

基于网络药理学探讨桂枝汤解热作用机制及药效物质基础

吴晓霞¹, 张立石², 高焕³, 宋剑南², 柏冬^{2*}

(1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700;

2. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700; 3. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712083)

[摘要] **目的:**基于网络药理学探讨桂枝汤解热作用的机制及药效物质基础;**方法:**利用 ChemDraw 绘制预测桂枝汤中化合物的结构,使用 Swiss Target Prediction 数据库搜索以上成分对应的靶点。使用 Ingenuity Pathway Analysis(IPA)软件,寻找发热相关的基因。使用 IPA 软件分析桂枝汤中成分、发热相应靶点共同的通路。利用 Cytoscape 建立成分-靶点-通路网络,寻找主要药效成分。**结果:**建立了桂枝汤中主要成分与其靶点的网络图。使用 IPA 软件发现桂枝汤发热作用与以下 6 个通路相关:G 蛋白偶联的受体信号,环磷酸腺苷(cAMP)介导的信号传导,G α s 信号,G α i 信号,腺苷酸活化水蛋白激酶(AMPK)信号,褪黑激素降解通路。桂枝汤中芍药苷代谢物 I,环磷酸腺苷与解热作用相关。**结论:**基于网络药理学探讨了桂枝汤解热作用的相关通路,预测了桂枝汤入血成分中芍药苷代谢物 I,环磷酸腺苷可能与解热作用相关。研究结果主要基于化学预测,还需要进一步实验验证。

[关键词] 桂枝汤; 解热; 网络药理学; 机制; 药效

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)15-0190-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181536

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180517.1705.005.html>

[网络出版时间] 2018-05-18 13:55

Antipyretic Mechanism of Guizhitang and Its Effective Components Based on Network Pharmacology

WU Xiao-xia¹, ZHANG Li-shi², GAO Huan³, SONG Jian-nan², BAI Dong^{2*}

(1. Medical Experiment Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Institute of Basic Theory, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 712083, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the antipyretic mechanism of Guizhitang and its effective components based on network pharmacology. **Method:** The structure of components in Guizhitang was predicted by ChemDraw Ultra 9.0. The targets of these components were searched by Swiss Target Prediction database. Ingenuity Pathway Analysis (IPA) software was used for seeking fever-related targets. The common pathways of components in Guizhitang and fever related targets were analyzed also by IPA software. The effective components were found through the Guizhitang components-target-pathway network built by Cytoscape software. **Result:** The Guizhitang components-target-pathway network was built. The antipyretic effect of Guizhitang was found to be correlated with the following 6 pathways, namely G protein-coupled receptor signal, cyclic adenosine monophosphate (cAMP) - mediated signal transduction, G α s signal, G α i signal, adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase (AMPK) signal and melatonin degradation. Paeonimetalin I and cAMP were identified as antipyretic related components in Guizhitang. **Conclusion:** Based on the network pharmacology, relevant pathway of the antipyretic effect of Guizhitang is discussed. Paeonimetalin I and cAMP may be related to the antipyretic effect in the blood.

[收稿日期] 20180212(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81403282);北京市自然科学基金项目(7133251)

[第一作者] 吴晓霞, 硕士, 助理研究员, 从事中医基础理论研究, E-mail: xiaoxia2311@sina.com

[通信作者] * 柏冬, 博士, 副研究员, 从事中药药效物质基础研究工作, Tel: 010-64089019, E-mail: baidong2000@126.com

components of Guizhitang. However, the findings are mainly based on chemical prediction, which needs further experimental verification.

[Key words] Guizhitang; antipyretic; network pharmacology; mechanism; effective

桂枝汤出自《伤寒论》，在临床治疗中使用十分广泛。桂枝汤具有解肌发表、调和营卫等功效。现代药理研究发现桂枝汤对体温具有双向调节作用^[1]，但桂枝汤解热作用的机制并不明确。中药及其复方具有多成分、多靶点、协同作用的特点。传统分离、活性追踪方法割裂了化合物之间、疾病靶点之间的联系，容易造成化合物越纯、活性越低的现象。网络药理学融合了系统生物学、多向药理学、计算生物学、网络分析等多学科的技术和内容，可以进行“疾病-表型-基因-药物”多层次网络的构建，从整体的角度去探索药物与疾病间的关系。网络药理学具有整体性、系统性的特点，这与中医药整体观与辨证论治的原则相吻合^[2]。常见的网络药理学研究中仅使用药物中的原型成分进行研究，与中药口服后经消化、吸收进入血液，成分发生较大变化的事实并不符合。本研究基于桂枝汤原型成分及其代谢成分，利用网络药理学方法寻找桂枝汤解热作用的机制与药效物质基础，以求更加深入了解桂枝汤方剂的内在含义。

