan Medical University*, 2021, 27(8): 592–602.]
- [13] 陈宝刚, 孔晓红. 自拟宣痹通络汤治疗痛风 50 例疗效观察[J]. *实用中医内科杂志*, 2008(4): 46–47. [CHEN B G, KONG X H. Observation on the curative effect of self-made xuanbitongluo decoction in the treatment of 50 cases of gout[J]. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal*, 2008(4): 46–47.]
- [14] 高忠恩, 岑文娟, 刘秋红, 等. 芪龙风湿丸治疗痛风性关节炎 30 例临床研究[J]. *蛇志*, 2006(4): 275–276. [GAO Z E, CEN W J, LIU Q H, et al. Clinical study on Qilongfengshiwan in treatment of 30 cases of gout arthritis patients[J]. *Journal of Snake*, 2006(4): 275–276.]
- [15] 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, 2010. [WANG C P. Study on the major components of *Ramulus mori* extract and the regulation mechanisms of organic ion transporters on hyperuricemia improvement[D]. Nanjing: Nanjing University, 2010.]
- [16] SHI Y W, WANG C P, WANG X, et al. Uricosuric and nephroprotective properties of *Ramulus mori* ethanol extract in hyperuricemic mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(3): 896–904.
- [17] 夏雨, 柳婷, 龚芬芳, 等. 基于网络药理学探讨桑枝降压的作用机制[J]. *江西中医药大学学报*, 2021, 33(3): 77–84. [XIA Y, LIU T, GONG F F, et al. Mechanism of mulberry twig for treatment of hypertension based on network pharmacology[J]. *Journal of Jiangxi University of Chinese Medicine*, 2021, 33(3): 77–84.]
- [18] 汪选斌, 陆金健. 中药药理规范研究的思考[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(9): 1846–1854. [WANG X B, LU J J. Reflections on the research on pharmacological norms of traditional chinese medicine[J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2019, 21(9): 1846–1854.]
- [19] 程欢欢, 宋辉, 刘博男, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨桦褐孔菌三萜类成分抗胃癌作用机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(8): 1391–1400. [CHENG H H, SONG H, LIU B N, et al. Study on the mechanism of triterpenoids from *Inonotus obliquus* against gastric cancer based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Natural Product Research and Development*, 2021, 33(8): 1391–1400.]
- [20] 王佰灵, 罗伦, 戈振凯, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨金钱草治疗痛风的作用机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(5): 859–867. [WANG B L, LUO L, GE Z K, et al. Action mechanism of *Lysimachiae herba* in the treatment of gout based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Natural Product Research and Development*, 2021, 33(5): 859–867.]
- [21] 苏瑶, 王兰, 常相娜, 等. 基于网络药理学及分子对接技术探讨绞股蓝防治肥胖的作用机制[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(4): 12–23. [SU Y, WANG L, CHANG X N, et al. Mechanism of *Gynostemma pentaphyllum* on prevention and treatment of obesity based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(4): 12–23.]
- [22] YU Z, FONG W P, CHENG C H. The dual actions of morin (3, 5, 7, 2', 4-pentahydroxyflavone) as a hypouricemic agent: Uricosuric effect and xanthine oxidase inhibitory activity[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(1): 169–175.
- [23] ZHANG C, WANG R, ZHANG G, et al. Mechanistic insights into the inhibition of quercetin on xanthine oxidase[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 112: 405–412.
- [24] 陈海青, 周璇, 王秀秀. 槲皮素治疗高尿酸血症的机制研究[J]. *光明中医*, 2019, 34(9): 1340–1344. [CHEN H Q, ZHOU X,

- WANG X X. Study on the mechanism of quercetin in the treatment of hyperuricemia[J]. *Guangming Journal of Chinese Medicine*, 2019, 34(9): 1340–1344.]
- [25] ADACHI S, KONDO S, SATO Y, et al. Anti-hyperuricemic effect of isorhamnetin in cultured hepatocytes and model mice: Structure-activity relationships of methylquercetins as inhibitors of uric acid production[J]. *Cytotechnology*, 2019, 71(1): 181–192.
