

基于网络药理学及分子对接的浙贝母花-枇杷花药对止咳化痰作用机制研究

崔明超^{1,2*}, 王翰华¹, 陈少军¹

¹浙江医药高等专科学校, 宁波 315100; ²南京中医药大学, 南京 210046

摘要:采用网络药理学及分子对接阐明浙贝母花-枇杷花药对的止咳化痰作用机制。以口服生物利用度 $\geq 30\%$ 和类药性 ≥ 0.18 筛选成分, Swiss Target Prediction 数据库进行靶点预测, GenCLiP 3 和 Drugbank 数据库进行疾病靶点分析。以 STRING 和 Cytoscape 软件构建成分-靶点互作图, 并进行 GO、KEGG 分析。以 AutoDock Vina 和 Discovery Studio Visualizer 对成分与关键靶点蛋白进行分子对接及相互作用分析。结果表明, 药对的主要活性成分为生物碱、三萜和黄酮, 作用于 PTGS2、AKT1、VEGFA、TNF 等靶点, 通过 VEGF、花生四烯酸代谢、白介素-17、肿瘤坏死因子等信号通路, 多成分、多靶点、多通路产生止咳化痰的作用。

关键词:浙贝母花; 枇杷花; 网络药理学; 止咳; 化痰; 分子对接

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)2-0282-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.2.013

Antitussive and expectant mechanism of *Fritillariae Thunbergii* Flos and *Eriobotryae* Flos based on network pharmacology and molecular docking

CUI Ming-chao^{1,2*}, WANG Han-hua¹, CHEN Shao-jun¹

¹Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China; ²Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Abstract: In this study, network pharmacology and molecular docking were used to elucidate the antitussive and phlegm-resolving mechanism of *Fritillariae Thunbergii* Flos (FTF) and *Eriobotryae* Flos (EF). Firstly, TCMSF database was applied to screen the active ingredients by oral bioavailability ($OB \geq 30\%$) and drug-like ($DL \geq 0.18$). Swiss Target Prediction database was used for target prediction. GenCLiP 3 and Drugbank database were used to analyze the targets related to cough and phlegm resolving. Secondly, Cytoscape software was used to construct the compound-target network, and ClueGO and ClePedia plugins were used for GO functional enrichment analysis and KEGG metabolic pathway annotation analysis. Then, AutoDock Vina was used for molecular docking and scoring of 20 components with key target proteins, respectively. Discovery Studio Visualizer was used to analyze the interaction between receptor proteins and ligands. Finally, 20 compounds, 42 potential targets and 14 major signaling pathways were obtained. Molecular docking validated part of the results, and the main interactions were conventional hydrogen bond, alkyl, Pi-Sigma, and Pi-alkyl. FTF and EF may produce antitussive and expectorant effects by alkaloids, triterpenoids, and flavonoids, mainly acting on PTGS2, AKT1, VEGFA, and TNF, via VEGF, arachidonic acid metabolism, IL-17, TNF and other signaling pathways.

Key words: *Fritillariae Thunbergii* Flos; *Eriobotryae* Flos; network pharmacology; antitussive; expectorant; molecular docking

“贝枇双花饮”为课题组开发的保健饮料, 可用于咳嗽类疾病的辅助治疗^[1], 其主要组成为浙贝母花和白枇杷花。浙贝母花 (*Fritillariae Thunbergii*

Flos, FTF) 为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 干燥带花梗的花^[2], 主要含有生物碱、黄酮、挥发油等成分^[3]; 枇杷花 (*Eriobotryae* Flos, EF) 为蔷薇科枇杷属植物枇杷 *Eriobotrya japonica* Lindl. 的干燥的花, 主要含有三萜类、黄酮类、挥发油等^[4], 两者均具有止咳化痰的作用。实验证明, 浙贝母花与枇杷花配伍有较好的止咳、化痰^[5]、抗菌、抗炎^[6]作用, 课题组在“贝枇双花饮”保健饮品的开发中发

收稿日期: 2020-05-06 接受日期: 2020-12-24

基金项目: 浙江省公益技术研究计划 (LGN20H280003); 宁波市自然科学基金 (2019A610369); 浙江省教育厅一般科研 (Y201942819); 浙江省教育厅教师素质与科研提升计划 (FX2019064)

* 通信作者 Tel: 86-574-88839209; E-mail: cuimc@mail.zjpc.net.cn

现,发现浙贝母花与枇杷花水提物 1:4 配伍使用(3 g/kg,灌胃)具有显著的止咳、化痰作用(小鼠氨水引咳模型、豚鼠枸橼酸引咳模型和小鼠气管酚红排泌模型),其效果明显优于同等剂量单味药物,证明两者具有协同作用,可增强止咳化痰疗效^[5]。

