

## 基于网络药理学探讨盘龙七片治疗骨性关节炎配伍的合理性

王璐<sup>1,2</sup>, 徐颖<sup>2\*</sup>, 刘春芳<sup>2</sup>, 韩腾飞<sup>3</sup>, 崔瑞琴<sup>1\*</sup>, 林娜<sup>2</sup>

(1. 宁夏医科大学 中医学学院, 银川 750004; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;  
3. 陕西盘龙药业集团股份有限公司, 西安 710000)

**[摘要]** **目的:**探索盘龙七片治疗骨性关节炎的配伍合理性。**方法:**采用网络药理学研究方法,对盘龙七片中的活血化瘀组、祛风湿组及补肝肾组的59个化合物与骨性关节炎相关的靶点和通路进行预测和筛选,通过数据整合分析,解析该方防治骨性关节炎作用特点及配伍规律。**结果:**59个化合物可作用于70个骨性关节炎相关靶点,主要涉及炎症刺激反应、细胞增殖、细胞代谢、免疫调节等相关过程,通路富集分析涉及炎症反应、软骨退化、免疫调节、软骨下骨代谢等相关通路。**结论:**3组药物对炎症反应、软骨细胞凋亡及代谢、软骨细胞外基质降解、骨代谢失衡等骨性关节炎(OA)发生的病理环节起不同程度的调节作用,但各有所侧重。其中活血化瘀组长于抗炎止痛,祛风湿组主要参与调节炎症与免疫过程,补肝肾组与软骨退化和软骨下骨骨代谢更为相关。

**[关键词]** 网络药理学; 盘龙七片; 骨关节炎; 配伍; 合理性

**[中图分类号]** R2-0;R289;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)18-0166-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20201436

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200403.1344.005.html>

**[网络出版日期]** 2020-4-3 14:51

### Study on Compatibility Rationality of Panlongqi Tablets in Treatment of Osteoarthritis Based on Network Pharmacology

WANG Lu<sup>1,2</sup>, XU Ying<sup>2\*</sup>, LIU Chun-fang<sup>2</sup>, HAN Teng-fei<sup>3</sup>, CUI Rui-qin<sup>1\*</sup>, LIN Na<sup>2</sup>

(1. *Institute of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;*  
2. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*  
3. *Shaanxi Panlong Pharmaceutical Group Limited by Share Ltd, Xi'an 710000, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the compatibility of Panlongqi tablets in the treatment of osteoarthritis. **Method:** Network pharmacology was used to predict and screen the targets and pathways related to osteoarthritis of 59 compounds in Panlongqi tablets including activating blood circulation and removing stasis group (ACRG), expelling wind-damp group (EWDG) and tonifying liver and kidney group (TLKG). Through data integration analysis, the characteristics and compatibility rules of this prescription in preventing and treating osteoarthritis were analyzed. **Result:** The 59 compounds can act on 70 osteoarthritis (OA) related targets, mainly involving inflammatory stimulation response, cell proliferation, cell metabolism, immune regulation and other related processes. Pathway enrichment analysis involved inflammatory response, cartilage degeneration, immune regulation, bone metabolism and other related pathways. **Conclusion:** The three drugs play different regulatory roles in the pathogenesis of OA, such as inflammation, chondrocyte apoptosis and metabolism, extracellular matrix degradation, and bone metabolism. Among them, promoting blood circulation and removing

**[收稿日期]** 20191229(002)

**[基金项目]** 中国中医科学院中药研究所技术研发项目(20191306);国家“重大新药创制”科技重大专项(2019ZX09731-002)

**[第一作者]** 王璐,在读硕士,从事从事中医肾系相关疾病的基础研究工作,E-mail:Doctorwl26@163.com

**[通信作者]** \* 崔瑞琴,博士,教授,从事中医药防治小儿疾病研究工作,E-mail:cuirq99@sina.com;

\* 徐颖,博士,副研究员,从事中药药理学研究工作,E-mail:yxu@icmm.ac.cn

blood stasis were mainly related to anti-inflammatory and analgesia, the wind-dampening group was mainly involved in regulating immunity and inflammation, and the liver-kidney group was more related to bone metabolism and chondrocyte apoptosis.

[Key words] network pharmacology; Panlongqi tablets; osteoarthritis; reasonable compatibility; rationality

骨性关节炎(OA)是一种以关节软骨退化为主要特征并伴有滑膜炎症、软骨下骨的重塑、关节边缘骨赘形成、韧带和半月板退变以及关节囊肥厚等为病理变化,以关节的疼痛、僵硬、肿胀、功能受限为主要临床表现的慢性退行性疾病<sup>[1-2]</sup>。中药复方制剂防治OA临床疗效显著,盘龙七片是以中医骨伤专家王家成先生所献秘方组方,目前已有大量临床研究显示其在降低骨性关节炎患者外周血炎症因子、缓解关节肿痛、改善关节功能及其他症状的缓解具有良好的效果,是非手术治疗膝骨关节炎的理想方药<sup>[3-6]</sup>。盘龙七片组成药物有29味,成分复杂多样,尤其在其缓解OA疼痛及软骨退化等机制研究缺少,其治疗OA的组方配伍规律及合理性研究尚无。本研究根据“中国中医药研究促进会骨科专业委员会”及“中国中西医结合学会骨伤科专业委员会关节工作委员会”制定的2015年版“膝骨关节炎中医诊疗专家共识”对OA的辨证分型<sup>[7]</sup>,结合盘龙七片组方特点将盘龙七片中的29味中药分为活血化瘀组、祛风除湿组、补益肝肾组,采用网络药理学的手段,选取各组药中的代表性成分进行分析,对该方的配伍合理性进行初步探究和阐释。

