

基于网络药理学和分子对接探讨菟丝子-枸杞子养肝明目的作用机制

马力红¹ 夏文鑫¹ 王玉树¹ 陶梦昕¹ 景文慧¹ 张贺铭¹ 付雪艳*^{1,2,3}

(1.宁夏医科大学 药学院(Ningxia Medical University) 银川 750004²; 2.宁夏区域特色中医药协同创新中心 银川 750004;
3.宁夏民族医学现代化中心重点实验室教育部 银川 750004)

摘要:目的:应用网络药理学和分子对接技术,研究菟丝子-枸杞子养肝明目的作用机制。方法:通过 TCMSp 数据库筛选出菟丝子、枸杞子的活性成分,应用 Gene Card、OMIM 数据库挖掘菟丝子-枸杞子养肝明目的潜在作用靶点。结合 STRING 数据库和 Cytoscape 3.7.2 对交集基因进行 PPI 分析及 GO、KEGG 富集分析。使用 AutoDock Vina 软件对菟丝子-枸杞子关键活性成分与作用靶点进行分子对接验证。结果:菟丝子-枸杞子作用于“Dry eyes”的共同靶点 31 个、“age-related macular degeneration”的共同靶点 19 个、“diabetic retinopathy”的共同靶点 32 个,其治疗眼部疾病可能与酪氨酸代谢、5-羟色胺能突触、帕金森病、内分泌抵抗等生物代谢通路密切相关。结论:初步揭示了菟丝子-枸杞子成分是作用于多靶点、多通路从而影响眼病的发生发展,为进一步研究提供新的理论依据。

关键词:菟丝子;枸杞子;养肝明目;网络药理学;分子对接;作用机制

菟丝子为旋花科植物南方菟丝子 *Cuscuta australis* R. Br.或菟丝子 *Cuscuta chinensis* Lam.的干燥成熟种子^[1]。现代研究表明菟丝子中共含有黄酮类、酚酸类生物碱类等多种化学成分^[2];具有治疗糖尿病、皮肤病^[3,4]、明目、保肝、止泻、免疫调节作用等多种药理作用;外治白癜风。菟丝子作为传统的明目中药,应用广泛。枸杞子为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L.的干燥成熟果实^[1],富含枸杞多糖、多酚等,具有滋补肝肾,益精明目等功效。然而目前国内学者针对菟丝子的研究多以植物化学、生物学以及生殖系统应用为主,对菟丝子-枸杞子在眼科疾病(如缓解视觉疲劳^[5]等)治疗应用的基础研究较为有限。

本研究基于菟丝子-枸杞子养肝明目功效活性,在中医理论指导下,以“养肝明目”为目标,对菟丝子-枸杞子进行组方,为菟丝子-枸杞子养肝明目进一步开发研究提供理论支撑。

1. 资料与方法

1.1 菟丝子-枸杞子活性成分的筛选

通过 TCMSp 数据库输入“菟丝子”“枸杞子”,分别搜索得到二者的活性成分,然后设置口服生物利用度(OB)≥20%及药物相似性(DL)≥0.10,筛选活性成分。

1.2 疾病靶点的预测

选择 Gene Card 数据库(<https://www.genecards.org>)、OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)两个疾病数据库,以“Dry eyes”、“age-related macular degeneration”、“diabetic retinopathy”为疾病关键词挖掘干眼症、年龄相关性黄斑变性、糖尿病视网膜病潜在作用靶点。

1.3 交集基因蛋白-蛋白互作(PPI)网络的构建

将菟丝子-枸杞子-眼部疾病的交集靶点导入 Cytoscape 3.7.2 软件,以菟丝子-枸杞子药物靶点、眼部疾病靶点为节点,两者关系为边,绘制互作网络,通过 CytoScape 内置的分析工具分析菟丝子-枸杞子治疗眼部疾病的网络拓扑学参数,得到核心成分及核心作用靶点。再将交集靶点导入 STRING 11.5 数据库(<https://cn.string-db.org/>)构建一个蛋白互作(PPI)网络模型。