1 方法

1.1 桂枝汤主要入血成分及其结构的确定 桂枝汤由桂枝、白芍、生姜、大枣、甘草组成。参考血清药理学方法，口服中药的药效物质基础存在于经消化道消化、吸收进入血液的成分中。本文主要选取桂枝汤中含量较高的成分及其体内代谢产物预测桂枝汤体内药效作用的靶点。

桂枝中主要成分为肉桂酸、桂皮醛。桂皮醛为挥发性成分，在煎煮过程中损失较多^[3]，而且进入消化道后，很快被吸收转化为肉桂酸^[4]。肉桂酸在体内经酶主要代谢为马尿酸，故桂枝中成分选取肉桂酸和马尿酸。

白芍中主要成分为芍药苷和芍药内酯，有报道两个成分可以相互转化^[5]。芍药苷不容易吸收进入血液，在体内主要代谢产物为 paeonimetabolin I^[6]，故选取白芍中成分选取芍药苷、芍药苷内酯和 paeonimetabolin I。

甘草中主要成分为黄酮类的甘草苷、异甘草苷以及三萜皂苷类的甘草酸。甘草苷在体内经肠道菌群容易代谢为甘草素，经酶转化为葡萄糖醛酸结合物^[7]。甘草酸在体内经肠道菌群转化为甘草次酸。

故甘草中选择甘草苷、甘草素、甘草素葡萄糖醛酸结合物(甘草素 2 个羟基均可能连接葡萄糖醛酸，有 2 个同分异构体)；异甘草苷、异甘草素、异甘草素葡萄糖醛酸结合物(异甘草素 2 个羟基均可能连接葡萄糖醛酸，有 2 个同分异构体)；甘草酸和甘草次酸。

大枣参考药典和文献选择其中芦丁^[8]、环磷酸腺苷。齐墩果酸为脂溶性成分，故未列入。参考黄酮类成分代谢过程，选择芦丁、槲皮素以及葡萄糖醛酸结合物(槲皮素含有 4 个酚羟基可以连接葡萄糖醛酸，共有 4 个同分异构体)。

生姜选择 6-姜酚，其在血中的主要代谢产物也是葡萄糖醛酸结合物^[9]，故选择 6-姜酚及其葡萄糖醛酸结合物。

以上成分在之前桂枝汤入血成分研究中也均被发现^[10]。确定以上成分后，利用 ChemDraw Ultra 9.0 绘制以上代谢物的分子结构，文件类型保存为 sdf 和 mol 两种格式，利用 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获得各化合物 SMILES。

1.2 桂枝汤中主要入血成分作用靶点的预测 本文利用 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)，根据化合物 2D and 3D 相似性方法查找以上化合物的相关靶点^[11]，Organism 选择 Homo Sapiens。整理以上各化合物对应的靶点。

1.3 发热相关靶点的整理 使用 Ingenuity Pathway Analysis (IPA) 软件，在 DISEASE & FUNCTION 项下搜索“FEVER”，获得与发热相关的靶点。

1.4 建立桂枝汤成分-靶点-发热相关通路网络 使用 IPA 软件 Core pathway 分析中的 Comparison Analysis 功能，分析桂枝汤中成分、发热相关靶点对应的 pathway，寻找两者共同的通路，即为桂枝汤解热作用相关通路。

利用 Cytoscape(版本 3.2.1) 建立成分-靶点-通路网络，寻找各成分对应通路及相应 degree 值，确定桂枝汤解热作用主要药效成分。

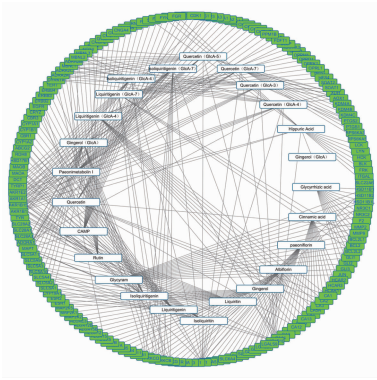
2 结果

2.1 桂枝汤中主要成分结构及其对应靶点 桂枝汤中主要成分及其对应靶点详细信息见表 1。利用 Cytoscape 建立桂枝汤中主要成分与其靶点的网络图，见图 1。