## 1 资料

中药系统药理学数据库与分析平台TCMSP (<http://tcmssp.com/tcmssp.php>), UniProt 蛋白数据库 (<https://www.uniprot.org/>), DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>), OMIM 数据库 (<https://omim.org/>), GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>), venny 2.1.0 网站 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>), STRING 数据库 (<https://string-db.org/>), Cytoscape 3.7.2, DAVID 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库。

## 2 方法

**2.1 药物分组** 结合盘龙七片组方特点,将盘龙七片中的29味中药分为活血化瘀组(盘龙七、支柱蓼、铁棒锤、八里麻、当归、丹参、重楼、红花、乳香、没药、老鼠七、白毛七、祖师麻、珠子参、木香),祛风除湿组(伸筋草、竹根七、羊角七、过山龙、秦艽、络石藤、缬草、青蛙七、川乌、草乌、五加皮),补益肝肾组

(牛膝、杜仲、壮筋丹),其中木香虽为行气之药,但在本方中取其行气以助血行之意,所以将其也归于活血化瘀组。

**2.2 化学成分收集与筛选** 通过TCMSP数据库对盘龙七片内药物的名称检索,获得相应单味药物的化合物成分,TCMSP数据库未收录的药物通过《中药大辞典》等其他数据库或文献检索筛选药物的化学成分。筛选生物利用度(OB)>30%和类药性(DL)>0.18的成分,再结合文献报道筛选出候选药物的活性成分,如某些化学成分虽不满足参数设定条件,但有文献报道明确的活性成分也纳入候选成分<sup>[8-9]</sup>。

**2.3 化学成分潜在作用靶标反向预测** 通过TCMSP数据库对盘龙七片内已经筛选出的药物候选成分的化学名称进行检索,在相关靶点(Related Targets)搜索功能里获得潜在药物靶标。将潜在药物靶标导入UniProt蛋白数据库中,校正为官方名称(officialsymbol),获得药物活性成分相关候选靶点。

**2.4 OA疾病潜在靶点的收集** 分别从GeneCards和OMIM数据库以“osteoarthritis”为检索词条对OA相关基因进行检索,收集所有与OA相关的疾病靶点,合并重复靶点后得到与OA相关的靶基因。

**2.5 网络构建与分析** 将化学成分潜在作用靶标与OA相关疾病靶点导入venny 2.1.0网站相互映射,筛选出其盘龙七片有效活性成分作用靶点与OA相关蛋白的共同部分,得到盘龙七片治疗OA的作用靶点。将盘龙七片治疗OA的靶点蛋白导入STRING平台构建其靶蛋白PPI网络,运用Cytoscape软件内“网络分析(Network Analyzer)”工具,通过分析点度中心性(Degree Centrality, DC)和介数中心性(Betweenness Centrality, BC)对PPI网络进行拓扑属性分析,并筛选PPI网络中degree, betweenness均超过平均值的蛋白,作为后续研究的“关键靶标”<sup>[10]</sup>。

**2.6 基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析及网络构建** 利用Cytoscape软件中的生物网络基因本体论(BiNGO)插件对筛选出的关键靶标进行GO富集分析,在结

果选择  $P < 0.05$  的项目中  $P$  值排在前 10 的项目进行分析<sup>[11]</sup>。将关键靶点输入 DAVID 数据库,通过 KEGG 数据库,选取  $P$  值排在前 20 的通路进行富集分析。整合药物化学成分、作用靶点、功能富集分析及通路富集分析结果,用 Cytoscape 软件制作各组药理作用特点网络分析图。

**2.7 成分及机制的文献验证** 通过检索国内外文献,挖掘分析盘龙七片相关的活性成分与治疗骨关节炎的相关机制,为网络药理学所预测的结果提供文献验证。

### 3 结果

**3.1 活血化瘀组作用特点分析** 通过数据库检索和文献查询共得到 56 个化学成分,1 325 个靶点,其中包括盘龙七 259 个靶点,支柱蓼 76 个靶点,铁棒锤 212 个靶点,八里麻 189 个靶点,当归 69 个靶点,丹参 30 个靶点,重楼 310 个靶点,红花 18 个靶点,乳香 5 个靶点,没药 20 个靶点,老鼠七 59 个靶点,祖司麻 30 个靶点,珠子参 11 个靶点,木香 37 个靶点,其中白毛七无对应靶标,化学成分结果见表 1。合并各药物间重复成分,将最后筛选得到的化学成分潜在作用靶标与从 GeneCards 和 OMIM 数据库获得的 OA 相关疾病靶点导入 venny 2.1.0 分析相互映射,筛选出活血化瘀组有效活性成分与 OA 相关共有靶点 62 个。将活血化瘀组 62 个与 OA 相关的潜在靶点进行 PPI 网络分析,其中 60 个靶点参与了 PPI 网络。对 PPI 网络进行拓扑属性分析,degree, betweenness 均超过平均值的关节靶点共有 17 个,分