本文采用网络药理学结合分子对接的研究方法,以浙贝母花-枇杷花药对的活性成分为研究对象,通过建立“成分-靶点-通路”网络,以阐释其止咳化痰作用的机制。

1 材料和方法

1.1 化学成分收集与活性成分筛选

课题组前期获得的浙贝母花成分 211 个,枇杷花中成分 127 个,借助 TCMSP(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)平台,以口服生物利用度(oal bio-availability, OB)和类药性(drug-like, DL)评价成分的体内过程,以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 作为活性成分筛选条件,同时参考相关文献,以获得活性成分。

1.2 药物靶标的获取

靶标的获取采用 Swiss Target Prediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据平台,获取化合物的作用靶点。

1.3 疾病靶点的筛选

结合前期研究汇中贝枇双花饮具有止咳、化痰的药理作用,选择关键词为“cough, phlegm”,在 GenCLiP 3(<http://ci.smu.edu.cn/genclip3/analysis.php>)和 Drugbank(<https://www.drugbank.ca/>)中检索并得到相关基因。GenCLiP 3 是基于 PubMed 数据库搜索与疾病相关基因的文本挖掘平台,而 Drugbank 是整合了生物信息学资源,特别是已被验证的药物靶点信息的数据库。

将以上不同来源的靶标在 UniProt(<http://www.uniprot.org/>)数据库统一名称,并删除重复和错误的靶标。

将筛选到的药物作用靶点和止咳化痰靶点上传至在线韦恩图(venn diagram <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/venn/>),得到交集,以确定药物与疾病的共同作用靶点。

1.4 成分-靶点网络构建和分析

为了进一步了解浙贝母花-枇杷花靶点和疾病靶点在蛋白水平上的作用机制,利用在线网站 STRING(<https://string-db.org>)获取蛋白质相互作用网络图(protein-protein interaction network, PPI),旨在从生物化学、信号转导和遗传网络等不同角度

研究化合物和疾病相关蛋白质分子之间的相关性。然后,使用生物信息学可视化软件 Cytoscape 3.7.1 构建“化合物-靶点”互作网络图;网络分析中重点关注的是其中的度值(degree)和中介中心度(betweenness centrality)。

1.5 GO 功能富集分析和 KEGG 代谢通路注释分析

为了进一步研究获得靶标的功能注释,利用 Cytoscape 中 ClueGO 和 CluePedia 插件,选择物种为智人(Homo sapiens),进行 GO 功能富集分析和 KEGG 代谢通路注释分析($P \leq 0.05$)。

1.6 分子对接

从 PDB 蛋白质数据库中(<https://www.rcsb.org/>)下载蛋白质结构的 pdb 格式,Drugbank 中检索相关靶点的已知药物作为阳性药物,在 Pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载相关分子的 SDF 结构,利用 Chemoffice 中 Chem 3D 组件进行 MMFF94 能量最小化,利用 Openbabel(<https://sourceforge.net/projects/openbabel/files/openbabel/2.4.1/>)用于格式转换,采用 AutoDock Vina 1.1.2 (Molecular Graphics Lab, <http://vina.scripps.edu/>)进行分子对接并打分。利用 Discovery Studio Visualizer 2020 对复合物进行受体蛋白与配体小分子的相互作用分析。

2 结果

2.1 活性化合物的筛选

在前期化学成分分析及文献研究的基础上,共从浙贝母花中收集了 211 个化合物,从枇杷花中收集了 128 个成分,然后将其中 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的化合物筛选出来;同时,为了弥补虚拟筛选的不足,结合文献检索结果,一些药代动力学性质相对较差,但有相关文献报道活性较好的成分也被纳入候选活性成分进一步研究。最终,共得到 20 个化合物作为候选活性分子,其中浙贝母花成分 11 个(编号 1~11),枇杷花成分 11 个(编号 11~20),共有成分 2 个(编号 10、11),包括了生物碱、三萜、黄酮、植物甾醇、脂肪油等多类化学成分(见表 1)。

2.2 化合物及疾病靶点的筛选

通过 GenCLiP 3 和 Drugbank 数据库检索,分别得到与咳嗽、痰相关的基因 365 个、130 个。通过 Swiss Target Prediction,分别预测了浙贝母花、枇杷花中成分作用靶点 61 个、117 个。通过在线韦恩图获得集合基因为 42 个,纳入研究对象(见图 1)。

