

# 基于网络药理学和分子对接技术分析三叶青治疗类风湿性关节炎作用机制

严蕊, 王铁峰, 赵天文, 朱文瑞

浙江中医药大学附属绍兴市中医院中药剂科, 浙江 绍兴 312000

**[摘要]** **目的:** 通过网络药理学与分子对接技术分析三叶青治疗类风湿性关节炎(RA)的作用机制。**方法:** 检索中国知网、万方、PubMed等数据库中三叶青主要活性成分的相关文献, 利用SwissTargetPrediction数据库筛选作用靶点。通过GeneCards数据库获得RA疾病基因, 将活性成分对应靶点与疾病基因取交集, 获得三叶青治疗RA的潜在作用靶点。将数据导入Cytoscape3.7.1软件, 构建“药物-成分-靶点”网络图。使用String数据库构建蛋白质互作(PPI)网络, 并筛选核心靶点。利用Metascape平台对核心靶点进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。采用AutoDock Tools1.5.6软件, 对三叶青主要活性成分与核心靶点进行分子对接验证。**结果:** 从三叶青中筛选出30个活性成分, 对应430个潜在靶点, 获得主要活性成分为亚麻酸甲酯、槲皮素、山柰酚、鼠李柠檬素和白藜芦醇。RA疾病靶点1186个, 通过拓扑属性值筛选后得到46个关键节点, 主要包括白蛋白(ALB)、蛋白激酶B1(AKT1)、肉瘤病毒蛋白(SRC)、前列腺素G/H合酶2(PTGS2)、基质金属蛋白酶9(MMP9)、表皮生长因子受体(EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)等基因。GO富集分析主要涉及激酶结合、转录因子结合、对肽的反应、炎症反应等。KEGG富集到209条通路, 主要涉及癌症途径通路、内分泌激素耐药作用通路、癌症蛋白聚糖通路、磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)-AKT通路等。分子对接显示鼠李柠檬素与MMP9, 山柰酚与PIK3R1, 白藜芦醇与MMP9, 亚麻酸甲酯与MMP9, 槲皮素与PIK3R1结合最稳定。**结论:** 网络药理学分析结果显示三叶青通过亚麻酸甲酯、槲皮素、山柰酚等主要活性成分作用于MMP9、PIK3R1、AKT1等核心靶点, 调控癌症途径、内分泌激素耐药作用、癌症蛋白聚糖、PI3K-AKT等通路治疗RA。

**[关键词]** 类风湿性关节炎; 三叶青; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

**[中图分类号]** R274.9; R285 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2026) 01-0175-08  
**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2026.01.030

## Analysis of Mechanism of Tetrastigma Radix in the Treatment of Rheumatoid Arthritis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

YAN Rui, WANG Tiefeng, ZHAO Tianwen, ZHU Wenrui

Department of Pharmacy, Shaoxing TCM Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Shaoxing Zhejiang 312000, China

**Abstract:** **Objective:** To analyze the mechanism of Tetrastigma Radix in the treatment of rheumatoid arthritis (RA) using network pharmacology and molecular docking technology. **Methods:** Literature on the main active ingredients of Tetrastigma Radix was retrieved from databases including China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wanfang Data Knowledge Service Platform (Wanfang), and PubMed, and the SwissTargetPrediction database was used to screen their potential targets. RA-related genes were obtained from the GeneCards database, and the intersection between targets of active ingredients and disease genes was identified to determine potential therapeutic targets of Tetrastigma Radix for RA. Data were imported into Cytoscape 3.7.1 to construct