别为“血管内皮生长因子(VEGFA),转录因子 p65 (RELA),丝裂原活化蛋白激酶 8(MAPK8),雄激素受体 (AR),过氧化物酶体增殖剂激活受体 (PPARG),表皮生长因子受体(EGFR),细胞周期蛋白 D1(CCND1),原癌基因(FOS),白细胞介素-6(IL-6),半胱氨酸蛋白酶(Caspase)-3, Caspase-8,低氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ ),受体酪氨酸蛋白激酶-2(ERBB2),Myc 原癌基因蛋白(MYC),一氧化氮合酶 3(NOS3),芳基碳氢化合物受体(AHR),雌激素受体 1(ESR1)”,涉及 16 个化学成分。对关键靶标进行基因本体分类富集分析结果显示,活血化瘀组治疗骨关节炎的生物过程主要有化学刺激反应、细胞过程的正调控、应激反应、调控细胞增殖、对有机物的反应、代谢过程的正调控、对非生物刺激的反应、激素刺激反应、内源性刺激反应、对类固醇激素刺激的反应。排除广泛通路,通路富集分析结果显示其相关通路主要富集在 MAPK 信号通路, HIF-1 信号通路, IL-17 信号通路,肿瘤坏死因子(TNF)信号通路等。通过文献挖掘,结合骨关节炎的病理过程,活血化瘀组生物学过程主要集中在炎症反应,软骨细胞凋亡及代谢、软骨下骨骨代谢 3 个过程,其中炎症反应相关靶点 13 个通路 9 个、软骨细胞凋亡及代谢相关靶点 9 个通路 3 个、软骨下骨骨代谢相关靶点 6 个通路 4 个。其中富集程度较高的 MAPK 信号通路, HIF-1 信号通路在促进滑膜炎的浸润,介导疼痛反应方面起主要作用。整合后得到活血化瘀组药理作用特点网络分析见图 1。

表 1 盘龙七片“中药-有效成分”信息

Table 1 Information of "traditional Chinese medicine-active ingredient"

组别	药物	化合物	组别	药物	化合物
活血化瘀	盘龙七	stigmastero	补肝肾	杜仲	AIDS214634
		kaempferol			(+)-medioresinol
		(+)-catechin			helenalin
	支柱蓼	quercetin		cinchonan-9-al, 6'-methoxy-, (9R)-	
		sitosterol		olivil	
		rhein		牛膝	palmatine
	铁棒锤	aloe-emodin		quercetin	
		C09495		$\beta$ -ecdysterone	
		quercetin		stigmasterol	
		nubigenol		epiberberine	
		norboldine		祛风湿	秦艽
	八里麻	beta-sitosterol		sitosterol	
		picropodophyllone		缬草	quercetin
picropodophyllin		luteolin			

续表 1

组别	药物	化合物	组别	药物	化合物
活血化痰	八里麻	podophyllotoxin	祛风湿	缬草	diosmetin
		podophyllotoxone			acacetin
		quercetin			kaempferol
	当归	beta-sitosterol		青蛙七	asperglaucide
		stigmasterol			rhamnazin
	重楼	quercetin			iristectorigenin(9CI)
		stigmasterol			iristectorigenin A
		kaempferol		irisolidone	
	乳香	tirucalol		草乌	karakoline
		O-acetyl-a-boswellic acid			3-acetylaconitine
		3-oxo-tirucallic,acid	crassicauline A		
		acetyl-alpha-boswellic,acid	napelline		
		incensole	izoteolin		
	没药	guggulsterol- VI	五加皮	$\beta$ -sitosterol	
		epimansumbinol		stigmasterol	
		diayangambin	络石藤	norwogonin	
		phellamurin_qt		voacangine	
	老鼠七	2-methoxyfuranoguaia-9-ene-8-one	川乌	ibogain	
		cryptopine		2(3H)-Furanone, 4-[(3,4-dimethoxyphenyl)methyl]-3-[4-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-3-methoxyphenyl)methyl]dihydro-3-hydroxy-(3S-cis)	
		ber berine		hypaconitine	
白毛七	chelidonine	delta4,16-Androstadien-3-one			
	vina-ginsenoside R2	1-[(5R,8R,9S,10S,12R,13S,14S,17S)-12-hydroxy-10,13-dimethyl-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]ethanone			
祖司麻	clematosideA'_qt	伸筋草		sitosterol	
	daphnoretin			formononetin	
珠子参	hexadecanoic acid			stigmasterol	
	sitosterol	(6E,8E,10Z,12Z,14E,16E,18E,20Z,22Z,24E,26E)-2,6,10,14,19,23,27,31-octamethyl-dotriacont-2,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,30-tridecaene			
木香	cholesterol	竹根七		alpha-onocerin	
	cynaropicrin		3-o-beta-d-glucopyranosyl-(1-2)-[beta-d-xylopyranosyl-(1-3)]-beta-d-glucopyranosyl-(1-4)-galactopyranosyl-25(S)-spirost-5(6)-en-3beta,14alpha-diol_qt		
	lappadilactone		4',5,7-trihydroxy-6-methyl-8-methoxy-homoisoflavanone		
	mairin		4',5,7-trihydroxy-6-methyl-homoisoflavanone		
	sitosterol		n-coumaroyltyramine		
红花	stigmasterol	羊角七	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide		
	flavoxanthin		blespirol		