1.4 交集基因的富集分析

将菟丝子-枸杞子-眼部疾病的交集靶点导入 Metascape 数据库(<https://metascape.org/gp/index.html>),设置 $p < 0.01$,分析其主要的代谢通路与生物学过程,并进行 GO 分析和 KEGG 富集分析。

1.5 分子对接

运用 AutoDock Vina 软件将菟丝子、枸杞子含有的化学成分与关键靶点进行对接实验。

2. 结果

2.1 药物靶点及疾病靶点的筛选

将从数据库导出的靶点进行整合、删除重复值,得到药物靶点 105 个。将“Dry eyes”、“age-related macular degeneration”、“diabetic retinopathy”作为疾病关键词,搜索得到眼部疾病靶点,将靶点去重后,得到的“Dry eyes”疾病靶点 6078 个,“age-related macular degeneration”疾病靶点 4819 个,“diabetic retinopathy”疾病靶点 6022 个。得到药物靶点与疾病靶点后,用 Venny 2.1(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)绘制韦恩

图，得二者靶点的交集，菟丝子-枸杞子作用于“Dry eyes”的共同靶点 31 个、“age-related macular degeneration”的共同靶点 19 个、“diabetic retinopathy”的共同靶点 32 个。

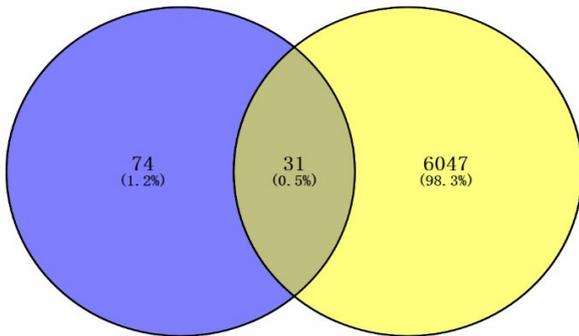


图 1 菟丝子-枸杞子- Dry eyes 靶点韦恩图