**[收稿日期]** 2025-04-24

**[修回日期]** 2025-12-25

**[作者简介]** 严蕊 (1994-), 女, 主管中药师。

a “drug-ingredient-target” network. The STRING database was used to build a protein-protein interaction (PPI) network and screen core targets. The Metascape platform was employed for Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses of the core targets. Molecular docking validation of the main active ingredients of *Tetradlea Radix* and core targets was performed using AutoDock Tools 1.5.6. **Results:** A total of 30 active ingredients were screened out from *Tetradlea Radix*, corresponding to 430 potential targets. The main active ingredients obtained are methyl linolenate, quercetin, kaempferol, rhamnocitrin and resveratrol. A total of 1 186 RA-related disease targets were identified, and 46 key nodes were obtained after screening based on topological attribute values, primarily including albumin (ALB), AKT serine/threonine kinase 1 (AKT1), sarcoma proto-oncogene (SRC), prostaglandin G/H synthase 2 (PTGS2), matrix metalloproteinase 9 (MMP9), epidermal growth factor receptor (EGFR), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), and other genes. GO enrichment analysis mainly involved kinase binding, transcription factor binding, response to peptides, and inflammatory responses. KEGG enrichment analysis identified 209 pathways, primarily including pathways in cancer, endocrine resistance pathways, cancer proteoglycans pathways, and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-AKT signaling pathways. Molecular docking results indicated that rhamnocitrin exhibited the most stable binding with MMP9, kaempferol with PIK3R1, resveratrol with MMP9, methyl linolenate with MMP9, and quercetin with PIK3R1. **Conclusion:** Network pharmacology analysis revealed that *Tetradlea Radix* in the treatment of RA by targeting core genes such as MMP9, PIK3R1, and AKT1 through key active ingredients like methyl linolenate, quercetin, and kaempferol, and regulating pathways in cancer, endocrine resistance pathways, cancer proteoglycans pathways, and PI3K-AKT signaling pathway.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis; *Tetradlea Radix*; Network pharmacology; Molecular docking; Mechanism

类风湿性关节炎(RA)是一种以破坏性、多发性与对称性关节病变、关节滑膜炎为特征的慢性自身免疫性疾病。在工业化国家成年人中的发病率为0.5%~1.0%<sup>[1]</sup>,其主要特点是严重的滑膜炎,淋巴细胞和浆细胞浸润滑膜组织。临床表现为多关节受累损伤,好发于四肢末梢小关节及腕、膝、肩等部位,可引起心血管等多种并发症。现代医学研究领域认为RA的发病风险50%来自于遗传因素,文献报道中,主要从免疫细胞、自身抗原、细胞因子、肠道菌群等方面来对其发病机制进行探索<sup>[2]</sup>。目前尚无根治RA的特效药物,临床上常采用肾上腺皮质激素、非甾体类抗炎药等药物缓解其症状。RA可归属于中医学中痹症范畴。中医各家从瘀辨证论治RA,高频使用活血化瘀类中药,均取得良好诊疗效果<sup>[3]</sup>,表明瘀为RA的重要致病因素<sup>[4]</sup>。

三叶青为葡萄科三叶崖爬藤(*Tetradlea hemsleyanum* Diels et Gilg)的块根,主产于浙江、福建、江西等省份<sup>[5]</sup>,其所含黄酮类化合物为其抗肿瘤,抗病毒,抗炎,免疫调节的主要有效成分<sup>[6]</sup>。三叶青块根能显著

抑制调节性T细胞增长<sup>[7]</sup>,显著增加机体T淋巴细胞及自然杀伤细胞数目<sup>[8]</sup>,改善调节性T细胞/辅助性T细胞免疫失衡<sup>[9]</sup>,具有治疗免疫性疾病的良好潜力。本研究基于网络药理学分析三叶青治疗RA的作用机制。

## 1 资料与方法

**1.1 三叶青活性成分、靶点筛选及“药物-成分-靶点”网络构建** 利用中国知网、万方、PubMed等主要数据库文献获取三叶青主要活性成分,通过化学专业数据库和PubChem数据库对结果进行整理转化分类。利用SwissTargetPrediction数据库预测并筛选作用靶点,筛选条件:口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18。将数据导入Cytoscape3.7.1软件,构建“药物-成分-靶点”网络图。

**1.2 RA疾病靶点获取** 使用GeneCards数据库搜索“rheumatoid arthritis”,获取已验证的相关基因,剔除重复值,并通过Uniprot数据库匹配转化为通用格式。使用image GP网站绘制三叶青与RA的重合靶点韦恩图。

**1.3 蛋白质互作(PPI)网络构建与核心靶点筛选** 将重合靶点导入String数据库,选择物种为“homo sapiens”,中等置信度(0.4),并隐藏游离节点,下载得到PPI网络信息图。再使用Cytoscape3.7.1软件,对PPI结果进行分析与可视化处理,节点大小颜色与连线粗细直接反映计算的degree、combined score属性值,最终获得三叶青治疗RA的PPI网络图。再将药物靶点与RA疾病靶点分别导入Cytoscape3.7.1软件,利用CytoNCA插件,计算所有节点拓扑属性值,筛选自由度(degree)、介数(Betweenness)、紧密度(Closeness)、局部边连通性(LAC)4个属性值大于所有节点相应属性中位数的节点,提取核心节点PPI网络图,得到三叶青作用于RA的关键靶点。