续表 1

组别	药物	化合物	组别	药物	化合物
活血化痰	红花	pyrethrin II	祛风湿	羊角七	2,3,4,7-tetramethoxyphenanthrene
		6-Hydroxykaempferol			3-(p-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene
	丹参	qt_carthamone	过山龙		bletlol A
		4-[(E)-4-(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)but-2-enylidene]-2,6-dimethoxycyclohexa-2,5-dien-1-one			1-(4-hydroxybenzyl)-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene-2,7-diol
		formyltanshinone			1,3-dimethoxy-2-carboxyanthraquinone
		przewalskin b			henine
		(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid			1,3-dihydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone-3-O-xylosyl(1→6)-glucoside_qt
		(Z)-3-[2-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)vinyl]-3,4-dihydroxy-phenyl]acrylic acid			(2R,3R,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-methoxy-2,3-dimethylol-tetralin-6-ol
		(6S)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-quinone			7-hydroxy-8-methyl-4-vinyl-9,10-dihydrophenanthrene-1-carboxylic acid

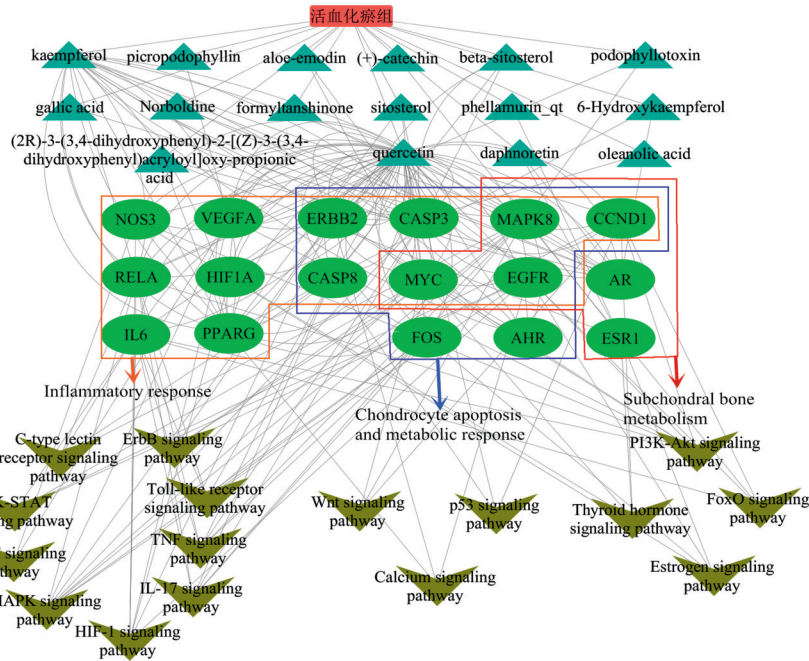


图 1 活血化痰组作用特点网络分析

Fig. 1 Network analysis of pharmacological characteristics of ACRG

3.2 祛风湿组作用特点分析 通过数据库检索和文献查询共得到 46 个化学成分, 783 个靶点, 其中包括伸筋草 73 个靶点, 竹根七 22 个靶点, 羊角七 48 个靶点, 过山龙 45 个靶点, 秦艽 41 个靶点, 络石藤 114 个靶点, 缬草 310 个靶点, 青蛙七 102 个靶点, 川乌 6 个靶点, 草乌 21 个靶点, 五加皮 1 个靶点, 化学成分结果见表 1。合并各药物间重复成分, 将最后筛选

得到的化学成分潜在作用靶标与 OA 相关疾病靶点相互映射得到盘龙七片有效活性成分与 OA 相关作用共有靶点 52 个。将潜在靶点进行 PPI 网络分析, 其中 52 个靶点全部参与了 PPI 网络, 对 PPI 网络进行拓扑属性分析结果显示 degree, betweenness 均超过平均值的关节靶点共有 24 个, 分别为“孕激素受体 (PGR), Caspase-9, 细胞间黏附分子 1 (ICAM1),

血管细胞黏附蛋白 1 (VCAM1), 核转录因子抑制剂 (NFKBIA), 核因子红细胞-2 相关因子 2 (NFE2L2), 糖皮质激素受体 (NR3C1), 微囊蛋白-1 (CAV1), Caspase-3, Caspase-8, AR, PPARG, RELA, MAPK8, AHR, ESR1, EGFR, VEGFA, CCND1, FOS, IL-6, HIF1A, ERBB2, MYC”, 涉及 23 个化学成分。对关键靶标进行基因本体分类富集分析结果显示, 祛风湿组治疗骨关节炎的生物过程主要有: 生物过程的正调控、应激反应、化学刺激反应、调节免疫系统过程、调节细胞增殖、细胞代谢过程的正调控、对有机物的反应、正调控高分子代谢过程、正调控氮化合物代谢过程、细胞生物合成过程的正向调控, 排除