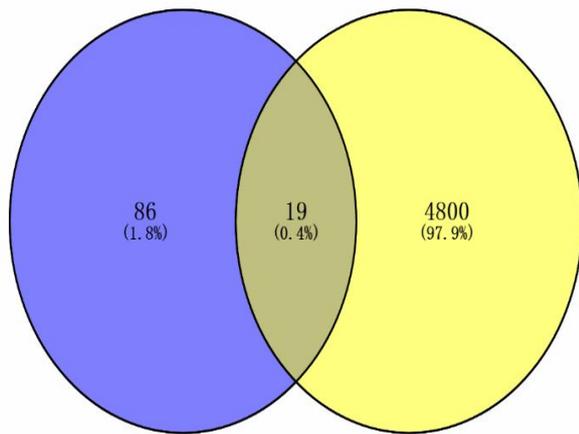


图 2 菟丝子-枸杞子- age-related macular degeneration 靶点韦恩图

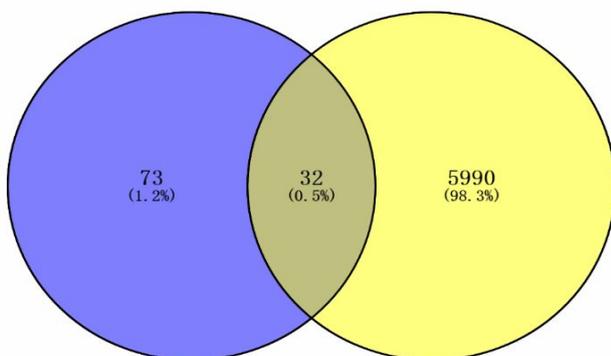


图 3 菟丝子-枸杞子- diabetic retinopathy 靶点韦恩图

2.2 PPI 网络的构建

2.2.1 药物-疾病 PPI 网络图 菟丝子-枸杞子治疗眼部疾病的 PPI 网络图如 4-6 所示：

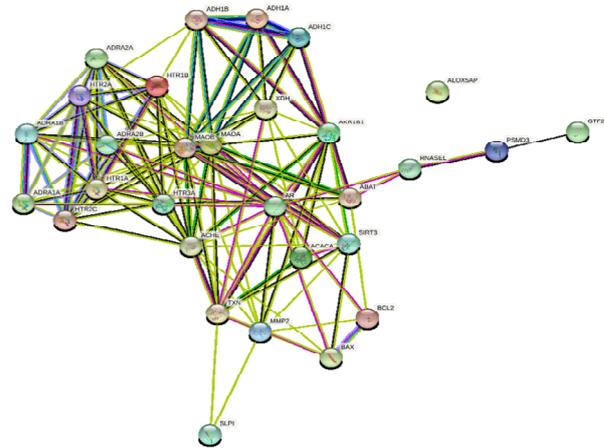


图 4 菟丝子-枸杞子- Dry eyes 靶点 PPI 网络

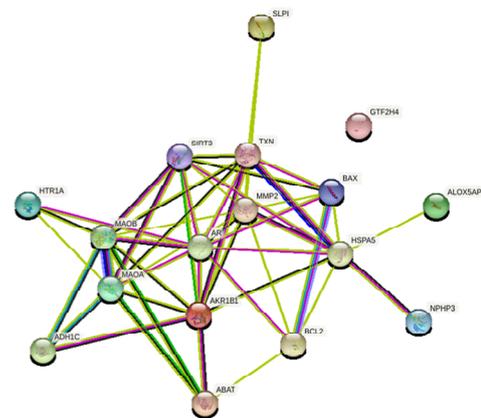


图 5 菟丝子-枸杞子- age-related macular degeneration 靶点 PPI 网络

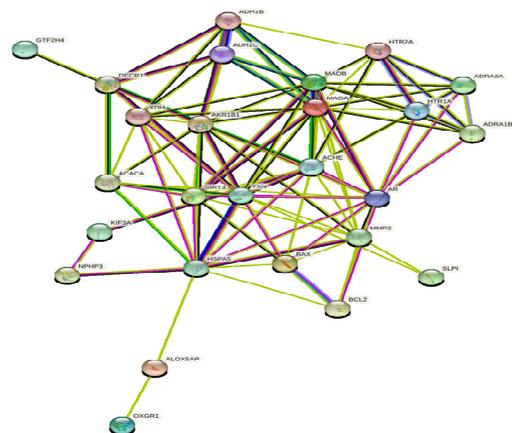


图 6 菟丝子-枸杞子- diabetic retinopathy 靶点 PPI 网络

2.2.2 药物-成分-疾病靶点网络图 运用 Cytoscape3.7.2 内置的 NetworkAnalyser 分析菟丝子治疗 Dry eyes 常用网络拓扑学参数, 得到核心成分及核心作用靶点。运用 Cytoscape3.7.2 构建菟丝子-枸杞子对 Dry eyes、age-related macular degeneration、diabetic retinopathy 靶点网络图, 见图 7-9。