**1.4 基因本体(GO)功能与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析** 将三叶青治疗RA的关键靶点导入Metascape平台,限定条件: $P < 0.01$ , Min overlap=3, Min Enrichment=1.5,得到GO与KEGG富集分析结果。并通过微生信网站绘制GO功能蛋白富集柱状图和KEGG信号通路富集气泡图。

**1.5 分子对接验证** 通过PDB数据库,以pdb格式下载富集分析得到的关键靶点3D结构图。通过ZINC数据库下载筛选得到的三叶青小分子活性成分。利用AutoDock Tools1.5.6软件,将蛋白靶点设置为受体,三叶青活性成分设置为配体,均转化为pdbqt格式,并通过AutoDock4进行分子对接分析,以分子对接结合能高低作为判断结合构象稳定性的标准,分子对接结合能越低,结合性越高。再运用Pymol软件对结果进行可视化。

## 2 结果

**2.1 三叶青活性成分筛选** 见表1。共检索到三叶青块根化学成分125种,经SwissTargetPrediction数据库药物吸收、分布、代谢、排泄(ADME)限定条件胃肠道吸收和类药性筛选后,获得主要活性成分30个<sup>[10-15]</sup>,包括黄酮类、甾体类、酚酸类、苯磺酸类等。

**2.2 三叶青靶点及“药物-成分-靶点”网络图** 经SwissTargetPrediction平台下载得到三叶青30个活性成分对应相关靶点430个。再通过Cytoscape3.7.1软件,得到“三叶青-成分-靶点”网络图,见图1。其中,根据degree值排名前5的成分是亚麻酸甲酯、槲皮素、山奈酚、鼠李柠檬素、白藜芦醇。

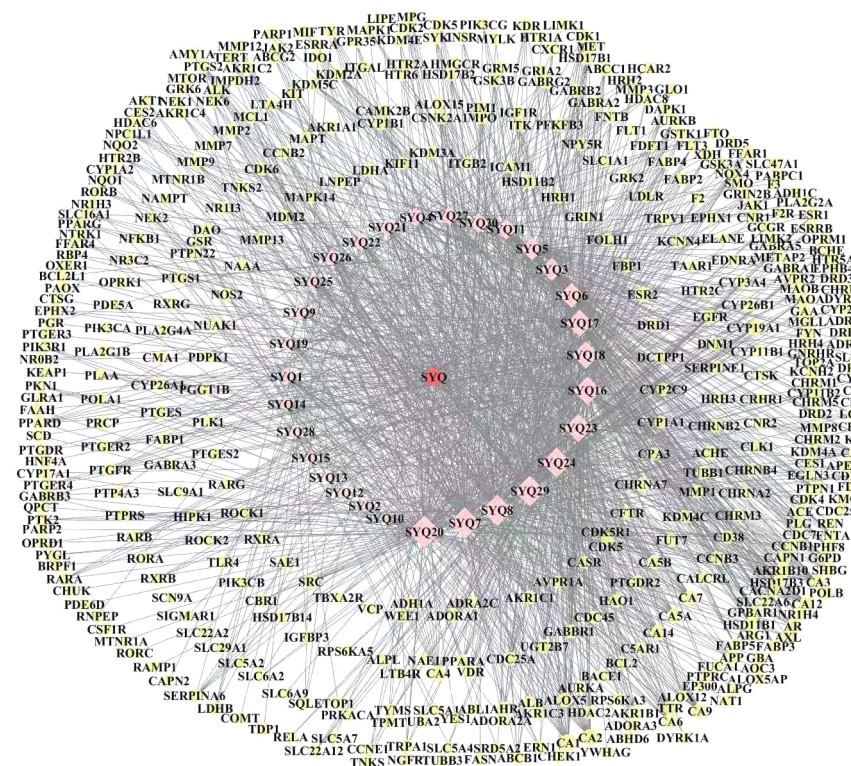
**2.3 RA潜在靶点** 获取RA潜在靶点4958个,关联值2次取中位数为5.8,以Relevance score $\geq 5.8$ 为筛选阈值,得到RA最终潜在靶点1186个,与三叶青活性成分对应靶点取交集,得到三叶青作用于RA潜在靶点127个,见图2。