表 1 浙贝母花—枇杷花中潜在活性化合物的基本信息

Table 1 Basic information of potential active compounds in FTF and EF

序号 No.	化学文摘号 CAS No.	化合物 Compound	口服生物利用度 OB(%)	类药性 DL	参考文献 Reference
1	18059-10-4	贝母素乙 Peiminine	59.52	0.67	
2	520-18-3	山柰酚 Kaempferol	43.55	0.24	
3	480-19-3	异鼠李素 Isorhamnetin	51.04	0.31	
4	23496-41-5	贝母素甲 Peimine	17.66	0.67	7,8
5	17331-71-4	异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖-7-O- α -L-鼠李糖苷 Brassidin	31.96	0.46	
6	22147-34-8	(E)-甲基酯-9-十八碳烯酸 Elaidic acid isopropyl ester	32.47	0.22	
7	544-35-4	亚油酸乙酯 Ethyl linoleate	42.00	0.19	
8	79551-86-3	20-羟基二十碳四烯酸 20-HETE	35.88	0.25	
9	10417-94-4	二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic acid	45.66	0.21	
10	83-46-5	β -谷甾醇 β -Sitosterol	36.91	0.76	
11	73123-10-1	槲皮素 Quercetin	46.43	0.28	
12	522-12-3	槲皮苷 Quercitrin	4.04	0.74	9
13	7235-40-7	β -胡萝卜素 β -Carotene	37.18	0.58	
14	81646-18-6	黄体黄质 Luteoxanthin	64.29	0.54	
15	508-02-1	齐墩果酸 Oleanolic acid	29.02	0.76	11,12
16	52213-27-1	2 α -羟基乌苏酸 2 α -Hydroxyursolic acid	18.56	0.74	11
17	4547-24-4	科罗素酸 Corosolic acid	18.56	0.74	10
18	4373-41-5	山楂酸 Maslinic acid	15.54	0.74	10
19	77-52-1	熊果酸 Ursolic acid	16.77	0.75	11,12
20	29883-15-6	苦杏仁苷 Amygdalin	4.42	0.61	9

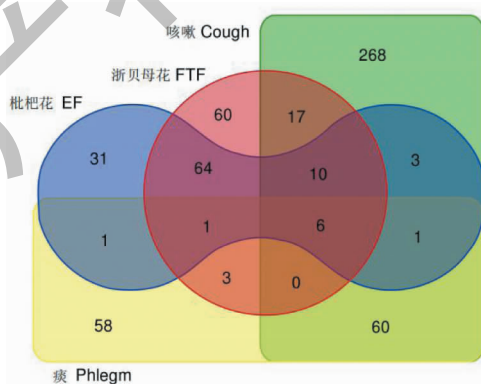


图 1 靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of targets

2.3 成分—靶点网络的构建及分析

通过 STRING 和 Cytoscape 构建了成分—靶点互作图。其中,菱形节点表示靶点,圆形节点表示成分,边表示成分与靶点、靶点与靶点之间的相互作用。

在互作网络中(图 2),作用靶点 PTGS2、AKT1、VEGFA、TNF 等是其中的关键基因(见表 2)。而山柰酚、贝母素乙、异鼠李素、槲皮素等药物成分可能网络中的关键成分(见表 3)。

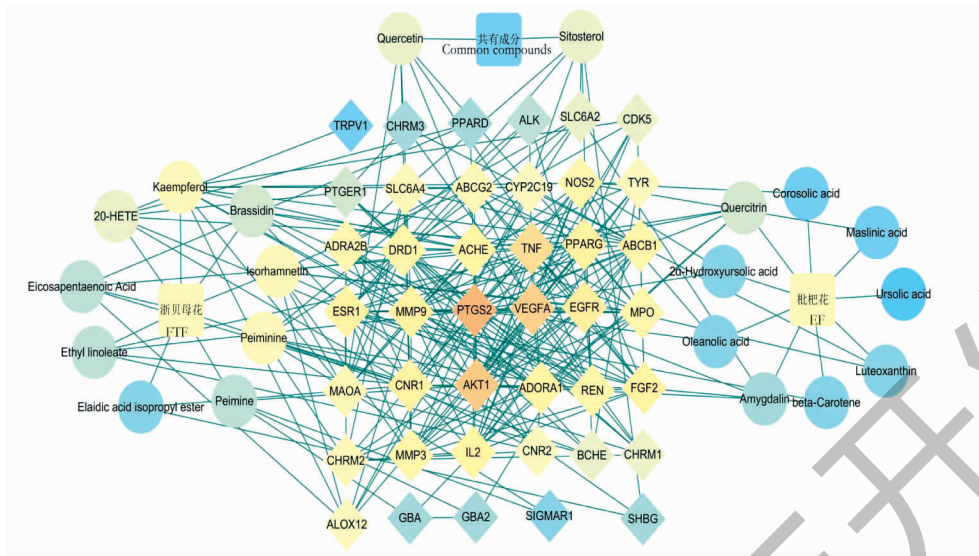


图2 成分-靶点互作网络图

Fig. 2 Component-target interaction network

注:菱形图示表示靶点;圆形图示表示成分;图示颜色越接近红色则表示度值越高。Note: Diamond represents targets; Ellipse represents components; Light color represents high degree.

