

## 蒙药小秦艽花的抗炎作用机制研究

孙国园<sup>1,2</sup>,朱小玲<sup>1,2</sup>,贾鑫<sup>2,3</sup>,李斌鑫<sup>2,3</sup>,董玉<sup>4</sup>

(1. 内蒙古自治区国际蒙医医院 药学部,内蒙古 呼和浩特 010065;2. 内蒙古自治区蒙药药效物质与质量控制工程技术研究中心;3. 内蒙古医科大学附属医院 药剂部;4. 内蒙古医科大学 药学院)

**摘要:**目的:采用网络药理学研究小秦艽花抗炎作用的潜在作用机制。方法:通过文献检索,并结合 Swiss Target Prediction 等数据库筛选小秦艽花中的化学成分及其作用靶点。通过 TTD 等数据库筛选炎症相关靶点,使用 Cytoscape 3.7.2 软件构建“活性成分-靶点”网络和蛋白质相互作用网络,采用 DAVID 数据库对靶点进行 GO 分析及 KEGG 通路分析。结果:筛选出小秦艽花活性成分 23 个,预测出 27 个作用靶点。网络分析结果表明,小秦艽花主要涉及 PTGS2(前列腺素内过氧化物合酶 2)等关键蛋白以及 response to oxidative stress(氧化应激反应)等生物过程,通过调节 TNF- $\alpha$  signaling pathway(肿瘤坏死因子 $\alpha$ 信号通路)等通路来发挥抗炎作用。结论:小秦艽花的抗炎作用体现了其多成分、多靶点、多通路的作用特点,为深入阐释小秦艽花抗炎作用机制提供科学依据。

**关键词:**小秦艽花;网络药理学;抗炎作用;蒙药

中图分类号:R29

文献标识码:A

文章编号:1673-9388(2021)04-0262-06

DOI: 10.19891/j.issn1673-9388.(2021)04-0262-06

## STUDY ON THE ANTI-INFLAMMATORY MECHANISM FROM MONGPLIAN MEDICINE FLOWERS OF GENTIANADAHURICA

SUN Guo-yuan, ZHU Xiao-ling, JIA Xin, et al.

(Department of Pharmacy, Inner Mongolia International Mongolian Hospital, Hohhot 010065 China)

**Abstract: Objective:** This study aims at the potential mechanism of flowers of Gentianadahurica on anti-inflammatory through network pharmacology. **Methods:** Through literature research, combined with Swiss Target Prediction and other databases, the active compounds of flowers of Gentianadahurica were and their potential targets are filtered. Through TTD other databases, the Inflammation-related targets are screened out. The active ingredient-target network and PPI protein interaction network were established using Cytoscape 3.7.2 software. GO analysis and KEGG pathway analysis of targets were performed using DAVID database. **Results:** 23 active components of flowers of Gentianadahurica were screened out, and 27 targets were predicted. The results of network analysis indicate that flowers of Gentianadahurica is mainly involved in key proteins such as PTGS2 and biological processes such as response to oxidative stress, and exerts anti-inflammatory effects by regulating TNF- $\alpha$  signaling pathway and other pathways. **Conclusion:** The anti-inflammatory effect of flowers of Gentianada-

收稿日期: 2021-02-04; 修回日期: 2021-04-08

基金项目: 内蒙古自治区科学技术厅 2020 年内蒙古自治区科技成果转化项目(2020); 内蒙古自治区党委组织部 2012 年内蒙古自治区草原英才创新团队项目(2012-2021)

作者简介: 孙国园(1986-), 男, 蒙古族, 内蒙古自治区国际蒙医医院药学部主管药师。

通讯作者: 董玉, 教授, 博士研究生导师, E-mail: dongyu010@126.com, 内蒙古医科大学药学院, 010059

hurica. embodies multi-component, multi-target, and multi-pathway features, which provides a scientific basis for the in-depth interpretation of the mechanism of the anti-inflammatory effect of flowers of *Gentianadahurica*.