**2.4 PPI网络及核心靶点筛选** 将交集靶点输入String数据库,选择物种为“homo sapiens”,中等置信度(0.4),隐藏游离节点,经Cytoscape3.7.1软件处理后,得到PPI网络图,见图3。利用CytoNCA插件,

表1 三叶青主要活性成分

| 编号    | 中文名             | 英文名                                        | 分子式                                            | 分子量 |
|-------|-----------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------|-----|
| SYQ1  | 4-羟基-3-甲氧基苯甲醛   | 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde            | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   | 158 |
| SYQ2  | 5-羟甲基糠醛         | 5-hydroxymethylfuroal                      | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 126 |
| SYQ3  | 壬二酸             | Azelaic acid                               | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>  | 188 |
| SYQ4  | 香草酸             | vanillylic acid                            | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>   | 168 |
| SYQ5  | 2-环己基哌啶         | 2-Cyclohexylpiperidine                     | C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> N              | 167 |
| SYQ6  | 13-甲基-十四烷酸, 甲基酯 | 13-Methyl-tetradecanoic acid, methyl ester | C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub> | 378 |
| SYQ7  | 槲皮素             | Quercetin                                  | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> | 302 |
| SYQ8  | 山奈酚             | Kaempferol                                 | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> | 286 |
| SYQ9  | 樟脑              | Camphor                                    | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O              | 152 |
| SYQ10 | 2,3-丁二醇         | 2,3-Butanediol                             | C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>  | 90  |
| SYQ11 | 己酸              | Hexanoic acid                              | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>  | 116 |
| SYQ12 | 苯甲醇             | Benzyl alcohol                             | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O                | 108 |
| SYQ13 | 苯乙醇             | benzeneethanol                             | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O               | 122 |
| SYQ14 | 苯酚              | Phenol                                     | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O                | 94  |
| SYQ15 | 二苯胺             | Diphenylamine                              | C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N              | 169 |
| SYQ16 | 肉豆蔻酸            | Myristic acid                              | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub> | 228 |
| SYQ17 | 十五酸             | Pentadecylic acid                          | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> | 242 |
| SYQ18 | 棕榈酸             | Palmitic acid                              | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> | 256 |
| SYQ19 | 补骨脂素            | psoralene                                  | C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>  | 186 |
| SYQ20 | 亚麻酸甲酯           | Methyl Linolenate                          | C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> | 292 |
| SYQ21 | 肉桂酸             | Cinnamic acid                              | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>   | 148 |
| SYQ22 | 原儿茶酸            | protocatechuic acid                        | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>   | 154 |
| SYQ23 | 氧化白藜芦醇          | oxyresveratrol                             | C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> | 244 |
| SYQ24 | 白藜芦醇            | Resveratrol                                | C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> | 228 |
| SYQ25 | 对羟基苯甲酸          | 4-Hydroxybenzoic acid                      | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 138 |
| SYQ26 | 水杨酸             | Salicylic acid                             | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 138 |
| SYQ27 | 4-羟基肉桂酸         | cis-4-coumaric acid                        | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>   | 164 |
| SYQ28 | 虎杖苷             | Polydatin                                  | C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub> | 390 |
| SYQ29 | 鼠李柠檬素           | Rhamnocitrin                               | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> | 300 |
| SYQ30 | 大黄素             | Emodin                                     | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> | 270 |