表2 网络关键靶点的基本信息

Table 2 Basic information of key targets in FTF and EF

序号 No.	蛋白质数据库编号 Uniprot ID	靶点 Target	类型 Type	度 值 Degree	中介中心度 Betweenness centrality
1	P35354	环氧合酶-2 PTGS2	氧化还原酶	27	0.103
2	P31749	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 AKT1	激酶	24	0.046
3	P15692	血管内皮生长因子 A VEGFA	分泌蛋白	22	0.031
4	P01375	肿瘤坏死因子 TNF	分泌蛋白	20	0.017
5	P00533	表皮生长因子受体 EGFR	激酶	18	0.017
6	P09038	成纤维细胞生长因子2 FGF2	分泌蛋白	17	0.014
7	P03372	雌激素受体 α ESR1	核受体	17	0.043
8	P37231	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ PPARG	核受体	17	0.027
9	P14780	基质金属蛋白酶-9 MMP9	蛋白酶	17	0.050
10	P21554	大麻素受体1 CNR1	G 蛋白偶联受体	17	0.050
11	P60568	白细胞介素-2 IL2	分泌蛋白	16	0.017
12	P22303	乙酰胆碱酯酶 ACHE	水解酶	16	0.027
13	P30542	腺苷受体 A1 ADORA1	G 蛋白偶联受体	16	0.045
14	P08183	ATP 依赖性转位酶 ABCB1	主动转运蛋白	14	0.011
15	P21728	D(1A) 多巴胺受体 DRD1	G 蛋白偶联受体	14	0.014
16	P00797	肾素 REN	蛋白酶	14	0.008
17	P35228	诱导型一氧化氮合酶 NOS2	酶	13	0.067
18	P08254	溶血素-1 MMP3	蛋白酶	13	0.006
19	P05164	髓过氧化物酶 MPO	酶	13	0.011
20	P18089	α -2B 肾上腺素能受体 ADRA2B	G 蛋白偶联受体	12	0.027

表3 网络关键成分的基本信息

Table 3 Basic information of key compounds in FTF and EF

序号 No.	化合物 Compound	度值 Degree	中介中心度 Betweenness centrality
1	山柰酚 Kaempferol	10	0.010
2	贝母素乙 Peiminine	10	0.013
3	异鼠李素 Isorhamnetin	9	0.008
4	槲皮素 Quercetin	7	0.019
5	β -谷甾醇 β -Sitosterol	7	0.016
6	20-羟基二十碳四烯酸 20-HETE	7	0.008
7	槲皮苷 Quercitrin	6	0.019
8	异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖-7-O- α -L-鼠李糖苷 Brassidin	6	0.004
9	二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic Acid	5	0.003
10	亚油酸乙酯 Ethyl linoleate	5	0.003
11	贝母素甲 Peimine	5	0.004
12	苦杏仁苷 Amygdalin	4	0.012
13	2 α -羟基乌苏酸 2 α -Hydroxyursolic acid	3	0.005
14	齐墩果酸 Oleanolic acid	3	0.005
15	黄体黄质 Luteoxanthin	3	0.008
16	β -胡萝卜素 β -Carotene	3	0.010
17	(E)-甲基乙酯-9-十八碳烯酸 Elaidic acid isopropyl ester	3	0.002
18	山楂酸 Maslinic acid	2	0.001
19	科罗索酸 Corosolic acid	2	0.001
20	熊果酸 Ursolic acid	1	0.000