表 1 桂枝汤中主要成分结构及其对应靶点

Table 1 Components in Guizhitang and its corresponding targets

成分	靶点
肉桂酸(cinnamic acid)	HCAR2, HCAR3, HCAR1, CA1, CA2, CA3, CA5A, CA7, CA13, CA5B, CA12, CA4, CA9, CA14, AKR1B10
马尿酸(hippuric acid)	AKR1B10, AKR1B1, AKR1B15, LCK, FYN, LYN, HCK, BLK, YES1, FGR, SRC, FRK, ITGAL&ICAM1&ITGB2, SLC22A6, SLC22A10
芍药苷(paeoniflorin)	Gene Code, LGALS9, LGALS3, LGALS9B, LGALS9C, SLC6A2, SLC6A9, SLC6A3, SLC6A4, SLC6A7, SLC6A14, SLC6A5, TDP1, RYR1, RYR3, LCE3A
芍药内酯(albiflorin)	LGALS9, LGALS3, LGALS9B, LGALS9C, PTAFR, PRKCG, PRKCB, PRKCA, PRKCQ, PRKCD, ABCB1, ABCB11, ABCB4, ABCB5, TDP1
芍药苷代谢物(paeonimetabolin I)	TDP1, MAPT, GLRA3, GLRA1, GLRA2, GLRA4, GLRB, CHRM1, CHRM3, CHRM4, CHRM5, PPM1B, PPM1A, MBNL1, MBNL2
姜酚(6-gingerol)	HTR1A, HTR1B, ALOX5, ALOX15, ALOX12, ALOX15B, ALOX12B, ALOXE3, MAP2K2, MAP2K1, MAP2K5, ESR1, ESR2, HSD11B1, HSD11B1L
姜酚葡萄糖醛酸结合物[6-gingerol (glu acid)]	SLC5A1, SLC5A2, SLC5A11, SLC5A4, SLC5A10, SLC5A3, SLC5A9, ADORA1, DFDT1, PRKCG, PRKCB, PRKCA, PRKCQ, PRKCD, SELP
芦丁(rutin)	DYRK1A, ADRA2A, ADRA2C, MBNL1, ADRA2B, MBNL2, MBNL3, AKR1B1, AKR1B15, AKR1B10, TDP1, NOX4, AKR1A1, AKR1E2, NQO2
槲皮素(querctetin)	CA12, EGFR, CA1, CA2, PLA2G1B, ERBB2, MPO, CYP1A2, CDK1, CA3, PRSS1, MMP2, MMP3, ALOX5, MAPT
槲皮素 5-OH 葡萄糖醛酸结合物 [querctetin-5OH (glu acid)]	AKR1B1, AKR1B15, AKR1B10, TDP1, AKR1A1, AKR1E2, XDH, AOX1, ADRA2A, ADRA2C, ADRA2B, DYRK1A, NOX4, MBNL1, MBNL2
槲皮素 7-OH 葡萄糖醛酸结合物 [querctetin-7OH (glu acid)]	XDH, AOX1, AKR1B1, AKR1B15, AKR1B10, TDP1, AKR1A1, AKR1E2, KDM4A, KDM4B, KDM4C, PTGS2, PTGS1, RPS6KA3, RPS6KA5
槲皮素 3'-OH 葡萄糖醛酸结合物 [querctetin-3'OH (glu acid)]	TDP1, AKR1B1, AKR1B15, AKR1B10, AKR1A1, AKR1E2, XDH, AOX1, DYRK1A, ADRA2A, ADRA2C, ADRA2B, PTGS1, PTGS2, MBNL1
槲皮素 4'-OH 葡萄糖醛酸结合物 [querctetin-4'OH (glu acid)]	TDP1, AKR1B1, AKR1B15, AKR1B10, AKR1A1, AKR1E2, XDH, AOX1, MBNL1, MBNL2, MBNL3, DYRK1A, ADORA1, ADRA2A, ADRA2C
甘草苷(liquiritin)	CYP19A1, SLC5A1, SLC5A2, SLC5A4, SLC5A10, SLC5A3, SLC5A9, SLC5A11, MAPT, TDP1, ADORA1, SLC28A3, SLC28A1, SLC28A2, TYR
甘草素(liquiritigenin)	MAPT, MAOA, MAOB, CYP19A1, TDP1, HSD17B1, RDH8, ABCG2, CYP1A2, CBR1, CYP1B1, CYP1A1, CBR3, ESR1, ESR2
甘草素 4-OH 葡萄糖醛酸结合物 [liquiritigenin-4 OH (glu acid)]	CYP19A1, ADORA1, MAPT, CA12, CA1, CA2, CA3, CA5A, CA7, CA13, CA14, CA5B, ADORA3, MMP1, MMP3
甘草素 7-OH 葡萄糖醛酸结合物 [liquiritigenin-7 OH (glu acid)]	MAPT, OPRM1, OPRD1, OPRK1, OPRL1, HES1, HES4, SOAT2, SOAT1, BCL2L1, BCL2, BCL2L2, PRKCB, PRKCA, PRKCD
异甘草苷(isoliquiritin)	AKR1B10, AKR1B1, AKR1B15, AKR1A1, AKR1E2, TDP1, MAPT, TYR, TYRP1, DCT, SLC5A1, SLC5A2, SLC5A4, SLC5A10, SLC5A3
异甘草素(isoliquiritigenin)	CRYZ, AKR1B10, AKR1B1, AKR1B15, MAPT, AKR1A1, AKR1E2, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, TERT, ABCG2, MAOA, MAOB
异甘草素 4-OH 葡萄糖醛酸结合物 [isoliquiritigenin-4 OH (glu acid)]	AKR1B10, AKR1B1, AKR1B15, AKR1A1, AKR1E2, TDP1, TYR, TYRP1, DCT, MAPT, MBNL1, MBNL2, MBNL3, PRKCG, PRKCB
异甘草素 7-OH 葡萄糖醛酸结合物 [isoliquiritigenin-7 OH (glu acid)]	AKR1B10, AKR1B1, AKR1B15, AKR1A1, AKR1E2, TDP1, TYR, TYRP1, DCT, PRKCG, PRKCB, PRKCA, PRKCD, PRKCQ, MAPT
甘草酸(glycyrrhizic acid)	HSD11B1, HSD11B2, HSD11B1L, NR3C1, NR3C2, F2, MMP2, MMP9, BCL2L1, BCL2, BCL2L2, GLI1, GLI2, GLI3, JUN
甘草次酸(glycyrrhetic acid)	AKR1B10, PRKCH, HSD11B1, PTPN6, HSD11B2, PTPN11, AKR1B15, AKR1B1, AKR1A1, AKR1E2, PRKCE, HSD11B1L, AR
环磷腺苷(cAMP)	CNGA2, Q13370, CNGA1, CNGA3, CNGA4, PDE8B, PDE8A, RNASEL, MAPT, FBP1, SRC, FBP2, FYN, YES1, FGR