注：圆形为药物三叶青，菱形为有效成分，八边形为相关靶点，图形面积越大，表明该有效成分与靶点的关联性越强。

图1 三叶青-成分-靶点网络图

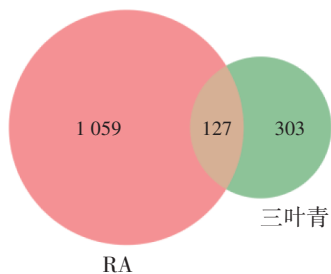
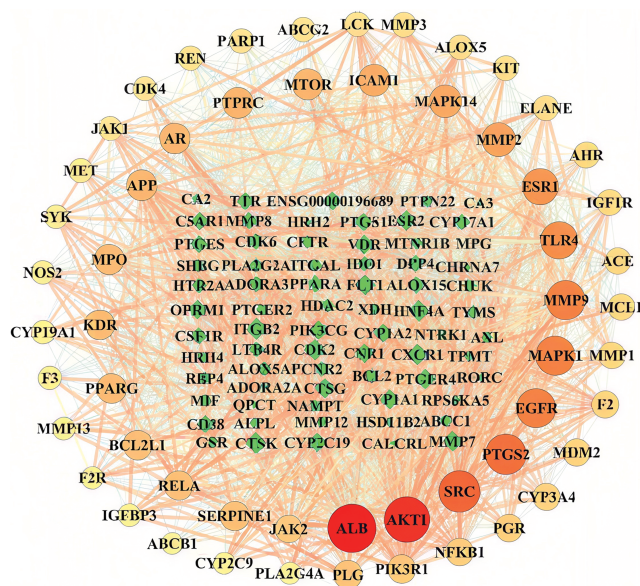


图2 药物疾病靶点韦恩图

计算节点属性值，根据4个属性值筛选得到46个核心靶点，主要包括白蛋白(ALB)、蛋白激酶B1(AKT1)、肉瘤病毒蛋白(SRC)、前列腺素G/H合酶2(PTGS2)、基质金属蛋白酶9(MMP9)、表皮生长因子受体(EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)、Toll样受体4(TLR4)、人雌激素受体1(ESR1)等，见图4。

**2.5 GO功能与KEGG通路富集分析** GO富集分析结果显示，细胞组成主要包括囊腔、分泌颗粒腔、膜筏、膜微结构域等；分子功能主要包括激酶结合、蛋白激酶结合、转录因子结合、转录辅激活物结合、丝氨酸类肽酶活动等；生物学过程主要包括对肽的



注：节点面积代表degree大小，连线粗细代表combine score大小。

图3 三叶青治疗RA PPI网络图

反应、炎症反应、细胞迁移的正向调控、辐射应答、细胞对脂质的应答等，见图5。KEGG通路富集分析共获得209条信号通路。主要富集在癌症途径、内分泌



泌激素耐药、癌症蛋白聚糖、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)-蛋白激酶B(AKT)、受体酪氨酸激酶抑制、前列腺癌、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物及其受体(AGE-RAGE)、肿瘤坏死因子(TNF)、催乳素、缺氧诱导因子1(HIF-1)等信号通路。根据 $P$ 值大小排序,选择差异性最大的前10条通路作气泡图,见图6。

**2.6 “药物-有效成分-关键靶点-信号通路”复杂网络** 使用Cytoscape3.7.1软件,将KEGG富集结果中 $P$ 值最小的10条通路与三叶青的有效成分、作用靶点三者结合,构建“三叶青-活性成分-靶点-通路”网络图,见图7。结果三叶青中共有22个有效成分与这10条通路相关联,其中鼠李柠檬素(SYQ29)、山奈酚(SYQ8)、白藜芦醇(SYQ24)、亚麻酸甲酯(SYQ20)、槲皮素(SYQ7)为发挥作用的重要成分。与通路相关靶点共27个,其中EGFR、MAPK1、PIK3R1、IGF1R、AKT1、AR等靶点皆与此作用过程关系密切,可能是三叶青治疗RA的关键靶点。