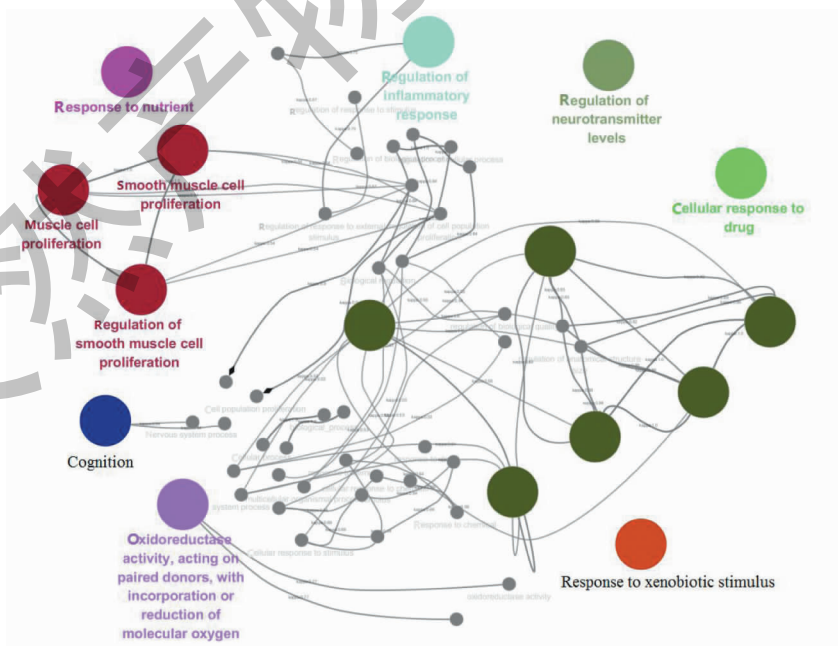


图3 GO功能富集分析图

Fig. 3 GO functional enrichment analysis

2.4 GO 富集分析和 KEGG 通路注释分析

GO 功能富集分析表明,药物可通过调节对外来刺激的反应(GO:9410)、认知(GO:50890)、调节炎症反应(GO:50727)等发挥止咳化痰作用(见图 3

和表 4)。其中,在统计学中,随着检验次数的增加,错误拒绝原假设的概率即 I 型错误率大大增加。Bonferroni 校正是统计学上减少 I 类错误的方法,因此采用 Bonferroni 校正 P 值作为主要参考依据。

表 4 GO 功能富集分析

Table 4 GO functional enrichment analysis

序号 No.	GO 编号 GO ID	功能表述 Description	P 值 P value	Bonferroni 校正 P 值 Bonferroni-corrected P value
1	9410	对外来刺激的反应	2.069 96E-09	2.069 96E-09
2	50890	认知	1.825 27E-10	5.475 81E-10
3	7584	对营养素的反应	2.461 02E-10	4.922 04E-10
4	16705	氧化还原酶活性,作用于配对供体,掺入或还原分子氧	1.160 16E-10	4.640 65E-10
5	33002	肌肉细胞增殖	2.668 06E-11	1.334 03E-10
6	48660	调节平滑肌细胞增殖	7.897 53E-13	5.528 27E-12
7	48659	平滑肌细胞增殖	9.071 23E-13	5.442 74E-12
8	50727	调节炎症反应	6.355 05E-14	6.355 05E-13
9	35690	细胞对药物的反应	6.653 40E-14	5.988 06E-13
10	1505	神经递质水平调节	7.077 92E-14	5.662 34E-13
11	35296	管径调节	3.539 17E-14	4.247 00E-13
12	97746	血管直径调节	3.539 17E-14	4.247 00E-13
13	35150	管尺寸调节	3.802 31E-14	4.182 55E-13
14	3018	循环系统中的血管过程	8.063 22E-16	1.048 22E-14
15	8015	血液循环	4.553 4E-18	6.374 76E-17
16	3013	循环系统过程	8.729 97E-20	1.309 50E-18

KEGG 通路富集分析表明,脂肪细胞脂解调节(regulation of lipolysis in adipocytes)、VEGF (VEGF signaling pathway)、花生四烯酸代谢(arachidonic

acid metabolism)、非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer)等信号通路可能是药物发挥作用的重要通路(见图 4 和表 5)。

