

网络药理学在乌头属中药药效物质基础、作用机制及毒性研究中的应用进展

肖莲 杨道斌 陈礼大 吴增光^(通讯作者)

(贵州中医药大学第二附属医院 贵州 550003)

摘要:随着网络药理学的发展,利用其构建“药物-靶分子-疾病”生物网络关系在中医药研究中得到广泛应用。乌头属中药具有消炎、止痛、局麻等药理作用,通过其方剂的化学成分、组方规律、作用靶点、拮抗减毒相关作用机制等研究热点,对近几年基于网络药理学对乌头属中药药效物质基础、作用机制及毒性研究中的应用进展进行综合概述。

关键词:乌头属;药效物质;药理作用;毒性研究;网络药理学

中药及其复方的药理机制具有多成分、多靶点、多途径、多种功能调控的特点。Hopkins A L^[1]在2007年提出了网络药理学(network pharmacology)这一研究方法,并发现药物可以通过调控与疾病有关的靶点的相互作用来治疗疾病。乌头属中药历史悠久,其治疗复杂的急慢性疾病效果显著,但问题是有效物质成分复杂和作用机制不明确,从而阻碍现代化和国际化的发展。必须通过现代化医学及生物科学技术的应用来彻底研究乌头属中药的药效物质基础、作用机制和增效减毒机制。近年来,将系统生物学的观点和方法运用到传统中药的研究上已经成为一种新的热门方法。网络药理学已经演化发展成了一个新的交叉性学科,它从分子水平和分子网络调控的基础上阐明中药的作用机制,使中医药理论和临床应用更加严谨科学^[2-4]。因此,本文将对近几年基于网络药理学对乌头属中药药效物质基础、作用机制及毒性研究中的应用进展进行综述。

1 网络药理学研究背景

网络药理学(Network pharmacology)是一种以系统生物学理论为基础,通过数据库筛选、高通量组学技术和网络可视化分析构建的“有效成分-靶分子-疾病”的生物信息网络。通过网络拓扑分析,

表1 网络药理学相关数据库及软件

名称	用途
TCM Database@Taiwan、TCMID、3D-MSDT、TCMSP、PubChem、ChEMBL	查找药物或化学成分等信息
DrugBank、STITCH、PubChem、HIT、TTD、PDTD	
GeneCard、GenBank、OMIM、GAD、DisGeNET	查找药物作用靶点
String	查找疾病相关基因
OPHID、HPRD、PDZBase、DIP、InAct、MINT、HAPPI	查找基因互作信息
Biocarta、KEGG	查找蛋白-蛋白互作信息
Druggable、drugCIPHER	查找生物信号通路
CytoScape、Pajek	预测药物作用靶标 构建可视化网络

2 乌头属中药药效物质基础研究

“乌头汤”临床常用于各种风湿性疾病的治,具有温经散寒,祛湿止痛的治疗功效。乌头汤作为《金匮要略》治疗寒湿痹证的代表方剂,一直作为乌头属中药药效物质基础研究的热点。刘志强等^[5]以佐剂型关节炎为载体,利用药物代谢技术结合网络药理学,鉴定出乌头汤中的22种可吸收入血成分和49种体内代谢产物,构建了“入血成分-靶点-疾病”的生物网络。同时,对乌头汤在体内的作用相关靶点进行了筛选,如:PTGS2、TNF、TGS1、IL-1 β 等。研究人员利用化学光谱(CP-Omics)进一步明确了乌头汤在体内药效物质基础中的生物碱、苜蓿素、甘草苷、芍药苷、麻黄碱等成分,发现乌头汤主要通过调节苯丙氨酸、络氨酸和色氨酸等生物合成途径对佐剂型关节炎产生治疗作用。并根据不同代谢通路的影响,研究发现制川乌和麻黄中的生物碱起主要治疗作用,而白芍中的单萜皂苷、黄芪和炙甘草中的三萜皂苷及黄酮类则起到协同增效作用,