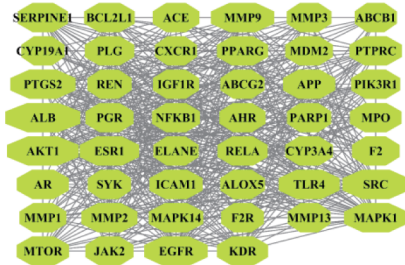
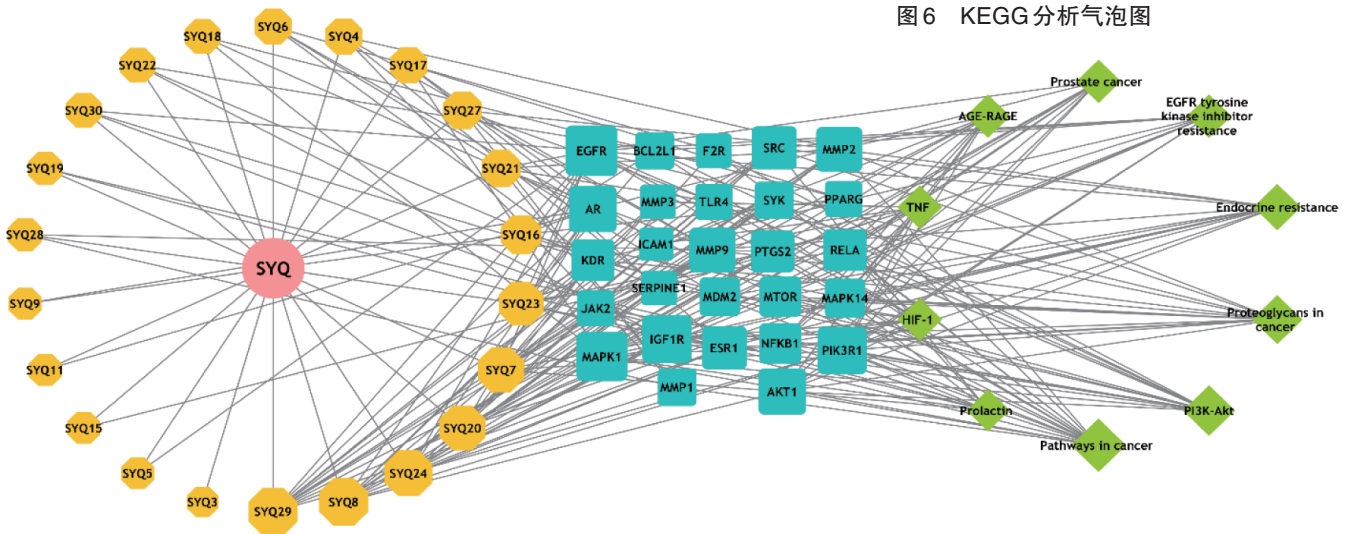