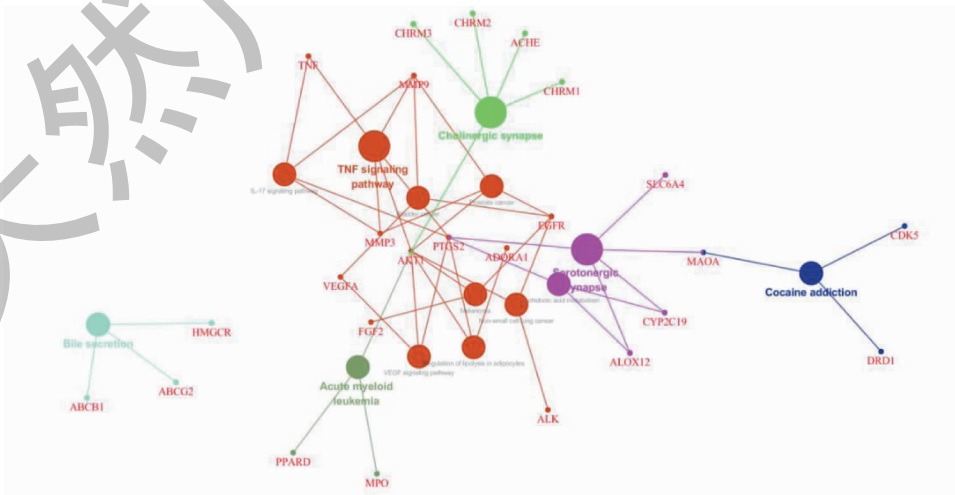


图 4 KEGG 通路富集分析图

Fig. 4 KEGG pathway enrichment analysis

表 5 KEGG 通路富集分析
Table 5 KEGG pathway enrichment analysis

序号 No.	编号 KEGG ID	通路 Pathway	基因比例 Gene ratio (%)	P 值 P value	Bonferroni 校正 P 值 Bonferroni- corrected P value
1	4923	脂肪细胞脂解调节 Regulation of lipolysis in adipocytes	5.36	2.46E-03	1.48E-02
2	4370	VEGF 信号通路 VEGF signaling pathway	5.08	2.86E-03	1.43E-02
3	590	花生四烯酸代谢 Arachidonic acid metabolism	4.76	3.45E-03	1.38E-02
4	5223	非小细胞肺癌 Non-small cell lung cancer	4.55	3.93E-03	1.18E-02
5	5030	可卡因成瘾性 Cocaine addiction	6.12	1.68E-03	1.17E-02
6	5219	膀胱癌 Bladder cancer	7.32	9.96E-04	9.96E-03
7	4657	白介素-17 信号通路 IL-17 signaling pathway	4.26	1.06E-03	9.55E-03
8	5215	前列腺癌 Prostate cancer	4.12	1.19E-03	9.55E-03
9	5221	急性髓系白血病 Acute myeloid leukemia	4.48	4.10E-03	8.21E-03
10	4976	胆汁分泌 Bile secretion	4.17	5.02E-03	5.02E-03
11	5218	黑色素瘤 Melanoma	4.17	5.02E-03	5.02E-03
12	4668	肿瘤坏死因子信号通路 TNF signaling pathway	4.46	1.91E-04	2.48E-03
13	4725	胆碱能突触 Cholinergic synapse	4.42	1.99E-04	2.39E-03
14	4726	5-羟色胺能突触 Serotonergic synapse	4.35	2.16E-04	2.38E-03

2.5 分子对接

采用 Autodock Vina 等软件将浙贝母花—枇杷花药对中的 20 个成分分别与互作网络中的 4 个关键靶点 PTGS2 (PDB ID: 5F1A)、AKT1 (PDB ID: 4EJN)、VEGFA (PDB ID: 4KZN)、TNF (PDB ID: 2AZ5) 进行对接并打分(单位为 kcal/mol)。根据 Drugbank 检索结果,以前列腺素 E2 (CID: 5280360)、前列环素 (CID: 5282411) 作为 PTGS2 (PDB ID: 5F1A) 的阳性对照药物,妥布霉素 (CID: 36294)、利多卡因 (CID: 3676) 作为 AKT1 (PDB ID: 4EJN) 的阳性对照药物,尿囊素 (CID: 204)、左薄荷脑 (CID: 16666) 作为 VEGFA (PDB ID: 4KZN) 的药

性对照药物,氮卓斯汀 (CID: 2267)、泊马度胺 (CID: 134780) 作为 TNF (PDB ID: 2AZ5) 的阳性对照药物。

由表 6 可知,贝母素乙、贝母素甲、科罗索酸、2 α -羟基乌苏酸、熊果酸、槲皮苷等对 4 个靶点的亲和力和较强。

以与靶点结合较好的几个成分为例,进行受体—配体相互作用分析。对贝母素甲和 PTGS2、贝母素乙和 AKT1、齐墩果酸和 VEGFA、科罗索酸和 TNF 的对接情况分析,结果表明受体蛋白与小分子配体之间主要是氢键、Pi-Sigma、烷基和 Pi-烷基等作用(见图 5)。

表 6 分子对接结果
Table 6 Scores of molecular docking

化合物 Compound	PTGS2 (5F1A)	AKT1 (4EJN)	VEGFA (4KZN)	TNF (2AZ5)
贝母素乙 Peiminine	-7.1	-12.1	-4.9	-9.7
贝母素甲 Peimine	-8.0	-9.7	-5.0	-9.1
科罗索酸 Corosolic acid	-6.2	-9.9	-4.9	-10.0
2 α -羟基乌苏酸 2 α -Hydroxyursolic acid	-6.4	-9.3	-4.9	-10.0
熊果酸 Ursolic acid	-6.0	-9.4	-4.9	-10.0
槲皮苷 Quercitrin	-5.3	-11.1	-4.6	-8.6
山楂酸 Maslinic acid	-6.1	-8.8	-4.8	-9.3