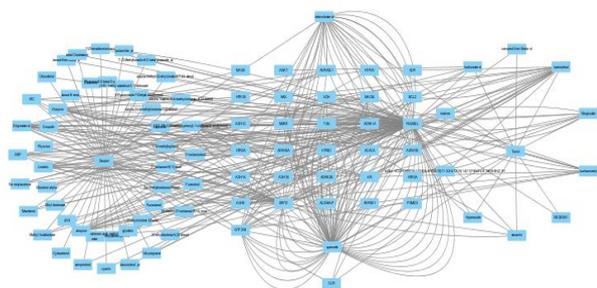


图 7 菟丝子-枸杞子-成分-Dry eyes 靶点图

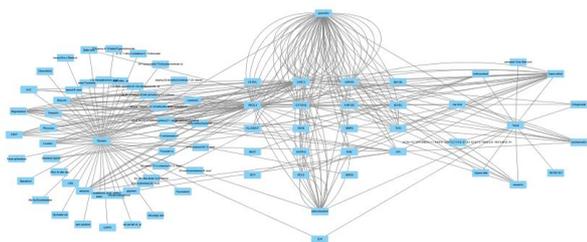


图 8 菟丝子-枸杞子-成分-age-related macular degeneration 靶点图

表 1 菟丝子-枸杞子对 Dry eyes 靶点网络图节点特征参数

name	Degree	BetweennessCentrality	ClosenessCentrality	Type
RNASEL	106	0.41699611	0.63013699	gene
quercetin	79	0.12861684	0.50273224	成分
SIRT3	42	0.03525265	0.41071429	gene
beta-sitosterol	31	0.04090379	0.46700508	成分
kaempferol	20	0.07262696	0.46700508	成分
GTF2H4	19	0.00965543	0.359375	gene
4-[(Z,1R)-3-(4-methoxyphenyl)-2-vinylprop-2-enyl]phenol	16	0.04694774	0.46700508	成分
Stigmasterol	16	0.06427883	0.46700508	成分
Atropine	15	0.04320192	0.43601896	成分
atropine	14	0.04320192	0.43601896	成分

表 2 菟丝子-枸杞子对 age-related macular degeneration 靶点网络图节点特征参数

name	Degree	BetweennessCentrality	ClosenessCentrality	Type
------	--------	-----------------------	---------------------	------

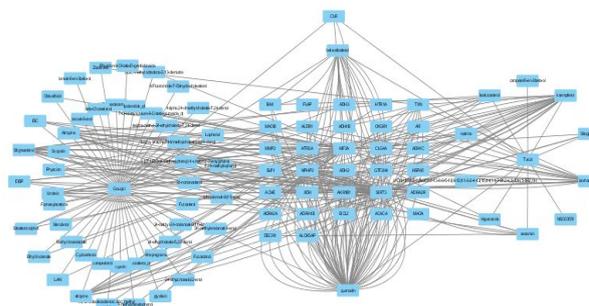


图 9 菟丝子-枸杞子-成分-diabetic retinopathy 靶点图

2.2.3 菟丝子-枸杞子主要活性成分及作用靶点预测结果对 Cytoscape 网络进行分析, 预测菟丝子-枸杞子对 Dry eyes 治疗的主要成分为 quercetin, 其次为 beta-sitosterol, 主要作用靶点为 RNASEL、SIRT3、GTF2H4, 具体见表 1; 对 age-related macular degeneration 治疗的主要成分为 quercetin, 其次为 kaempferol, 主要作用靶点为 SIRT3、SIR2L3、NPHP3, 具体见表 2; 对 diabetic retinopathy 治疗的主要成分为 quercetin, 其次为 kaempferol, 主要作用靶点为 KIF3A、SIRT3、NPHP3, 具体见表 3。

quercetin	72	0.17622865	0.52980132	成分
SIRT3	42	0.04683806	0.40816327	gene
SIR2L3	42	0.04683806	0.40816327	gene
NPHP3	28	0.02589172	0.37383178	gene
beta-sitosterol	22	0.07083931	0.48484848	gene
kaempferol	20	0.04857117	0.34334764	成分
GTF2H4	19	0.01545781	0.36697248	gene
Stigmasterol	13	0.08383571	0.46242775	gene
4-[(Z,1R)-3-(4-methoxyphenyl)-2-vinylprop-2-enyl]phenol	12	0.02012653	0.43715847	成分
TXN	12	0.00910796	0.36363636	gene

表 3 菟丝子-枸杞子对 diabetic retinopathy 靶点网络图节点特征参数

name	Degree	BetweennessCentrality	ClosenessCentrality	Type
quercetin	81	0.23524097	0.52840909	成分
KIF3A	43	0.21865141	0.49468085	gene
SIRT3	42	0.05706276	0.41517857	gene
NPHP3	28	0.0183441	0.37804878	gene
kaempferol	23	0.06204176	0.40434783	成分
beta-sitosterol	23	0.05504327	0.465	成分
GTF2H4	19	0.01080162	0.36904762	gene
Stigmasterol	16	0.08795772	0.46039604	成分
isorhamnetin	15	0.03289568	0.38429752	成分
TXN	12	0.00787727	0.36904762	gene