图4 三叶青治疗RA关键靶点PPI网络图



注:粉色圆形为三叶青,橙色六边形为有效成分,蓝色矩形为作用靶点,绿色菱形为通路。

图7 三叶青治疗RA“药物-成分-靶点-通路”网络图

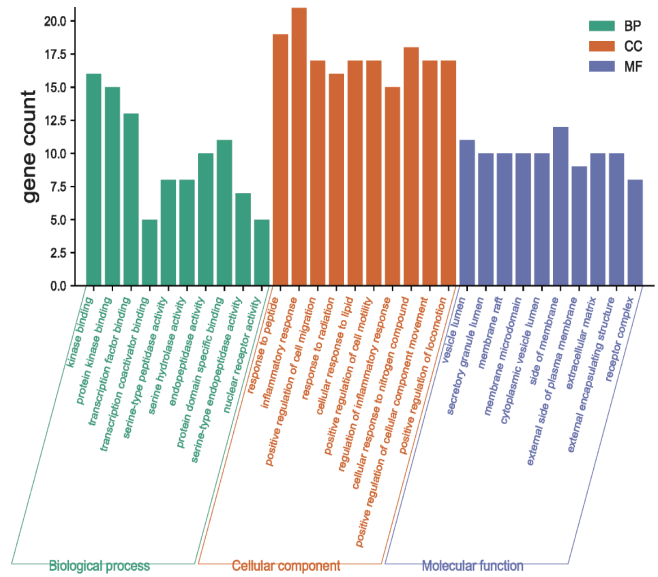


图5 GO分析柱状图

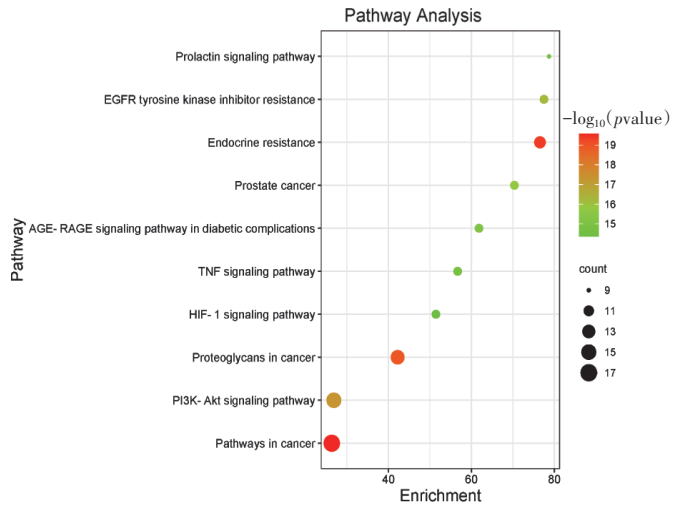


图6 KEGG分析气泡图

**2.7 活性成分与核心靶点分子对接验证** 见表2。将“三叶青-活性成分-靶点-通路”中连接度最高的5个化学成分与连接度最高的7个核心靶点 EGFR、MAPK1、IGF1R、PIK3R1、AR、AKT1、MMP9 分别进行分子对接,结果显示鼠李柠檬素与MMP9,山奈酚与PIK3R1,白藜芦醇与MMP9,亚麻酸甲酯与MMP9,槲皮素与PIK3R1结合能最小,且均 $<-7$  kcal/mol,有强烈结合活性,两者因氢键作用形成的构象最稳定,自发结合的可能性最高,具体分子对接模式示

意图见图8。

表2 主要活性成分与核心靶点分子对接结合能 kcal/mol

| 成分    | 核心靶点  |       |       |        |       |       |       |
|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
|       | EGFR  | MAPK1 | IGF1R | PIK3R1 | AR    | AKT1  | MMP9  |
| 鼠李柠檬素 | -7.92 | -7.27 | -7.49 | -6.67  | -8.07 | -6.47 | -9.32 |
| 山奈酚   | -7.32 | -6.48 | -7.71 | -8.45  | -7.26 | -6.25 | -7.92 |
| 白藜芦醇  | -6.80 | -7.38 | -6.17 | -7.03  | -6.0  | -6.24 | -8.59 |
| 亚麻酸甲酯 | -6.23 | -5.27 | -4.88 | -6.42  | -6.41 | -3.94 | -7.69 |
| 槲皮素   | -7.30 | -6.92 | -7.80 | -8.86  | -7.16 | -6.12 | -8.30 |