蓝色为桂枝汤中成分,绿色为相关靶点

图 1 桂枝汤主要成分-靶点网络

Fig.1 Network of protein targets of Guizhitang

2.2 发热相关靶点的寻找及其相互关系网络的构建 通过 IPA 软件,以 FEVER 为检索词,检索 Disease & Function,共得到 392 个基因。利用 Cytoscape 建立发热相关靶点相互关系网络。见图 2。

2.3 桂枝汤成分-发热靶点-通路网络的构建 使用 IPA 软件,将桂枝汤主要成分对应靶点、发热相关靶点,通过 IPA 软件的 canonical pathway 及 Comparison analysis 功能,对比桂枝汤与发热相关靶点作用的生物学通路,发现二者均与以下 7 个通路相关。见图 3。

使用 Cytoscape,利用 Merge 功能整合桂枝汤主要成分-靶点网络图和发热相关靶点相互关系网络,建立桂枝汤成分-发热相关靶点-通路网络图。见图 4。

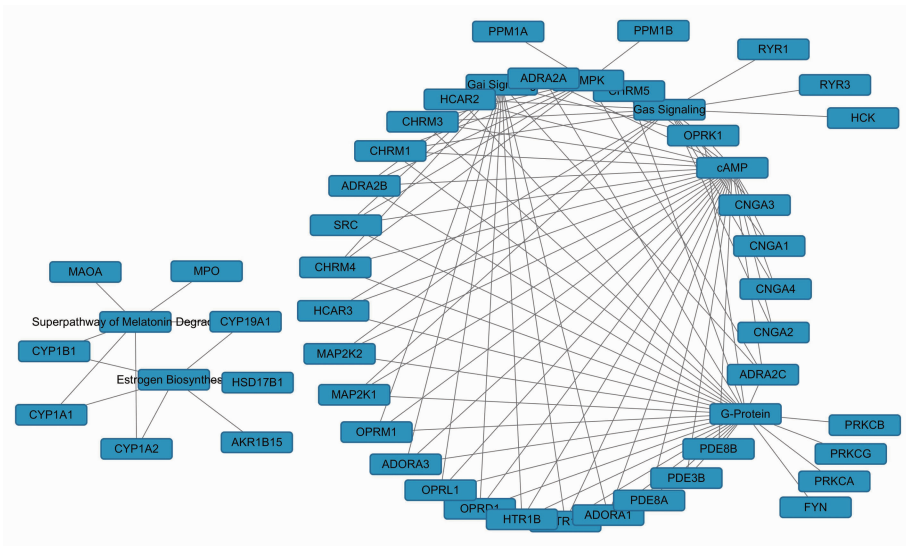
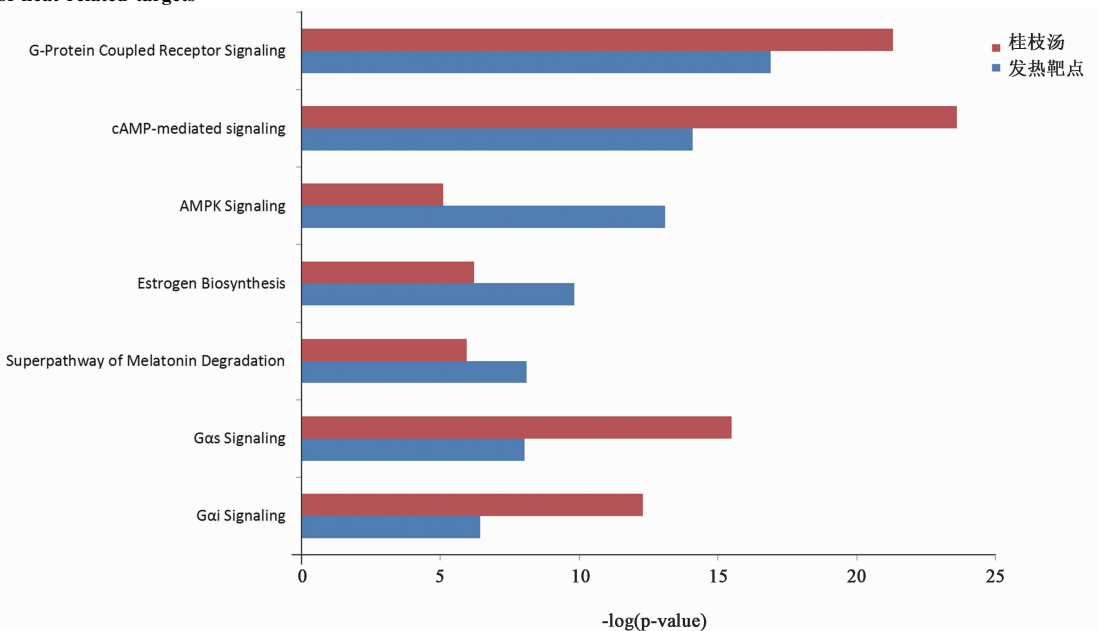