- [26] WANG Y, ZHANG G, PAN J, et al. Novel insights into the inhibitory mechanism of kaempferol on xanthine oxidase[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(2): 526–534.
- [27] 王丹, 彭莉, 周燕红. 柚皮素抗肿瘤作用的研究进展[J]. *中草药*, 2021, 52(10): 3151–3156. [WANG D, PENG L, ZHOU Y H. Research progress on anti-tumor effect of naringenin[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(10): 3151–3156.]
- [28] YAHFOUFIN, ALSADI N, JAMB M, et al. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols[J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1618.
- [29] ZOBEIRI M, BELWAL T, PARVIZI F, et al. Naringenin and its nano-formulations for fatty liver: Cellular modes of action and clinical perspective[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2018, 19(3): 196–205.
- [30] SHEN R M, LI G Q, ZHONG L B. Anti-inflammatory effect of luteolin in acute gouty arthritis model rats[J]. *Journal of Hainan Medical University*, 2019, 25: 1300–1303.
- [31] HUANG R, DONG R, WANG N, et al. Exploring the anti-glioma mechanisms of luteolin based on network pharmacology and experimental verification[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 7765658.
- [32] LEE J O, JEONG D, KIM M Y, et al. ATP-binding pocket-targeted suppression of src and syk by luteolin contributes to its anti-inflammatory action[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 967053.
- [33] 胡子毅, 张平, 李人亮, 等. 基于网络药理学探讨消痛汤治疗痛风的作用机制[J]. *亚太传统医药*, 2021, 17(6): 110–116. [HU Z Y, ZHANG P, LI R L, et al. Study on the mechanism of Xiaotong Decoction in the treatment of gout based on network pharmacology [J]. *Asia-Pacific Traditional Medicine*, 2021, 17(6): 110–116.]
- [34] HAO G, DUAN W, SUN J, et al. Effects of Febuxostat on serum cytokines IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, TNF- α and COX-2[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 812–816.
- [35] YUAN X, LI N, ZHANG M, et al. Taxifolin attenuates IMQ-induced murine psoriasis-like dermatitis by regulating T helper cell responses via Notch1 and JAK2/STAT3 signal pathways[J]. *Bio-med Pharmacother*, 2020, 123: 109747.
- [36] PISANI L P, ESTADELL D, RIBEIRO D A. The role of toll like receptors (TLRs) in oral carcinogenesis[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(10): 5389–5394.
- [37] 史旭芹. 基于多组学的当归补血汤补血功效物质基础及作用机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2020. [SHI X Q. Study on blood enrichment bio-active components and mechanism of Danggui-buxue Decoction based on multi-omics[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2020.]
- [38] GALINDO T, REYNA J, WEYER A. Evidence for transient receptor potential (TRP) channel contribution to arthritis pain and pathogenesis[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2018, 11(4): 105.
- [39] 杨欣, 李亚辉, 李来来, 等. 广金钱草挥发油基于 TRP 通道的抗炎作用研究[J]. *中草药*, 2019, 50(1): 134–141. [YANG X, LI Y H, LI L L, et al. Anti-inflammatory effects of volatile oils of *Desmodium styracifolium* via regulation of TRP channels[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(1): 134–141.]
- [40] YAO M A, JIANG Z, JIN Y, et al. Gene ontology analysis of the TNF signaling pathway in early orthodontic tooth movement of rats with periodontitis[J]. *J Prev Treat Stom Dis*, 2019, 27(11): 695–702.
- [41] LAWLOR M A, ALESSI D R. PKB/Akt: A key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses?[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(16): 2903–2910.
- [42] CAI R, TANG G, ZHANG Q, et al. A novel lnc-RNA, named lnc-ORA, is identified by RNA-Seq analysis, and its knock-down inhibits adipogenesis by regulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Cells*, 2019, 8(5): 477.