2.3 GO 分析和 KEGG 通路分析

2.3.1 菟丝子-枸杞子治疗干眼症富集分析结果 KEGG 通路

富集分析结果表明, 菟丝子-枸杞子治疗 Dry eyes 靶点主要参与了 5-羟色胺能突触(Serotonergic synapse)、酪氨酸代谢(Tyrosine metabolism)、帕金森病(Parkinson disease)、内分泌抵抗(Endocrine resistance)、神经活性配体-受体相互作用(Neuroactive ligand-receptor interaction)等通路。菟丝子-枸杞子主要参与的生物学过程包括血管收缩的调节(regulation of vasoconstriction)、调节神经递质水平(regulation of neurotransmitter levels)、5-羟色胺受体信号通路(serotonin receptor signaling pathway)、神经递质分解代谢过程(neurotransmitter catabolic process)、调节激素水平(regulation of hormone levels)。富集分析结果见图 10。

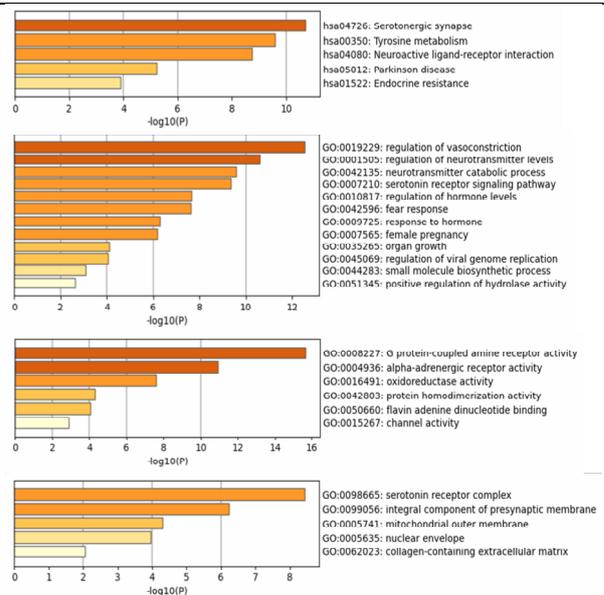


图 10 菟丝子-枸杞子治疗 Dry eyes 成分潜在靶点富集分析

2.3.2 菟丝子-枸杞子治疗老年性黄斑变性富集分析结果

KEGG 通路富集分析结果表明, 菟丝子-枸杞子治疗 age-related macular degeneration 靶点主要参与了酪氨酸代谢 (Tyrosine metabolism)、帕金森病 (Parkinson disease)、内分泌抵抗 (Endocrine resistance) 通路。菟丝子-枸杞子主要参与的生物学过程包括对无机物的反应 (response to inorganic substance)、前体代谢物和能量的产生 (generation of precursor metabolites and energy)、神经递质分解代谢过程 (neurotransmitter catabolic process)、泌尿生殖系统发育 (urogenital system development)、血液循环 (blood circulation)、一元羧酸代谢过程 (monocarboxylic acid metabolic process)。富集分析结果见图 11。