**Key words:** flowers of *Gentianadahurica*; network pharmacology; anti-inflammatory effect; mongolian medicine

小秦艽花为龙胆科(Gentianaceae)龙胆属 *Gentiana* (Tourn.) L. 小秦艽 *Gentianadahurica* Fisch. 的干燥花,广泛分布于东北三省、内蒙古、河北、甘肃、陕西、青海、新疆等地,多生长于路旁、水沟边、向阳山坡等地<sup>[1]</sup>。小秦艽花收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》(蒙药分册),蒙药名为呼和-朱力根-其木格,为蒙医临床常用药,具有清热、解毒、止咳、祛痰的功效,用于肺热咳嗽、咽喉热、咽喉肿痛,毒热,瘟热等症<sup>[2]</sup>。目前,已从小秦艽花中分离鉴定出三萜类成分、环烯醚萜类、黄酮类和酚酸类等成分<sup>[3]</sup>。相关研究结果显示,小秦艽花具有抗炎镇痛作用<sup>[4]</sup>。本文通过查阅文献、使用化学成分数据库筛选出小秦艽花中具有药理活性且含量较多的化学

成分,主要有环烯醚萜类如龙胆苦苷、獐牙菜苷、獐牙菜苦苷等,黄酮类成分如异荛草苷、异牡荆苷、木犀草素等。本研究采用网络药理学方法,通过对小秦艽花多成分、多靶点与多通路的作用特点进行分析,研究小秦艽花抗炎作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 应用的软件及数据库(见表1)

### 1.2 方法

**1.2.1 化学成分收集及其靶点的预测** 通过查阅文献搜集小秦艽花的化学成分<sup>[5-8]</sup>,将所筛选的化学成分通过 Swiss Target Prediction,以 Probability $\geq$

表1 实验中用到的数据库  
Tab.1 Databases used in the experiment

名称	网址	用途
Swiss Target Prediction 数据库	<a href="http://www.SwissTargetprediction.ch/">http://www.SwissTargetprediction.ch/</a>	预测化合物作用靶点
TTD 数据库	<a href="https://db.idrblab.org/ttd/">https://db.idrblab.org/ttd/</a>	预测疾病靶点
Drugbank 数据库	<a href="https://www.drugbank.ca/">https://www.drugbank.ca/</a>	预测疾病靶点
DisGeNET 数据库	<a href="http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home">http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home</a>	预测疾病靶点
STRING 数据库	<a href="https://string-db.org/">https://string-db.org/</a>	蛋白质相互作用关系
DAVID	<a href="https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp">https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp</a>	通路富集分析

0.6为条件预测其作用靶点,整合、去重复项后得到化学成分的作用靶点。

**1.2.2 疾病靶点的获取** 通过 TTD、Drugbank、DisGeNET 数据库筛选出炎症反应(inflammation)的作用靶点。

**1.2.3 化学成分与疾病共同靶点的获取** 在 Venny2.1 在线作图工具平台上分别录入所选化学成分和炎症反应作用靶点,绘制韦恩图,交集部分为小秦艽花抗炎作用靶点。

**1.2.4 网络模型的构建及分析** 将化学成分对应靶点和“1.2.3”所获取的抗炎作用靶点分别导入 Cytoscape3.7.2 软件,构建“活性成分-靶点”相互作用网络,使用 Network Analyzer 对小秦艽花中的主要活性成分进行分析。

**1.2.5 蛋白相互作用(PPI)网络构建及分析** 在 STRING 数据库中录入“1.2.3”项下获取小秦艽花活

性成分与炎症反应共同靶点,设置蛋白种类为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值为 0.4,获取蛋白相互作用信息,将其导入 Cytoscape3.7.2 软件,绘制网络图,筛选核心靶点。