广泛通路, 通路富集分析结果显示与其相关通路主要富集在 TNF 信号通路, IL-17 信号通路, Th17 细胞分化、细胞凋亡等。通过文献挖掘, 结合骨关节炎的病理过程, 活血化瘀组生物学过程主要集中在炎症反应、免疫反应、软骨细胞凋亡及代谢、软骨下骨骨代谢 4 个过程, 其中炎症反应相关靶点 14 个通路 6 个、免疫相关靶点 6 个通路 7 个、软骨细胞凋亡及代谢相关靶点 10 个通路 4 个、软骨下骨骨代谢相关靶点 9 个通路 9 个。富集程度最高的 TNF 信号通路, IL-17 信号通路, Th17 细胞分化与炎症及免疫调节密切相关。整合后得到祛风湿组作用特点网络分析见图 2。

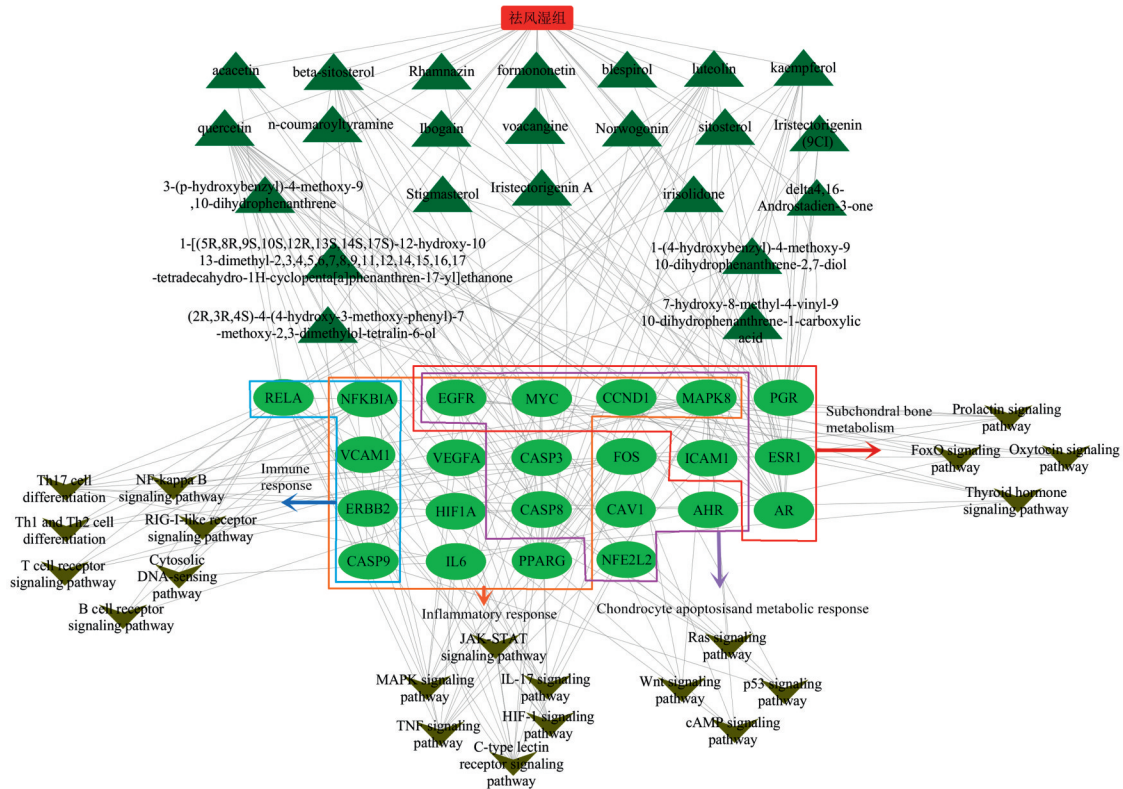


图 2 祛风湿组作用特点网络分析

Fig. 2 Network analysis of pharmacological characteristics of EWDG

**3.3 补肝肾组作用特点分析** 通过数据库检索和文献查询共得到 10 个化学成分, 199 个靶点, 其中包括杜仲 96 个靶点, 牛膝 103 个靶点, 化学成分结果见表 1。合并各药物间重复成分, 将最后筛选得到的化学成分潜在作用靶标与 OA 相关疾病靶点相互映射得到盘龙七片有效活性成分与 OA 相关作用共有靶点 57 个。将潜在靶点进行 PPI 网络分析, 其中 57 个靶点全部参与了 PPI 网络, 对 PPI 网络进行拓扑属性分析结果显示 degree, betweenness 均超过平均值的关节靶点共有 23 个, 分别为“细胞色素

P450 3 a4 (CYP3A4), 真核翻译启动因子-6 (EIF6), 碘甲氧基氨基酸脱碘酶 1 (DIO1), AHR, AR, Caspase-3, Caspase-8, CAV1, CCND1, EGFR, ERBB2, ESR1, FOS, HIF1A, ICAM1, IL-6, MYC, NFE2L2, NOS3, PGR, PPARG, RELA, VEGFA”, 涉及 5 个化学成分。对关键靶标进行基因本体分类富集分析结果显示, 补肝肾组治疗骨关节炎的生物过程主要有化学刺激反应、生物过程的正调控、对类固醇激素刺激的反应、代谢过程的正调控、细胞增殖调节、细胞过程的正调控、对有机物的反应、组织发育、细胞代谢过