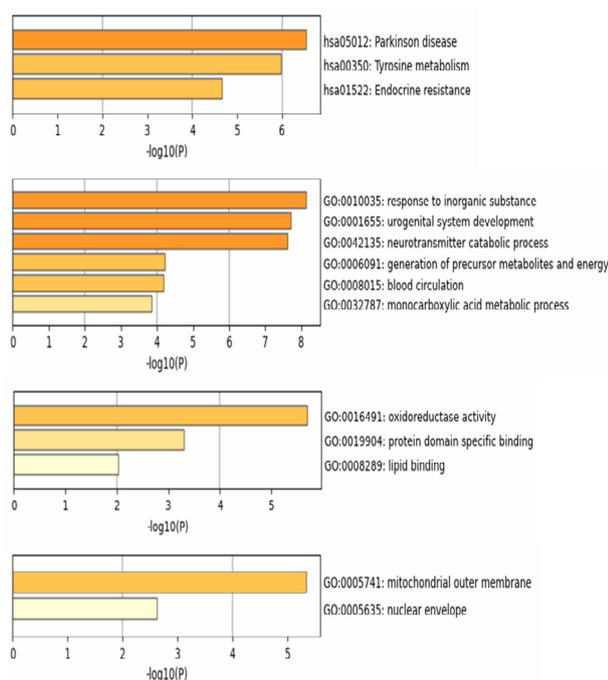


图 11 菟丝子-枸杞子治疗 age-related macular degeneration 成分潜在靶点富集分析

2.3.2 菟丝子-枸杞子治疗糖尿病视网膜病富集分析结果 KEGG 通路富集分析结果表明, 菟丝子-枸杞子治疗 diabetic retinopathy 靶点主要参与了酪氨酸代谢 (Tyrosine metabolism)、5-羟色胺能突触 (Serotonergic synapse)、帕金森病 (Parkinson disease)、内分泌抵抗 (Endocrine resistance) 等通路。菟丝子主要参与的生物学过程包括对血管收缩的调节 (regulation of vasoconstriction)、神经递质分解代谢过程 (neurotransmitter catabolic process)、恐惧反应 (fear response)、泌尿生殖系统发育 (urogenital system development)、一元羧酸代谢过程 (monocarboxylic acid metabolic process)。富集分析结果见图 12。

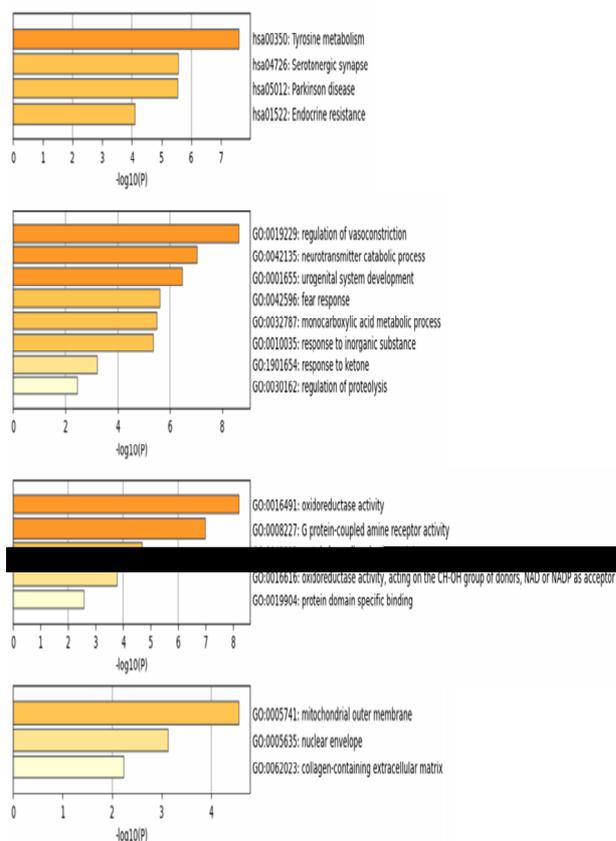


图 12 菟丝子-枸杞子治疗 diabetic retinopathy 成分潜在靶点富集分析

2.4 分子对接

2.4.1 干眼病 Beta-sitosterol 与蛋白 Alpha-1B adrenergic receptor 对接分数最高, 为 132.898。如图 13 所示。

2.4.2 老年性黄斑性病变 Quercetin 与蛋白 General transcription factor IIIH subunit 4 对接分数为 137.081,如图 14D 所示。

2.4.2 老年性黄斑性病变 Quercetin 与蛋白 General transcription factor IIIH subunit 4 对接分数为 137.081,如图 14D 所示。

糖尿病性视网膜病变 Beta-sitosterol 与蛋白 Crystal structure of human SIRT3 对接分数为 104.052,如图 14E 所示。

3. 讨论

菟丝子-枸杞子的网络药理学研究结果表明, 对于 Dry eyes 主要参与的生物学过程包括血管收缩的调节、调节神经递质水平、5-羟色胺受体信号通路、神经递质分解代谢过程、调节激素水平等; 对于 age-related macular degeneration 主要参与的生物学过程包括无机物的反应、前体代谢物和能量的产生、神经递质分解代谢过程、对有毒物质的反应、泌尿生殖系统发育、血液循环、一元羧酸代谢过程等; 对于 diabetic retinopathy 主要