**1.2.6 通路富集分析** 将所得到的潜在靶点导入 DAVID 数据库,进行(GO)分类富集分析和 KEGG 通路富集分析,应用 GraphPad Prism 8.0 绘制柱状图和通路图,分析炎症反应的生物过程和信号通路。

## 2 结果

### 2.1 小秦艽花中的活性成分(见表2)

### 2.2 潜在靶点预测

使用 Venny2.1 在线作图工具平台,分别录入 712 个化学成分靶点和 487 个疾病靶点,绘制韦恩

表2 活性成分名称  
Tab.2 Active ingredient name

编号	化合物	化合物中文名
QJH-1	(4R,4aS)-4- vinyl -4,4a,5,6 -tetrahydro-3H-pyrano[3,4- c]pyran-1-one	(4R,4aS)-4-乙 烯基-4,4a,5,6-四氢-3H-吡喃酮 [3,4- c]吡喃-1-酮
QJH-2	1-hydroxy-3,7,8-trimethoxyketone	1-羟基-3,7,8-三甲氧基酮
QJH-3	alpha-amyryn	α-香树脂醇
QJH-4	beta-Amyryn	β-香树脂醇
QJH-5	Benzamide	苯甲酰胺
QJH-6	Roburic acid	栲瘿酸
QJH-7	Gentiopicroside	龙胆苦苷
QJH-8	Rutin	芦丁
QJH-9	loganic acid	落干酸(马钱苷酸)
QJH-10	gallic acid	没食子酸
QJH-11	vitexin	牡荆黄素
QJH-12	luteolin	木犀草素
QJH-13	Luteolin-7-o-β - d-glucopyranoside	木犀草素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷
QJH-14	Apigenin	芹菜素
QJH-15	Apigenin-7-o-β-d-glucopyranoside	芹菜素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷
QJH-16	gentianidine	秦艽碱乙素
QJH-17	Kaempferol	山柰酚
QJH-18	isoorientin	异荭草苷
QJH-19	isoorientin-4 '- o-glucoside	异荭草苷-4' -O-葡萄糖苷
QJH-20	isovitexin	异牡荆素
QJH-21	Naringenin	柚皮素
QJH-22	saponarin	皂草黄苷
QJH-23	sweroside	獐牙菜苷
QJH-24	swertiamarine	獐牙菜苦苷

注:QJH:秦艽花 Note: QJH:qinjiaohua

图,两者取交集后得到共同靶点 115 个(见图 1)。

### 2.3 活性成分-靶点网络构建

活性成分-靶点网络网络总共包括 50 个节点和

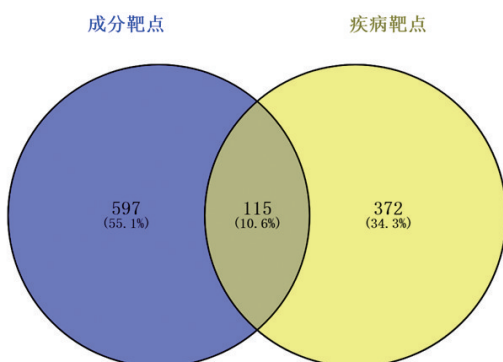
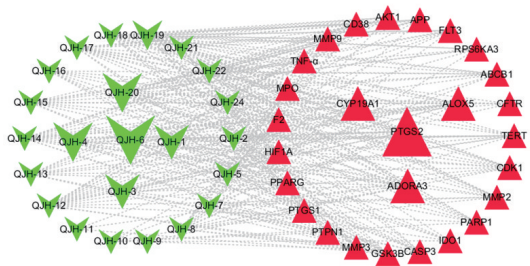


图1 小秦艽花有效成分抗炎作用靶点韦恩图  
Fig. 1 Venn diagram of active anti-inflammatory targets from flowers of Gentiana dahurica

260 条边(见图 2)。图中,度值较大的成分分别是三萜类化合物 Roburic acid (QJH-6, 栲瘿酸)、alpha-amyryn (QJH-3, α-香树脂醇)、beta-Amyryn (QJH-4, β-香树脂醇), 黄酮类化合物 (4R,4aS)-4- vinyl -4,4a,5,6-tetrahydro-3H-pyrano[3,4- c]pyran-1-one (QJH-1, (4R,4aS)-4-乙 烯基-4,4a,5,6-四氢-3H-吡喃酮 [3,4- c]吡喃-1-酮) 和 isovitexin (QJH-20, 异牡荆素), 进一步验证三萜类化合物和黄酮类化合物具有抗炎作用。度值较大的靶点是 PTGS2 (前列腺素内过氧化物合酶 2)、CYP19A1 (细胞色素 P450 系亚型 19A1)、ADORA3 (腺苷 A3 受体)、AL-OX5 [花生四烯酸 5-脂氧合酶 (5-LOX)] 等。这些节点可能是小秦艽花发挥药效的物质基础。