图 2 发热相关靶点相互关系网络

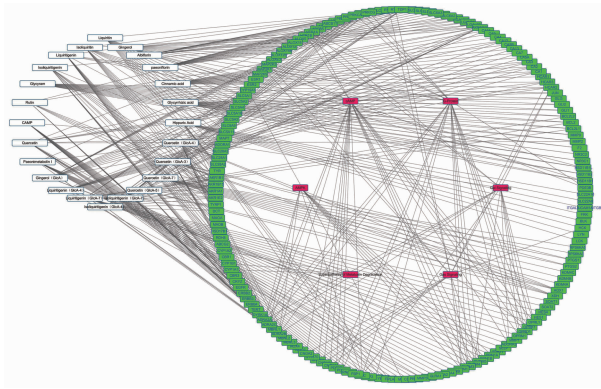
Fig.2 Network of heat-related targets



红色为桂枝汤中成分对应相关通路;蓝色为发热靶点相关通路

图 3 桂枝汤主要成分与发热靶点共同对应的通路

Fig.3 Common pathways between components of Guizhitang related targets and fever related targets



蓝色为成分;绿色为发热相关靶点;红色为通路

图 4 桂枝汤成分-发热相关靶点-通路网络

Fig. 4 Network of Guizhitang components related targets of fever and corresponding pathways