程的正调控、细胞生物合成过程的正向调控。排除广泛通路,通路富集分析结果显示与其相关通路主要富集在磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路,HIF-1信号通路,TNF信号通路,IL-17信号通路等。通过文献挖掘,结合骨关节炎的病理过程,活血化瘀组生物学过程集中在炎症反应、软骨细

胞凋亡及代谢、软骨下骨骨代谢3个过程。其中,炎症反应相关靶点12个,通路7个;软骨细胞凋亡及代谢相关靶点14个,通路5个;软骨下骨骨代谢相关靶点9个,通路7个。富集程度较高PI3K/Akt信号通路在调节软骨细胞凋亡与代谢,缓解软骨退变方面起主要作用。补肝肾组作用特点网络分析见图3。

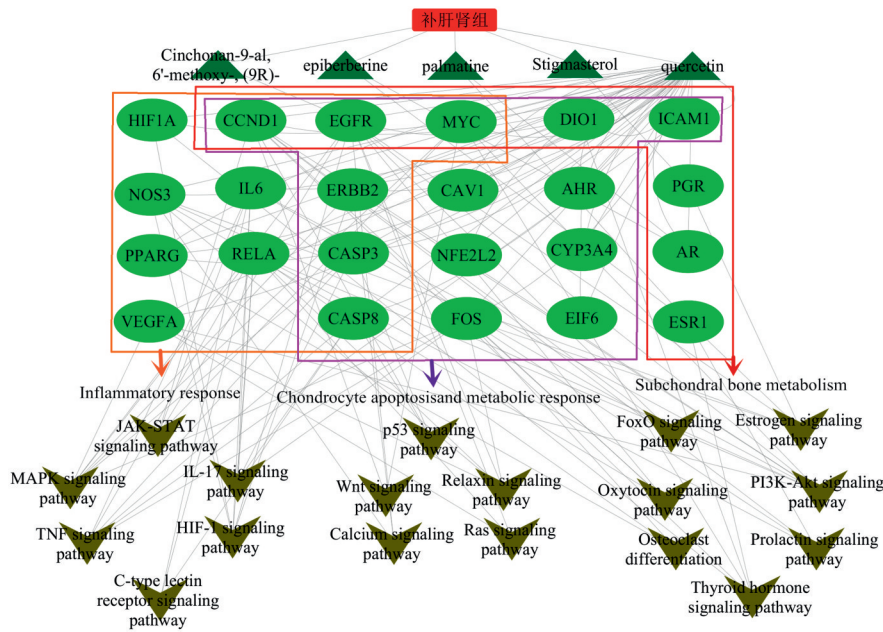


图3 补肝肾组作用特点网络分析  
Fig. 3 Network analysis of pharmacological characteristics of TLKG

3.4 盘龙七片配伍规律分析 将活血化瘀组、祛风湿组和补肝肾组所有药物成分及OA相关的靶点整合,合并重复成分和靶点后得到59个有效成分和70个与OA相关靶点,对靶点通路富集分析共得到112个作用通路,其中涉及骨关节炎关键通路32条。整合数据,构建盘龙七片化合物-靶点-通路网络,见图4。结合前3组的靶点-通路图分析得出三组药物内的成分既可通过相同靶点与共同同通路连接,亦可通过不同的靶点作用在相同通路,揭示盘龙七片治疗骨性关节炎各组药物之间多成分、多靶点、多途径相互协同的作用。

#### 4 讨论

中药复方本身存在多成分、多靶点、多途径的特点,且在人体内作用后更加复杂,网络药理学通过生物学网络节点的连接和关系分析构建“成分-靶标-通路-疾病”的多层次网络,进而对中药复方的作用进行综合分析<sup>[12]</sup>,既能够反映中药复方的多成分、多靶点、多通路的特点,又能与疾病结合起来,反映某种特定疾病相关的“成分-靶标-通路”。网络药理学具有系统性、整体性的特点,与中医整体观、