### 2.4 PPI 网络构建

构建 PPI 网络总共包括 12 个节点和 56 条边, 其中, 靶点 AKT1 (丝氨酸/苏氨酸激酶 1)、TNF-α (肿瘤



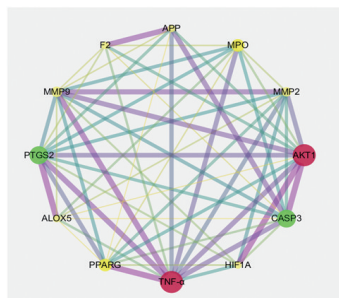
绿色箭头表示活性成分;红色三角形表示靶点;边表示活性成分与靶点之间的相互作用关系  
图2 小秦艽花活性成分-靶点网络

Fig.2 Active ingredients-target network from flowers of Gentianadahurica

坏死因子 $\alpha$ )、PTGS2(前列腺素内过氧化物合酶2)的度值较大,这三个靶点在此网络中发挥了关键作用,成为连通网络中其他节点的桥梁(见图3)。

### 2.5 基因功能与通路分析

使用 DAVID 数据库对活性成分对应靶点进行 GO 和 KEGG 分析,设定阈值  $P < 0.05$ ,照  $P$  值由小到大(-LgP 由大到小)进行排序,生物过程和通路



圆形表示蛋白,红色圆形度值 $\geq 23$ ,绿色圆形 $19 \leq$ 度值 $\leq 23$ ,黄色圆形 $9 \leq$ 度值 $\leq 14$ ,线代表靶点之间的相互作用,线越粗表示关联度越大

图3 蛋白-蛋白相互作用网络  
Fig. 3 Protein-protein interaction network

大于10个条目的选取前10个条目,用 GraphPad Prism 8.0 绘图(见图4~7)。

BP 富集分析过程中,靶点主要涉及 positive regulation of protein phosphorylation(蛋白质磷酸化的正调控)和 response to oxidative stress(氧化应激反应)等生物过程(见图4)。在细胞组分中,靶点主要涉及 extracellular space(细胞外间隙)、nuclear envelope lumen(核膜腔)、membrane raft(膜筏)等(见图5)。在分子功能中,靶点与 enzyme binding(酶结合)、identical protein binding(同一蛋白结合)相关性较大(见图6)。通过 KEGG 通路富集筛选得知,靶点涉及较多的通路有 Pathways in cancer(癌症信号通路),此通路与7个基因(AKT1, CASP3, HIF1A,

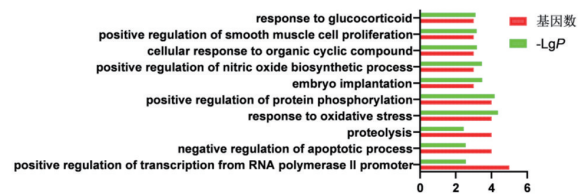


图4 小秦艽花抗炎作用的BP富集分析  
Fig. 4 BP analysis of anti-inflammatory effect from flowers of Gentianadahurica

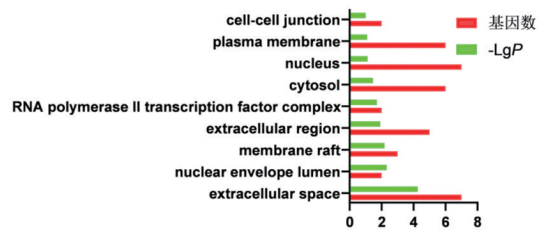


图5 小秦艽花抗炎作用的CC富集分析  
Fig. 5 CC analysis of anti-inflammatory effect from flowers of Gentianadahurica