可以有效地筛选出具有特定功能的重要靶分子和分子结构,有利于确定药物治疗的相关靶分子,进而揭示药物治疗疾病的药理机制。

通过网络药理学研究,其主要目的是从液质联用数据和网络化学成分数据库中获取中药的药效物质化学成分,并通过公共数据库或高通量测序、组学分析数据预测某方剂、某中药药效物质对应的作用靶分子。然后通过分析正常组和疾病组的高通量测序结果,筛选出与疾病有关的差异表达基因。将药效物质对应的作用靶分子与差异表达的基因取交集,可得到药效物质与疾病差异表达基因作用相关的靶分子。通过GO、KEGG富集分析,初步筛选靶分子相关的生物学功能和分子信号通路。再通过计算机模拟预测和体外实验等验证药物成分与靶分子之间的作用关系构建互作网络,可以是“药物-药效物质-相关生物学功能”互作网络、“药效物质-相关生物学功能-疾病”互作网络,也可以是“靶分子-ceRNA”互作网络。表1总结了网络药理学研究方法的相关数据库及软件^[5-7]。

从分子水平上进一步揭示了乌头汤治疗佐剂型关节炎的体内药效物质基础。

临床上四逆汤常用于治疗心肌梗死、心力衰竭、急性肠胃炎等疾病,具有温中祛寒,回阳救逆的功效,是《伤寒论》中经典温里方剂。张海等^[8]对四逆汤提取的活性成分进行了分析,构建了“成分-靶分子”网络。从附子中筛选出25种活性最高的生物碱,从甘草中筛选出12种黄酮类化合物,从生姜中筛选出6-姜酚化合物。后续通过建立慢性心力衰竭大鼠模型试验,进一步明确了乌头碱是治疗心力衰竭的主要药效物质基础,而生姜中的6-姜酚成分可以提高乌头碱的强心作用,此外还发现甘草苷可以通过相同或不同的靶分子协同拮抗乌头碱的作用,抑制乌头碱引起的心律失常。

3 乌头属中药作用机制研究

乌头属中药及其复方具有多成分、多靶点、多种调控方法的特点,蕴含着大量的信息。利用西医的单一靶点、单一成分的方法来研

究乌头属中药作用机制很难体现其药用作用的系统性。可以利用系统生物学和多向药理学方法构建“药物-靶分子-疾病”的作用网络去研究中药治疗疾病的药用机制。从传统的筛选单一靶向分子变成了完整系统的网络分析的同时,通过网络分析也能证明同一疾病是由不同阶段的同一或不同功能性蛋白质调控的;其中有些功能蛋白可能对多种疾病起到关键调控作用。与传统中医学的“异病同治”和“同病异治”的治疗方式相同。乌头属中药药效物质组成复杂,其作用机制不明确,网络药理学分析方法可以充分分析和揭示其治疗作用机制,有助于加深对乌头属中药的研究和临床用药的开发。

田秋红等人^[10]基于网络药理学技术,构建了“成分-靶分子”作用网络,共筛选出乌头汤中144种活性成分,从数据库中筛选出类风湿性关节炎(RA)疾病相关靶分子69个,KEGG分析筛选出57条治疗RA相关通路。研究发现乌头汤可能通过调节NOS2、PTGS2、ESR2、ESR1、AR等靶点,以及TNF信号转导通路、IL-17转导信号通路、NOD样受体信号通路、Th17细胞分化、Th1和Th2细胞分化等途径抑制炎症。调节免疫功能,达到治疗类风湿性关节炎的目的。此外,郑春松等人^[11]利用网络药理学方法构建了乌头汤中“化合物-靶分子”的作用网络,发现乌头汤中主要药效物质基础为皂苷类、生物碱和黄酮类。这些药效物质作用于JNK、p38、MAPK等信号转导通路。能够通过抑制一氧化氮的释放,阻断痛觉冲动信号的传导和传递、降低痛觉敏感性,达到止痛的效果。

陈扬等人^[12]基于网络药理学技术,利用Pharm Mapper数据库筛选出川乌和草乌的活性相关靶分子,将这些靶分子与GeneCards和OMIM数据库中的类风湿性关节炎的相关靶分子取交集,构建出“药物-类风湿性关节炎靶分子-信号转导通路”的作用网络。结果表明,从川乌和草乌中筛选出的次乌头碱、草乌甲素、滇乌头碱等10个有效活性成分和23个对应的治疗靶分子,如IL2、MMP2、MMP3、TGFB2等。这些治疗靶分子与JAK-STAT、IL-17、MAPK、类风湿性关节炎等通路密切相关,为进一步研究川乌和草乌对类风湿性关节炎的作用奠定了基础。

附子被称为回阳救逆之要药,童晶晶等人^[13]利用Batman-TCM数据库筛选附子的活性成分和对应靶分子,从CTD数据库中获得心力衰竭疾病相关的靶基因。结果表明,从附子中筛选出58个药效物质化合物和253个作用靶点,同时筛选出113个与心力衰竭相关的靶基因。PPI分析结果表明,附子治疗心力衰竭的机制,与它调节炎症反应、血管收缩和血压有关。