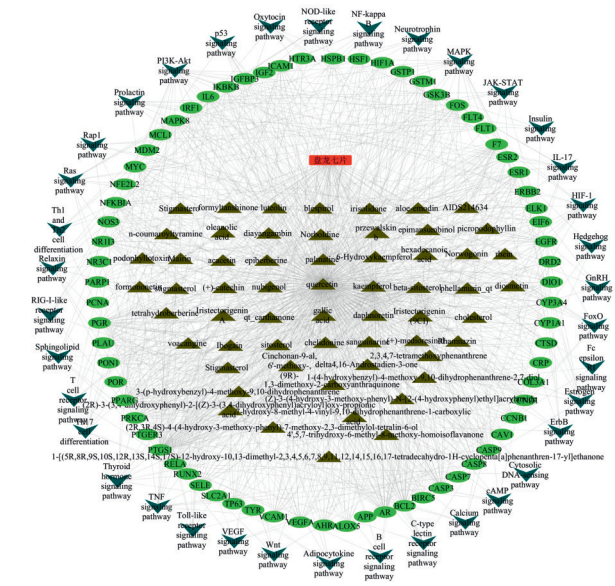


图4 盘龙七片化合物-靶点-通路网络  
Fig. 4 Compound-target-pathway network of Panlongqi tablet

辨证论治的基本原则相吻合,能在符合中医基本原则的基础上有效地推动中药复方的深入研究,揭示中药复方配伍原理及作用机制<sup>[13]</sup>。

本研究将盘龙七片组成药物分成活血化瘀、祛

风湿、补肝肾3组分别进行网络药理学分析。结果显示各药物之间存在重叠成分及作用靶点,合并组内重叠后,各组之间仍存在重叠的成分及作用靶点,且GO功能分析和KEGG富集分析有相同部分。以槲皮素(querletin)为代表的多个共有化学成分,通过影响VEGF, IL, Caspase, HIF等作用于TNF信号通路等多个信号通路,达到减低骨关节炎炎症因子表达,抑制软骨退化的治疗效果。已有的研究表明,槲皮素通过激活蛋白激酶p38,细胞外调节蛋白激酶, c-Jun氨基末端激酶(JNK), 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)等下调炎症因子等表达,从而发挥抗炎及软骨保护作用<sup>[14]</sup>。主要通路富集分析:①MAPK信号通路与炎症及细胞周期相关,化学刺激反应、应激反应、对有机物的反应会激活p38 MAPK和JNK<sup>[15]</sup>,可促进炎症反应,参与调控软骨细胞的合成代谢及细胞外基质的降解并且介导疼痛<sup>[16]</sup>。②IL-17信号通路中关键基因低甲基化状态会上调相关基因的表达从而参与了OA炎症状态的发生和调控<sup>[17]</sup>。③TNF信号通路广泛参与各种信号主导下的网络调节,通路被激活时会促进促炎因子和炎症介质的释放,最终形成炎症反应<sup>[18]</sup>。④HIF-1是一种在缺氧状态下发挥作用的核转录因子,当骨关节内出现缺氧情况时,HIF-1 $\alpha$ 转移入核,使得VEGF表达增高导致血管增生,促进了滑膜炎症的浸润,并且引起疼痛症状<sup>[19]</sup>。⑤TH17辅助细胞可分泌IL-17, IL22等促炎症因子,参与炎症反应,并影响软骨下骨骨代谢<sup>[20]</sup>。⑥PI3K/Akt信号通路已被证实是调节软骨细胞凋亡的重要路径<sup>[21]</sup>,还通过调控成骨细胞和破骨细胞的增殖、分化及凋亡,参与软骨下骨代谢及骨重塑过程<sup>[22]</sup>。

同时3个组又各有偏重,相互协同补充。其中活血化瘀组主要干预的生物过程中,以化学刺激反应等7个与炎症反应密切相关的刺激反应主<sup>[23-26]</sup>,涉及相关靶点13个,通路9个。其次通过细胞增殖、代谢过程的正调控则分别参与软骨细胞增殖及骨代谢调节,涉及软骨细胞凋亡及代谢相关靶点9个,通路3个、软骨下骨骨代谢相关靶点6个,通路4个。可见活血化瘀组主要通过调节MAPK信号通路, HIF-1信号通路等信号通路调节炎症反应,在此基础上参与调控软骨细胞的合成代谢及细胞外基质的降解;祛风湿组治疗骨关节炎主要通过调节TNF信号通路, IL-17信号通路参与应激反应、化学刺激反应等与炎症相关刺激反应,相关靶点14个,通路6个。并且影响细胞增殖、细胞代谢过程的正

调控,细胞生物合成过程的正向调控等生物学过程,涉及软骨细胞凋亡及代谢相关靶点10个,通路4个、软骨下骨骨代谢相关靶点9个,通路9个。除此之外还通过Th17细胞分化调节免疫,免疫相关靶点6个,通路7个;补肝肾组治疗骨关节炎的生物过程主要主要富集在细胞增殖调节、代谢过程的正调控等与软骨退变及骨代谢相关的生物过程,涉及软骨细胞凋亡及代谢相关靶点14个,通路5个、软骨下骨骨代谢相关靶点9个,通路7个。其次是与炎症反应密切相关的对类固醇激素刺激的反应、对有机物的反应2个生物过程,涉及炎症反应相关靶点12个,通路7个。通路富集分析结果也显示其相关通路主要富集在PI3K/Akt信号通路,炎症相关的通路富集程度较低。

骨性关节炎属在中医学“骨痹”“痹证”等范畴,早在《黄帝内经》就有“风寒湿三气杂至,合而成痹也”的记载。指出风、寒、湿三邪外侵,流滞关节,导致瘀血、痰湿痹阻经络而发为痹症,是其外因。而肝主筋,肾主骨,肝肾不足致筋骨失养而痿痹不用,是其内因<sup>[27]</sup>,总属“本虚标实”之证。盘龙七片组方正是基于此,以活血化瘀,祛风湿药物驱邪为主以治标,补肝肾药物为辅以固本,在祛除外邪以疏通经络的基础上兼以补虚,使肾气充盛,起未病先防,既病防变,标本兼顾之效。网络药理计算结果也提示3类药物对炎症反应、软骨细胞凋亡及代谢、细胞外基质降解、骨代谢等OA发生的病理环节起不同程度的调节作用,且各有所侧重。其中活血化瘀组长于抗炎止痛,祛风湿组主要参与调节炎症与免疫过程,补肝肾组与软骨细胞凋亡及软骨下骨骨代谢更为相关。

本研究通过网络药理学研究方法,分析盘龙七片中3组药物的多个化学成分,及其潜在的作用靶点及功能、通路富集分析。阐释盘龙七片各组药物相互协同配伍的特点及合理性,初步阐述了盘龙七片活血化瘀、祛风湿、补肝肾各组的作用机制,为后续验证盘龙七片对骨关节炎作用机制的研究提供了理论基础和参考依据。

#### [参考文献]

- [1] HUANG M, WANG L, JIN D, et al. Enhancement of the synthesis of n-3 PUFAs in fat-1 transgenic mice inhibits mTORC1 signalling and delays surgically induced osteoarthritis in comparison with wild-type mice[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(9):1719-1727.