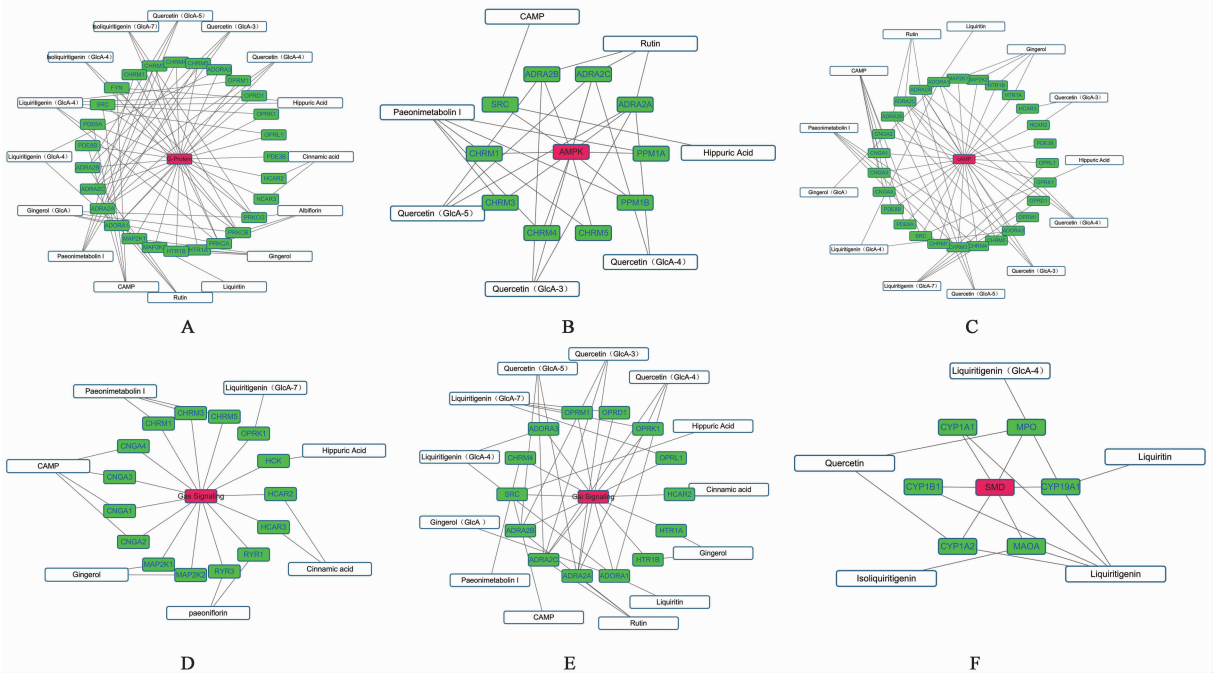
分别建立各自通路的成分-靶点网络,见图 5。

2.4 桂枝汤加热作用物质基础的寻找 寻找桂枝汤中主要成分-发热相关靶点网络的自由度值 (degree 值)。自由度值表示一个节点在蛋白相互作用网络中与该节点直接相互作用的节点的数目,节点的度越大则其参与的生物功能越多,其生物学重要性越强。见图 4,5 及表 2。

通过总结可见,桂枝汤中芍药苷代谢物 I,环腺苷活性较强,而桂枝汤中的原型成分甘草酸、芍药苷的在发热模型中没有显示出较好的药效。

3 讨论

发热不属于疾病,是机体对疾病的一种反应。神经系统协同免疫系统共同作用,宿主对前炎症介



A. G-protein coupled receptor 信号通路;B. AMPK 信号通路;C. cAMP-mediated 信号通路;D. Gαs 信号通路;E. Gαi 信号通路;F. superpathway of melatonin degradation

图 5 各通路相关的桂枝汤成分-发热相关靶点成分网络

Fig. 5 Network of Guizhitang components related targets of fever of 6 pathways

质损害所做出的一种适应性反应,以体温升高为特点^[12]。桂枝汤解肌发表、调和营卫,对于外感发热具有很好的疗效。本文筛选出 6 种与炎症有关的桂枝汤治疗发热作用的相关通路,均与 G 蛋白通路有关。

G 蛋白偶联受体是涉及信号转导的细胞膜受体中最大的一个家族。G 蛋白偶联受体参与了很多细胞信号转导过程。在这些过程中,G 蛋白偶联受体能结合细胞周围环境中的化学物质并激活细胞内的

一系列信号通路,最终引起细胞状态的改变。目前药物市场上有约 50% 的小分子药物是直接作用于 GPCR 或其相关信号途径的。

G 蛋白由 α 、 β 和 γ 3 个亚基组成。 α 亚基与 GTP 结合能启动信号转导,而与 GDP 结合则终止信号转导,起到分子开关的作用。根据 α 亚基的不同,G 蛋白分成:G α s,G α i,G α q 和 G α 12/13。G α s 激活腺苷酸环化酶(AC),产生 cAMP;G α i 抑制 AC,降低细胞内 cAMP 水平,许多激素和神经递质,包括肾

表 2 桂枝汤主要成分对应各发热相关靶点通路的网络自由度

Table 2 Network degrees of each Guizhitang components corresponding to 6 fever related pathways

成分	G protein	AMPK	cAMP	G α i	G α s	Melation	总和
paeonimetabolin I	4	6	4	1	3	-	18
cAMP	4	1	7	1	4	-	17
quercetin-3'OH(glu acid)	3	3	3	3	-	-	12
quercetin-5 OH(glu acid)	3	3	3	3	-	-	12
rutin	3	3	3	3	-	-	12
6-gingerol	4	-	4	2	2	-	12
quercetin-4'OH(glu acid)	3	2	3	3	-	-	11
isoliquiritigenin	2	-	4	4	-	-	10
cinnamic acid	4	-	2	1	2	-	9
isoliquiritigenin-4 OH(glu acid)	3	-	2	2	-	-	7
liquiritigenin-4 OH(glu acid)	6	-	-	-	-	1	7
liquiritigenin	2	-	1	1	2	1	7
hippuric acid	2	1	1	1	1	-	6
liquiritigenin	-	-	-	-	-	5	5
6-gingerol(glu acid)	2	-	1	1	-	-	4
albiflorin	3	-	-	-	-	-	3
quercetin	-	-	-	-	-	2	2
isoliquiritigeni	-	-	-	-	-	1	1
liquiritigenin-7 OH(glu acid)	1	-	-	-	1	-	2
isoliquiritin	-	-	-	-	-	-	0
quercetin-7OH(glu acid)	-	-	-	-	-	-	0
glycyrrhetic acid	-	-	-	-	-	-	0
glycyrrhizic acid	-	-	-	-	-	-	0
paeoniflorin	-	-	-	-	-	-	0

上腺素,乙酰胆碱,多巴胺和 5-羟色胺,都通过 G α i 途径引起生理反应^[13]。

cAMP 是细胞内重要的第二信使,起着将细胞外刺激信号转化为细胞内各种生理活动的媒介作用。它可与 cAMP 依赖性的蛋白激酶 A(PKA)的结合亚基结合,使其激活。激活后的 PKA 既可以使细胞内多种蛋白质磷酸化而发挥生物学作用,还可以作用于 cAMP 反应元件结合蛋白,调节基因表达。cAMP/PKA 信号转导途径在前列腺素 E₂(PGE₂)内源性发热机制中占有非常重要的地位^[14]。

腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)参与调节糖、脂肪和蛋白质的代谢,维持细胞能量稳态的关键丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。AMPK 可通过磷酸化 SIRT1,PGC- α ,p53 和 FoxO3a 等下调 NF- κ B 的活性、抑制炎症相关基因的表达并减轻组织炎症损伤^[15]。

褪黑素是由松果腺和其他来源,其作用涉及到

抗氧化、调节生物节律、稳定性腺功能以及抗炎、镇痛、免疫调节等方面。胡超杰等^[16]研究表明 HepG2 细胞增殖时 G α i 蛋白表达增加,而 G α s 蛋白表达无改变,同时 cAMP 浓度降低,给予褪黑素处理后可明显降低 G α i 蛋白表达,对 G α s 蛋白表达无影响。魏伟等^[17]研究表明类风湿关节炎病人外周血淋巴细胞(PBL)cAMP 水平明显升高,而增殖反应较正常人明显低下,其 G 蛋白 AC-cAMP 跨膜信号可能发生了调节异常。褪黑素可通过部分抑制 cAMP 产生上调人 PBL 的增殖功能,发挥免疫调节作用。

有研究表明桂枝汤中成分的不同组合能不同程度地降低胚胎大鼠下丘脑神经细胞因 PGE₂ 刺激而导致的 cAMP/PKA 水平升高^[18]。

在酵母诱导发热模型大鼠下丘脑中 AC,cAMP 明显升高,而桂枝汤可使两者有效降低;而在安定导致的体温降低模型大鼠中,AC,cAMP 水平明显降

低,桂枝汤也可以有效改善。在在两种模型中,桂枝汤对 PDE 活性的影响均不明显。表明桂枝汤对体温的双向调节作用可能是部分通过影响 AC 的活性,从而改变下丘脑细胞中 cAMP 含量来实现的^[19-20]。

桂枝汤通过影响中枢下丘脑或胃肠局部组织的神经递质、发热递质、单胺类物质和胃肠激素等胞外信使物质的含量变化达到调节体温和胃肠运动的作用;该胞外信使物质含量的变化与胞内信号物质 $G\alpha_s, G\alpha_i-1, G\alpha_o, IP3/CaM, cAMP/PKA, PKC$ 的活性变化呈一定的相关性^[21]。

通过以上总结和文献,可以认为桂枝汤通过 G 蛋白偶联受体, cAMP 介导的信号传导, $G\alpha_s, G\alpha_i$ 等通路调节体温。桂枝汤还可能通过 AMPK、褪黑激素等途径调节体温。

目前大部分网络药理学,都过数据库选择中药中的原型成分,预测中药的作用靶点^[22-23]。根据中药血清药理学的思路,中药口服后在体内经消化、吸收进入血液发挥作用^[24]。前期利用液相质谱联用技术发现,桂枝汤中吸收入血成分与其原型显著不同^[10]。苷类成分由于极性大,不容易吸收进入血液,基本是在肠道中经菌群代谢为苷元,脂溶性增加后,被吸收进入血液中。例如甘草酸代谢为甘草次酸,甘草苷代谢为甘草素等^[25]。进入血液的苷元在肝脏、肠壁中酶的作用下链接亲水基团,水溶性增加^[26]。所以仅使用原型成分预测中药的作用靶点,可能并不全面。本文使用原型成分及其代谢成分,使用分子结构相似性预测成分的靶点,发现中药原型化合物及其代谢物所对应的靶点并不相同,例如甘草素及其 4 个同分异构体的葡萄糖醛酸结合物,所对应的靶点并不相同,这可能是由于取代基影响了苷元的空间结构和性质造成的。本文获得的桂枝汤相关的主要药效物质有芍药苷代谢物、环磷腺苷除此之外还有槲皮素相关的代谢物、姜酚等。这些成分基本容易吸收进入血液或存在于血液中,研究结果也提示代谢物活性强于其原型^[27]。所以在进行网络药理学预测时,需注意代谢物的存在,将原型化合物与代谢物合并预测。

研究结果也发现,对于大枣传统一直作为佐使药使用,而且由于可检测成分较少,在网络药理学预测时往往容易忽略,本文发现其中的环磷酸腺苷显示出很好的药理活性。

目前预测化合物靶点的方法有基于配体结构特征的靶点预测、基于蛋白机构特征的靶点预测和其

他方法,本文采用基于配体的方式预测方法,在后续研究中应该扩展预测方法,避免出现误差、遗漏^[28]。本文结果主要基于化学结构预测,结果需要进一步实验验证。

[参考文献]