4 乌头属中药毒性研究

乌头属中药目前在临床上广泛应用,既有疗效又有毒性作用,如果未经炮制或者炮制不当就服用均会中毒,严重时甚至导致死亡。因此,乌头属中药在毒性作用和拮抗减毒方面一直作为乌头属中药毒性研究的重点。乌头属中药中毒主要与用药过量、生用、配伍不当、煎煮时间过短有关。只有正确认识乌头属中药的功和毒性,采用恰当的配伍方法应用以便增效减毒,乌头属中药才能让安全可控地发挥其药用价值。

乌头碱经过炮制后会被水解,毒性降低。澈力木格^[14]等人基于中药网络药理学分析平台,对草乌的主要药效活性成分及相关疾病靶分子进行筛选,并利用Cytoscape软件构建了“成分-靶分子-疾病”的作用网络。结果表明,共筛选出33个与草乌炮制后药效机制和减毒作用相关的潜在代谢标志物(肝脏15种、尿液9种、血清9种)。发现草乌可能通过调控KCNJ10、CHRM2、CACNA1A、CHRM4、

CNR1、PTGS2、TACR2、SCN11A和SCN5A等靶分子发挥止痛、消炎和抗风湿治疗效果,为后续研究验证奠定理论基础。

5 结语与展望

乌头属中药及其复方药效物质基础化学成分复杂,药效作用机制具有多靶点、多途径、多层次的特点,经常会遇到药效物质基础不明确、作用机制不明、增效减毒机制不明等问题。网络药理学技术通过构建“药物-靶分子-疾病”的多层次网络模型,从整体角度对乌头属中药及其复方作用机制、方剂配伍、毒理学以及新药研发的研究中发挥重要作用。网络药理学的分析方法在乌头属中药及其复方研究中将会有更广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Hopkins A L. Network pharmacology[J]. Nature Biotechnology, 2007, 25(10):1110-1111.
- [2] 周文霞,程肖蕊,张永祥. 网络药理学:认识药物及发现药物的新理念[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(1):6.
- [3] Xue R, Fang Z, Zhang M. TCMID: traditional Chinese medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis[J]. Nucleic Acids Research, 2012.
- [4] 陳語謙. Traditional Chinese Medicine(TCM) database.2011.
- [5] Ru J, Li P, Wang J. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6(1):13.
- [6] Qiao X, Hou T, Zhang W. A 3D structure database of components from Chinese traditional medicinal herbs.[J]. Cheminform, 2010, 33(33):no-no.
- [7] Mark, Davies, Micha. ChEMBL web services: streamlining access to drug discovery data and utilities.[J]. Nucleic acids research, 2015.
- [8] 刘志强、徐腾飞、皮子凤等. 乌头汤治疗痹症的药效物质基础及整体作用机制的质谱研究[C]// 2018年中国质谱学术大会(CMSC 2018).
- [9] 张海. 基于药物代谢动力学和网络药理学的中药复方四逆汤配伍规律研究[C]// 全国药物分析大会理事会. 全国药物分析大会理事会, 2015.
- [10] 田秋红,刘维,吴沅焯等. 基于网络药理学探讨乌头汤治疗类风湿性关节炎作用机制[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(8):10.
- [11] 郑春松,林洁,付长龙,等. 基于计算机模拟乌头汤治疗疼痛的药效物质基础与分子作用机制[J]. 康复学报, 2016, 26(1):5.
- [12] 陈扬,王昭懿,代一航等. 基于网络药理学及分子对接的川乌、草乌配伍治疗类风湿性关节炎的机制研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(6):8.
- [13] 童晶晶. 基于网络药理学探讨附子治疗慢性心力衰竭的机制[J]. 当代医药论丛 2021年19卷9期, 87-90页, 2021.
- [14] 澈力木格. 基于代谢组学与网络药理学的蒙药草乌毒性与炮制减毒作用原理研究.

作者简介:

第一作者:肖莲, 护士, 从事中药护理学相关研究

*通讯作者:吴增光, 副主任药师, 从事中药复方药效物质基础及作用机制研究,

项目:贵州省科学技术厅黔科合支撑([2021]一般007)资助、贵州省中医药管理局(QZYY-2021-002)