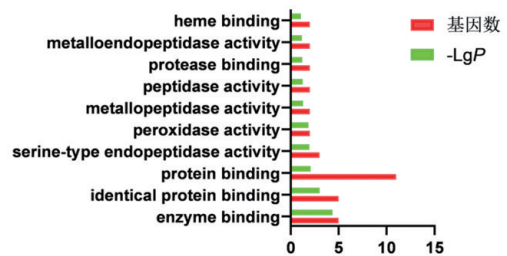


图6 小秦艽花抗炎作用的MF富集分析  
Fig. 6 MF analysis of anti-inflammatory effect from flowers of Gentianadahurica

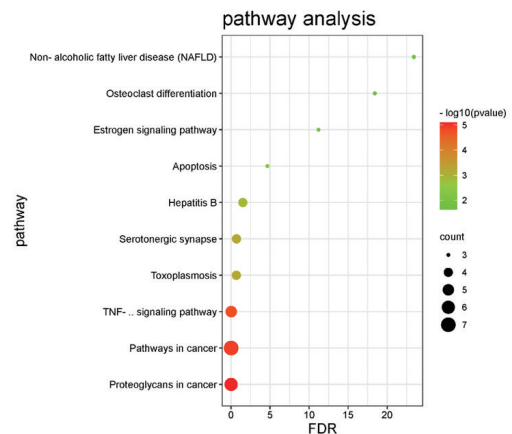


图7 小秦艽花抗炎作用的KEGG通路分析图  
Fig. 7 KEGG pathway analysis of anti-inflammatory effect of Gentiana macrophylla

PTGS2, MMP9, PPARG, MMP2)相关联;TNF- $\alpha$  signaling pathway(肿瘤坏死因子 $\alpha$ 信号通路),与5个基因(AKT1, CASP3, TNF, PTGS2, MMP9)相关联;Proteoglycans in cancer(癌症中的蛋白多糖通路),与6

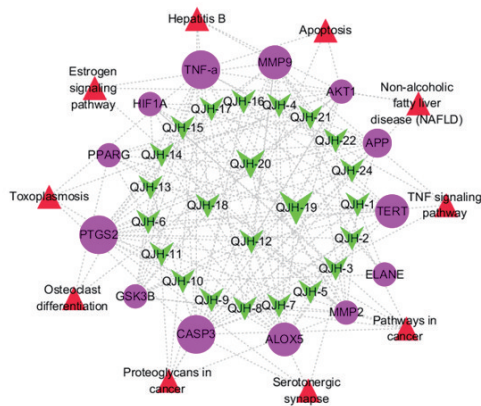
个基因(AKT1, CASP3, TNF, HIF1A, MMP9, MMP2)相关联(见图7)。

### 2.6 小秦艽花抗炎作用的活性成分-靶点-通路网络模型

将筛选出的小秦艽花抗炎作用靶点、有效成分及富集到的通路,输入 Cytoscape 3.7.2 软件,构建“活性成分-靶点-通路”网络模型,它由 46 个节点和 146 条边构成(见图 8)。PTGS2(前列腺素内过氧化物合酶 2)、TNF-α(肿瘤坏死因子α)、MMP9(基质金属蛋白酶 9)、CASP3(半胱天冬氨酸蛋白酶-3)靶点的度值较大,可能是抗炎作用的核心靶点。小秦艽花中的重要活性成分有 QJH-12(木犀草素)、QJH-18(异荭草苷)、QJH-19(异荭草苷-4'-O-葡萄糖苷)、QJH-20(异牡荆素)等,通过不同的代谢通路作用于多个核心靶点上,说明小秦艽花是通过多条通路、多个靶点共同发挥抗炎作用。

### 3 讨论

小秦艽花虽然在蒙药和藏药中与其他药材队伍应用,但是在中医药中应用较少,为了保护野生小秦艽资源、扩大药源,需要进一步探索小秦艽花的作用,扩大小秦艽花的应用范围。本研究通过网络药理学探索小秦艽花的抗炎作用机制,网络药理学结果显示小秦艽花中的有效成分可以干预多条信号通路而发挥抗炎作用,为后续扩大药源提供参考依据。