续表 6(Continued Tab. 6)

化合物 Compound	PTGS2 (5F1A)	AKT1 (4EJN)	VEGFA (4KZN)	TNF (2AZ5)
β -谷甾醇 β -Sitosterol	-5.5	-11.0	-4.2	-8.2
齐墩果酸 Oleanolic acid	-5.7	-8.0	-5.1	-9.7
异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖-7-O- α -L-鼠李糖苷 Brassidin	-5.4	-10.2	-4.5	-7.4
槲皮素 Quercetin	-5.6	-9.4	-4.6	-7.8
苦杏仁苷 Amygdalin	-6.1	-8.6	-4.6	-7.6
山柰酚 Kaempferol	-5.4	-9.1	-4.7	-7.3
异鼠李素 Isorhamnetin	-5.5	-9.2	-4.5	-7.2
二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic Acid	-4.7	-7.3	-3.6	-6.3
20-羟基二十碳四烯酸 20-HETE	-4.6	-7.2	-3.3	-6.0
(E)-甲基乙酯-9-十八碳烯酸 Elaidic acid isopropyl ester	-4.4	-6.4	-3.5	-5.6
亚油酸乙酯 Ethyl linoleate	-4.2	-6.5	-3.1	-5.4
β -胡萝卜素 β -Carotene	-	-8.4	-	4.0
黄体黄质 Luteoxanthin	-	-10.0	-	5.9
前列腺素 E2 Prostaglandin E2	-4.8	-	-	-
前列环素 Prostacyclin	-5.3	-	-	-
妥布霉素 Tobramycin	-	-7.5	-	-
利多卡因 Lidocaine	-	-7.1	-	-
尿囊素 Allantoin	-	-	-3.9	-
左薄荷脑 L-Menthol	-	-	-3.8	-
氮卓斯汀 Azelastine	-	-	-	-8.6
泊马度胺 Pomalidomide	-	-	-	-7.0

3 结论

中医药中“止咳化痰”是一个比较广泛的概念,本文中只对其中狭义的镇咳作用和化痰相关药理作用进行研究。本研究采用网络药理学的方法,对浙贝母花-枇杷花止咳化痰的作用机制进行了探讨,两者共有 20 个活性成分,作用于 42 个靶点,可以映射到 14 条代谢通路中。从成分-靶点的互作网络分析,浙贝母花与枇杷花两者均富含的黄酮类成分可能是其主要活性成分,如槲皮素、山柰酚、异鼠李素被证明是红旱莲、猫眼草、红管药、鸡素苔、矮地茶等具有止咳化痰中草药的活性成分,有着止咳、祛痰、平喘等多种药理作用^[7]。而从分子对接的结果来看,浙贝母花中的生物碱类成分和枇杷花中的三萜类成分也起到了重要作用。贝母素甲和贝母素乙的具有很好的镇咳作用^[8]。乌苏酸、2 α -羟基齐墩果酸具有止咳和抗炎作用^[9]。不同成分可对同一靶点或同一信号通路的上下游基因共同产生作用,推测可能是其配伍使用增强疗效的机制之一。

从网络中的主要作用靶点分析,PTGS2 可以将花生四烯酸转化为前列腺素 H2 (PGH2),与气道炎症密切相关^[10]。AKT1 抑制 AKT 磷酸化可以减弱人支气管平滑肌增殖,以减轻气道重塑^[11]。MUC5AC 是哮喘中过量产生的主要粘蛋白糖蛋白,而 VEGF 可以上调 MUC5AC,与哮喘患者的炎症和气道血管重塑有关^[12]。TNF- α 与气道炎症及皮质类固醇耐药密切相关^[13]。通过通路富集分析发现,主要涉及的是炎症免疫相关通路,主要是抑制气道炎症,如花生四烯酸代谢、白介素-17 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路^[14];影响气道重塑和黏液分泌过多,如 VEGF 信号通路^[15]。浙贝母花-枇杷花中成分与关键靶点 PTGS2、AKT1、VEGFA、TNF 分子对接结果部分验证了网络药理学的预测,说明其中的生物碱类、三萜类、黄酮类成分是药对中的主要药效成分。