- [2] 郭珈宜,李峰,范仪铭,等.斜刺经筋法结合运动疗法对膝骨关节炎患者关节功能的影响[J].中华中医药杂志,2019,34(10):4988-4992.
- [3] 李任增.非手术综合疗法治疗膝骨性关节炎的临床观察[J].中国煤炭工业医学杂志,2007,10(9):1090-1091.
- [4] 赵浩,赵福涛.盘龙七片治疗膝骨关节炎的临床研究[J].中国中西医结合杂志,2010,30(6):658-659.
- [5] 李凌汉,何虹,林勇,等.盘龙七片对膝骨性关节炎患者疗效与外周血Th17细胞及相关细胞因子的关系[J].中国医药科学,2017,7(13):9-12.
- [6] 李军锋,王晓峰,卫志刚.盘龙七片治疗膝骨关节炎的临床观察[J].中国中医骨伤科杂志,2015,23(8):65-67.
- [7] 陈卫衡,刘献祥,童培建,等.膝骨关节炎中医诊疗专家共识(2015年版)[J].中医正骨,2015,27(7):4-5.
- [8] 周域,刘志强,张小丁,等.泽泻汤治疗高血压药理机制的网络分析[J].中国医院药学杂志,2019,39(1):47-52.
- [9] LIU Z J, ZHONG J, ZHANG M, et al. The alexipharmic mechanisms of five licorice ingredients involved in CYP450 and Nrf2 pathways in paraquat-induced mice acute lung injury [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 7(28):3104.
- [10] 刘志强,王博龙.基于网络药理学预测二妙丸“一方多效”的分子机制[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(18):198-206.
- [11] 雷伟,邓艳芳,姜民,等.速效救心丸治疗心肌缺血疾病的网络药理学研究[J].世界科学技术—中医药现代化,2018,20(1):7-16.
- [12] 许强,黄宏羽,郑美思,等.基于网络药理学探讨加味桃核承气汤治疗2型糖尿病的作用机制[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(22):166-174.
- [13] 解静,高杉,李琳,等.网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J].中草药,2019,50(10):2257-2265.
- [14] 于维汉,何耀华.槲皮素在治疗骨关节炎中作用机制的研究进展[J].中华骨与关节外科杂志,2019,12(6):477-480.
- [15] 窦天旭,李旭. MAPK 信号通路与骨关节炎[J]. 解剖科学进展, 2017, 23(6): 649-652.
- [16] 王涛,殷红,廖江龙,等.骨关节炎与MAPK信号通路关系的研究概况[J].中国民族民间医药,2017,26(19):27-29.
- [17] 谢庆云. IL-17 信号通路关键基因 DNA 甲基化在骨关节炎软骨炎症中的作用及机制研究[D]. 上海:第二军医大学, 2017.
- [18] VAN Q E, DE S D, VAN L G, et al. A protein-protein interaction map of the TNF-induced NF- $\kappa$ B signal transduction pathway [J]. Sci Data, 2018, 18(5): 180-289.
- [19] 帅明,林荔军,林昭伟,等. IL-1 $\beta$ 、HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 在兔膝关节骨性关节炎模型滑膜中的表达[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(10): 2311-2313.
- [20] 潘利平,曹永平. T 细胞和 B 细胞对骨代谢的影响[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2015, 8(1): 63-68.
- [21] 骆帝,梁学振,刘金豹,等. 乌头汤治疗骨关节炎作用机制的网络药理学研究[J]. 中国药房, 2019, 30(19): 2632-2638.
- [22] 范文斌,包倪荣,赵建宁. PI3K/Akt 信号通路在骨代谢中的作用[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(19): 1958-1962.
- [23] LIU-BRYAN R, TERKEL T R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis [J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(1): 35-44.
- [24] 何建华. 基于滑膜成纤维样细胞组学分析的膝骨关节炎治疗研究[D]. 重庆:重庆大学, 2017.
- [25] 黄志,郭卫兵,王小虎,等. 早期骨关节炎中慢性滑膜炎的发生机制研究进展[J]. 实用骨科杂志, 2016, 22(5): 428-431.
- [26] 高峰,赵雅玲,许卫东. 关节腔注射臭氧对老年膝骨性关节炎的治疗效果[J]. 中国地方病防治杂志, 2016, 31(7): 813-814.
- [27] 肖立军,邓德礼,陈文贵,等. 盘龙七片治疗膝骨性关节炎的疗效分析[J]. 中外医疗, 2009, 28(32): 7-9.

[责任编辑 孙丛丛]