绿色箭头代表活性成分;粉色圆形代表潜在靶点;红色三角形代表调控通路;边代表三者之间的相互作用

图8 小秦艽花抗炎作用的“活性成分-靶点-通路”  
Fig. 8 "Active ingredients -targets - pathway" of Anti-inflammatory effect from flowers of Gentiana dahurica

中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)是筛选草药有效成分的重要平台。但是TCMSP平

台中只收录了秦艽没有收录小秦艽花的相关信息。所以本研究通过查阅相关文献,得到小秦艽花中所含的化学成分。

研究结果显示,小秦艽花中黄酮类成分 luteolin (QJH-12, 木犀草素)、isoorientin (QJH-18, 异荭草苷)、isoorientin-4'-o-glucoside (QJH-19, 异荭草苷-4'-O-葡萄糖)、isovitexin (QJH-20, 异牡荆素)等化合物同时作用于多个与炎症相关的重要靶点,推测其为发挥抗炎作用的重要成分。这些成分将为后续药效作用的验证提供物质基础,同时为建立科学合理的质量标准寻找质量标志物指明方向,为谱-效关系、量-效关系研究奠定基础。TNF-α(肿瘤坏死因子α)、PTGS2(前列腺素内过氧化物合酶 2)、CASP3(半胱天冬氨酸蛋白酶-3)等同时与多条关键的炎症调控通路及多个重要的化学成分相关联,进一步推测以上靶点与炎症反应相关,为后续从细胞水平和分子水平验证药效奠定基础。有研究表明,TNF-α信号通路可广泛参与各种信号的传导,主要调节细胞凋亡<sup>[9-12]</sup>及调控炎症<sup>[13]</sup>,释放 IL-1β、TNF-α 等促炎因子和 PGE 2 及 NO 等炎症介质,从而形成炎症反应。异牡荆素<sup>[14]</sup>(isovitexin)能抑制 LPS 诱导的 TNF-α, IL-6, iNOS 和 COX-2 水平的增加。由此推测,小秦艽花中异牡荆素(isovitexin)可能通过调控 TNF-α 信号等通路来减少炎症因子释放从而达到抗炎目的。PTGS2 是合成前列腺素的关键酶,前列腺素是参与机体炎症反应的炎症介质。木犀草素(luteolin)是一种活性强大的肥大细胞释放抑制剂,可抑制肥大细胞脱颗粒和组胺、前列腺素样物质(PGs)及细胞因子等炎性介质的释放<sup>[15]</sup>,从而达到抗炎的目的。

本研究采用网络药理学方法,寻找蒙药小秦艽花,发挥抗炎作用的重要效应成分、关键靶点及重要的调控通路。分析网络图发现关键靶点同时与多条调控通路和多个成分相关联,可能的活性成分可以同时作用于多个关键靶点,关键的调控通路上分布多个炎症相关靶点,充分体现蒙药多成分多靶点多通路共同发挥药效的优势。为深入研究蒙药小秦艽花的作用机制提供物质基础及理论依据。