- [1] 王亭晔,刘玥芸,陈家旭. 桂枝汤对体温双向调节作用的研究进展[J]. 中国医药导报, 2016, 13(20): 44-47.
- [2] 刘志华,孙晓波. 网络药理学:中医药现代化的新机遇[J]. 药学学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [3] 常敏毅. 汤剂中桂枝成份的研究[J]. 国外药学:植物药分册, 1981, 2(6): 35.
- [4] 何平均,李凯鹏,杨洁,等. 桂皮醛在大鼠肠中的体外代谢转化研究[J]. 中草药, 2010, 41(12): 2014-2018.
- [5] 刘鑫鑫,马骏驰,霍长虹,等. 芍药苷和芍药内酯苷的微生物转化[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(7): 872-875.
- [6] WEN-LAN L I, BAI J, SUN Z, et al. Material base of *in vivo* invigorating Qi and enriching blood of Bazhen decoction by HPLC-ESI-MS [J]. Chinese Herbal Medicines, 2012, 4(4): 282-286.
- [7] 董世奇,樊慧蓉,李全胜,等. 甘草苷在大鼠体内的代谢途径研究[J]. 中草药, 2014, 45(17): 2499-2505.
- [8] 杨庆,李玉洁,陈颖,等. 大枣提取物对缺铁性贫血大鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3): 102-109.
- [9] 耿彤,吴晓磊,王志伟. 姜活性成分 6-姜酚药代动力学研究进展[J]. 药学研究, 2017, 36(4): 231-235.
- [10] XIANG H, ZHANG L, SONG J, et al. The profiling and identification of the absorbed constituents and metabolites of guizhitang in rat plasma and urine by rapid resolution liquid chromatography combined with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(9): 1409.
- [11] Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, et al. Swiss target prediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(Web Server issue): W32-W38.
- [12] 呼海燕,林友胜. 发热的研究历程和进展[J]. 成都医学院学报, 2011, 6(1): 31-35.
- [13] 陈华青,刘明耀. G 蛋白偶联受体及其信号转导在免疫与炎症中的作用[J]. 现代免疫学, 2009, 29(6): 441-446.
- [14] Kammer G M. The adenylate cyclase-cAMP-protein kinase a pathway and regulation of the immune response [J]. Immunol Today, 1988, 9(7/8): 222-229.

- [15] 朱娜,姚定金,周晓燕. AMPK在慢性炎症性疾病中的研究进展[J]. 生命的化学,2016,36(3):335-340.
- [16] 胡超杰,朱华庆,周青,等. 褪黑素对肝癌细胞系HepG2的增殖抑制作用及其与G蛋白-cAMP信号途径的关系[J]. 中国药理学通报,2008,24(9):1182-1186.
- [17] 魏伟,徐星铭,沈玉先,等. 褪黑素对类风湿关节炎人外周血淋巴细胞增殖反应的影响及其G蛋白-cAMP信号转导机制的研究[J]. 中国药理学通报,1998,14(6):54-56.
- [18] 刘敏,谭余庆,黄敬耀,等. 桂枝汤主要成分对PGE₂刺激的胚胎大鼠下丘脑神经cAMP-PKA的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(2):35-38.
- [19] 齐云,霍海如,田甲丽,等. 桂枝汤对发热及低体温大鼠下丘脑中腺苷酸环化酶和磷酸二酯酶活性的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2001,21(3):203-205.
- [20] 齐云,霍海如,周军,等. 桂枝汤对体温双向调节作用机制探讨一对下丘脑中腺苷酸环化酶活性及环一磷酸腺苷含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,7(2):25-28.
- [21] 谭余庆,霍海如,周爱香,等. 桂枝汤及其有效部位对胃肠激素双向调节作用的研究[J]. 世界华人消化杂志,2000,8(8):75.
- [22] 吴嘉瑞,金燕萍,王凯欢,等. 基于网络药理学的“金银花-连翘”药对作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(5):179-183.
- [23] 张建永,王岚,梁日欣,等. 基于网络药理学分析丹参山楂组分配伍抗动脉粥样硬化的作用机制研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(23):4408-4415.
- [24] 王国佐,葛金文. 血清药理学方法在中药研究中的进展[J]. 湖南中医药大学学报,2007,27(3):78-80.
- [25] 李咏梅,李晓眠,朱泽. 苷类中药肠道细菌生物转化的研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2008,16(19):2144-2148.
- [26] 曹伟宇,冯斌,王晓娟. 肠道菌群/肝药酶系对天然皂苷类成分的代谢研究进展[J]. 中国药房,2016,27(28):3999-4002.
- [27] 王晓玲. 芍药苷的微生物转化研究[J]. 西南民族大学学报:自然科学版,2011,37(3):425-430.
- [28] 方坚松,刘艾林,杜冠华. 基于化学信息学方法预测药物靶点的研究进展[J]. 药学报,2014,49(10):1357-1364.

[责任编辑 周冰冰]