综上所述,浙贝母花-枇杷花药对止咳化痰的主要机制为作用于 VEGF、花生四烯酸代谢、白介素-

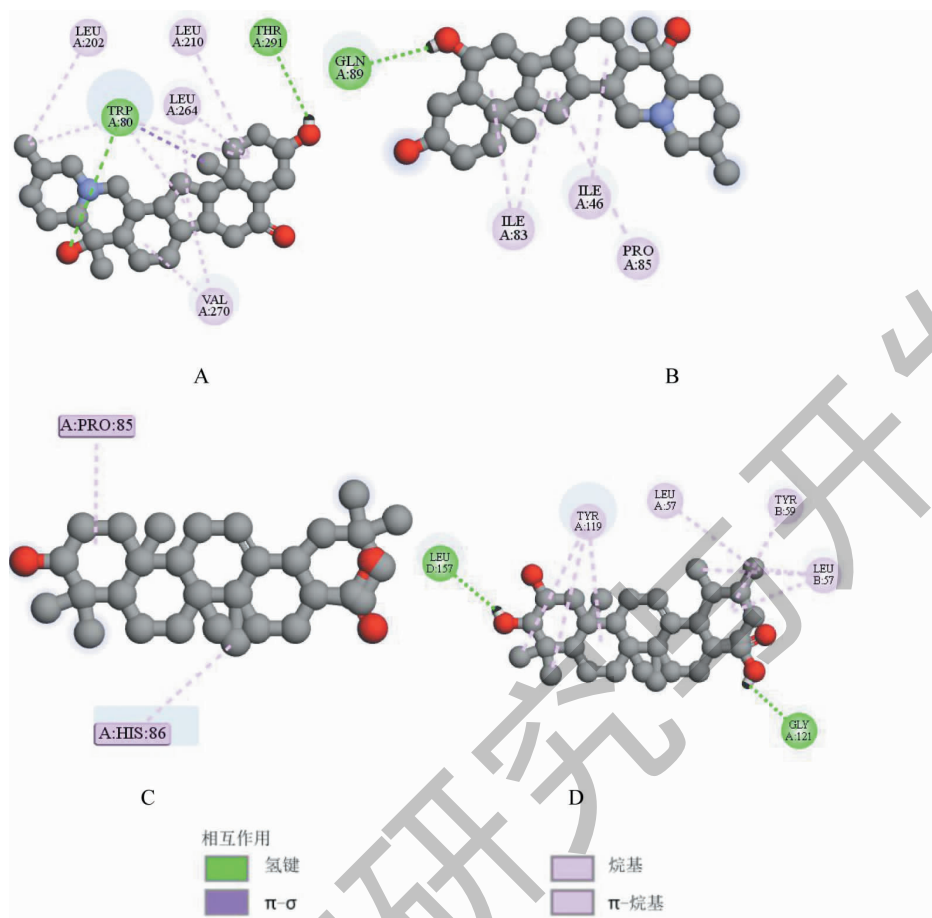


图5 蛋白及其配体的相互作用图

Fig. 5 Interaction of proteins and ligands

注:A:贝母素甲和PTGS2;B:贝母素乙和AKT1;C:齐墩果酸和VEGFA;D:科罗索酸和TNF。Note:A:Peimine and PTGS2;B:Peiminine and AKT1;C:Oleanolic acid and VEGFA;D:Corosolic acid and TNF.

17、肿瘤坏死因子等信号通路,作用于PTGS2、AKT1、VEGFA、TNF等靶点;从而抑制呼吸道炎症,减少黏液分泌,抑制气道重塑,产生止咳化痰的作用。本文仅从网络预测,未考虑到各成分的含量及在合用时成分之间的变化,结果仍需进一步的验证。

参考文献

- 1 Wang HH, Chen HJ, Wang Q, et al. Production of healthy beverage of *Fritillaria thunbergii* flower and Ninghaibai loquat flower and evaluation of its cough relieving effect[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2018, 39(8): 173-177.
- 2 Cui MC, Zhang JY, Chen SJ, et al. Identification of alkaloids and flavonoids in all parts of *Fritillaria thunbergii* using LC-LTQ-Orbitrap MSⁿ[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2016, 41: 2124-2130.
- 3 Cui MC, Chen SJ, Wang HH, et al. Metabolic profiling inves-

tigation of *Fritillaria thunbergii* Miq. by gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Food Drug Anal, 2018, 26(1): 337-347.

- 4 Wang HH, Ruan HS, Chen Y. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of flowers of *Eriobotrya japonica*[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2019, 41: 2977-2981.
- 5 Wang HH, Yang XC, Cui MC, et al. Antitussive and expectant effort of *Fritillariae Thunbergii* Flos-*Eriobotryae* Flos[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2017, 39: 1921-1923.
- 6 Wang HH, Yang XC, Cui MC, et al. Anti-inflammatory and antibacterial effect of *Fritillariae Thunbergii* Flos-*Eriobotryae* Flos[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2018, 40(1): 46-50.
- 7 Fan Y, Le S, Li JX, et al. In silico approach for anti-thrombosis drug discovery: P2Y1R structure-based TCMS screening [J]. Front Pharmacol, 2017, 7: 531.

(下转第 321 页)