### 参考文献

[1]中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1988

- 志, 2016(4):29-31
- [4]向芬. 双歧杆菌三联活菌散联合茵栀黄口服液治疗新生儿黄疸疗效观察[J]. 儿科药学杂志, 2016(7):30-32
- [5]李秋平, 封志纯. 美国儿科学会最新新生儿黄疸诊疗指南[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2006;21(14):23-26
- [6]马晓丽, 李莲英. 茵栀黄颗粒联合蓝光照射辨治湿热熏蒸型新生儿黄疸的临床研究[J]. 辽宁中医杂志, 2016(2):328-330
- [7]徐睿霞, 王甫琴, 吴亚臻. 茵栀黄口服液联合清蛋白治疗新生儿病理性黄疸疗效及安全性研究[J]. 重庆医学, 2017;46(4):530-532
- [8]唐文, 谭建玲, 贾亮亮, 等. 茵栀黄口服液辅助治疗新生儿黄疸有效性和安全性的系统评价[J]. 中国药房, 2016;27(12):1638-1641
- [9]吴灵兵. 双歧杆菌三联活菌散联合茵栀黄颗粒预防新生儿黄疸[J]. 儿科药学杂志, 2017(10):69-70
- [10]高波, 李科兴, 宋霞, 等. 茵栀黄与双歧杆菌治疗新生儿黄疸的疗效及对谷丙转氨酶和总胆汁酸的影响[J]. 中国妇幼保健, 2018;33(3):606-609
- [11]Zeng J, Wang S J, Li Y M, et al. Yinzhihuang oral liquid in the treatment of neonatal jaundice: a meta-analysis[J]. Pharmaceutical Biology, 2017;55(1):554-559
- [12]罗菁, 卢洪萍. 茵栀黄口服液联合培菲康对新生儿黄疸的疗效及对T细胞亚群的影响[J]. 中华全科医学, 2017;15(3):463-465
- [13]Bhutani V K, Poland R, Meloy L D, et al. Clinical trial of tin mesoporphyrin to prevent neonatal hyperbilirubinemia[J]. Journal of Perinatology, 2016;36(7):533
- [14]李妍. 茵栀黄颗粒与微生态制剂联合治疗新生儿病理性黄疸的效果[J]. 中国医药导报, 2018;15(17):76-79
- [15]周淑娣, 邹美姣. 茵栀黄颗粒联合布拉氏酵母菌散治疗新生儿黄疸及对T细胞亚群的影响[J]. 广东医学, 2018;39(14):2225-2229

(上接第 266 页)

- [2]中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册[S].1998:5
- [3]张秀艳, 王晓琴, 温爱平. 小秦艽花化学成分研究[J]. 中草药, 2017;48(2):241-246
- [4]张新新, 贾娜, 孙琛, 等. 大叶秦艽花与麻花秦艽花抗炎镇痛作用的研究[J]. 西北药志, 2012;27(4):341-343
- [5]强永在, 屈晓梅, 巴俊杰. 蒙药小秦艽花化学成分的鉴定[J]. 中医导报, 2014;20(3):86-87+90
- [6]贾娜. 大叶秦艽花的化学成分及生物活性研究[D]. 西北大学, 2011:25
- [7]李雨蔚, 李荣娇, 袁绿益, 等. 西藏秦艽花的化学成分研究[J]. 中草药, 2015;46(14):2052-2056
- [8]唐晓莹. 藏药黄花獐牙菜根与秦艽花的化学成分研究[D]. 西南民族大学, 2017:37
- [9]Lee CH, Kim HJ, Lee YS, et al. Hypothalamic Macrophage Inducible Nitric Oxide Synthase Mediates Obesity-Associated Hypothalamic Inflammation[J]. Cell Rep, 2018;25(4):934-946
- [10]Chu WM. Tumor necrosis factor[J]. Cancer Lett, 2013;328(2):222-225
- [11]Shuh M, Bohorquez H, Loss GE Jr, et al. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ : Life and Death of Hepatocytes During Liver Ischemia/Reperfusion Injury [J]. Ochsner J, 2013;13(1):119-130
- [12]Gupta M, Wani A, Ul Ahsan A, et al. Soluble A $\beta$ 1-42 suppresses TNF- $\alpha$  and activates NLRP3 inflammasome in THP-1 macrophages [J]. Cytokine, 2018;111:84-87
- [13]Chen J, Liu GZ, Sun Q, et al. Protective effects of ginsenoside Rg3 on TNF- $\alpha$ -induced human nucleus pulposus cells through inhibiting NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Life Sci, 2019;216:1-9
- [14]Lv H, Yu Z, Zheng Y, et al. Isovitexin Exerts Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting MAPK and NF- $\kappa$ B and Activating HO-1/Nrf2 Pathways [J]. Int J Biol Sci, 2016;12(1):72-86
- [15]Kimata M, Inagaki N, Nagai H. Effects of luteolin and other flavonoids on IgE-mediated allergic reactions [J]. Planta Med, 2000;66(1):25-29