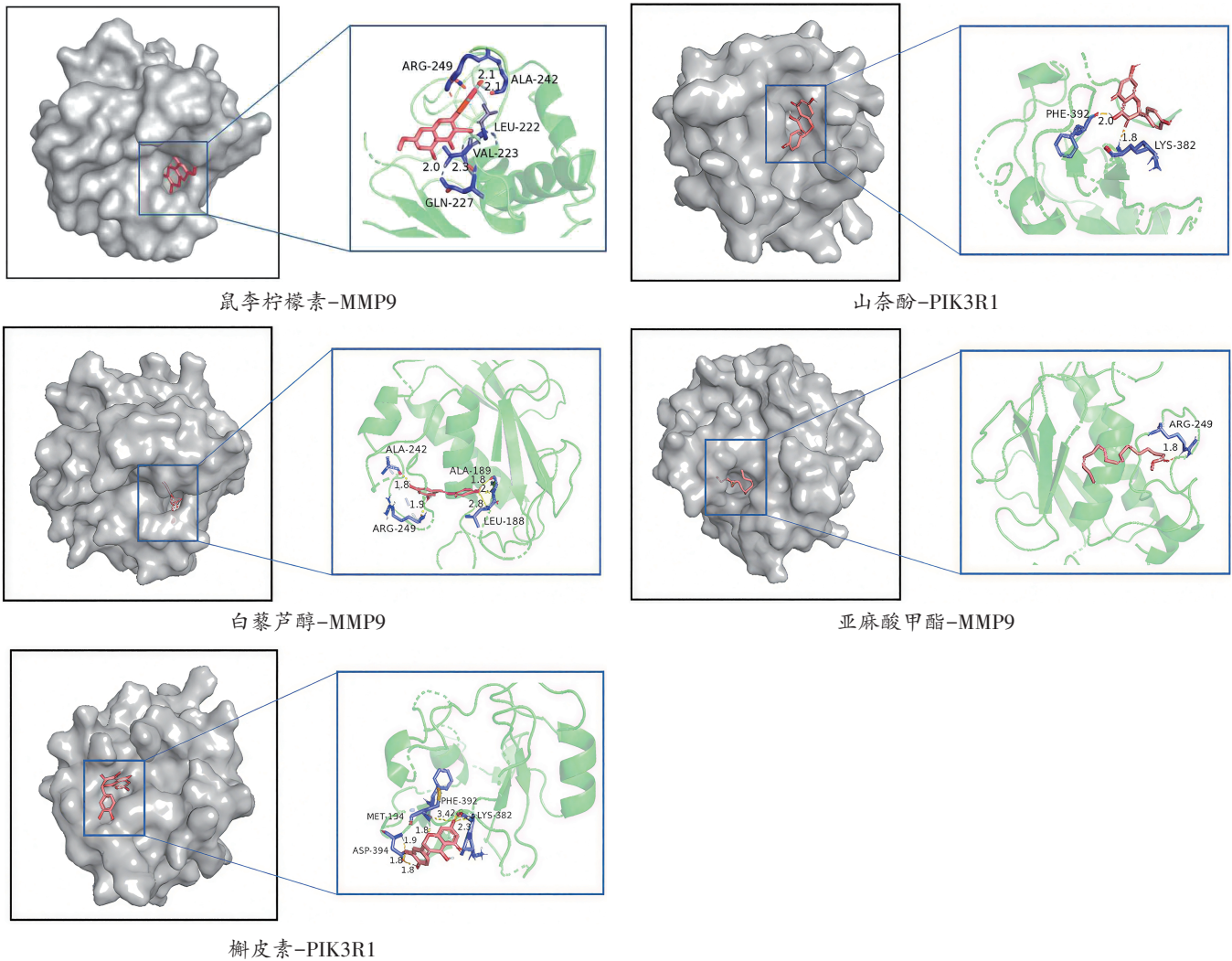


图8 分子对接模式示意图

### 3 讨论

RA的中医辨证类型复杂,包括风湿痹阻、寒湿痹阻、湿热痹阻、痰瘀痹阻、瘀血阻络、气血两虚、肝肾不足、气阴两虚八大类<sup>[16]</sup>。正虚邪实,湿邪为患,久病入络是RA的基本病机,临床治疗因证而

异,手段多样。现代药理学研究发现,三叶青综合提取物灌胃胶原诱导型关节炎(CIA)小鼠后,小鼠的足肿胀度明显减轻,血液中骨保护素(OPG)与白细胞介素(IL)-17含量明显升高,证实其对于RA具有良好的防治作用<sup>[17]</sup>。王铁烽等<sup>[18]</sup>通过大鼠实验证实了三



叶青的抗RA作用,但作用机制尚不明确。本研究采用网络药理学和分子对接方法,探索三叶青作用于RA的作用机制。

结合“药物-成分-靶点-通路”网络图和GO分析可知,三叶青治疗RA的关键成分有鼠李柠檬素、山柰酚、白藜芦醇、亚麻酸甲酯、槲皮素等。其基因功能主要体现在激酶结合、蛋白激酶结合、转录因子结合、转录辅激活物结合、丝氨酸类肽酶活动等,生物学过程主要包括对肽的反应、炎症反应、细胞迁移的正向调控、辐射应答、细胞对脂质的应答等。其中,鼠李柠檬素与RA的关联度最高。鼠李柠檬素属于黄酮类成分,动物实验证明其对于肿胀、渗出急性炎症以及肉芽肿慢性炎症均具有一定的抑制作用<sup>[19]</sup>,且被证实能通过促进脾脏及胸腺细胞增殖的方式,提高巨噬细胞的吞噬活性,促进脾细胞血清溶血素的形成,从而增强非特异性免疫功能<sup>[20]</sup>。山柰酚和白藜芦醇属于多酚类活性成分,该类成分能通过抑制激酶信号,影响特定信号传导通路,改变RA免疫激活阈值。其中,体内外实验结果显示,山柰酚能通过阻断丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路,抑制成纤维样滑膜细胞(FLSs)的迁移和侵袭,减轻CIA小鼠关节炎症<sup>[21]</sup>。白藜芦醇能抑制辅助性T细胞17(Th17)扩张并减少其释放促炎细胞因子,调节PI3K-AKT蛋白激酶信号通路<sup>[22]</sup>。亚麻酸甲酯存在多个双键,属于生物活性较高的一类不饱和脂肪酸甲酯,能通过AKT/GSK3 $\beta$ 信号通路,去抑制 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)介导的转录活动激活<sup>[23]</sup>,而 $\beta$ -catenin因具有影响T细胞从双阴性细胞(DN)向双阳性细胞(DP)阶段的发育,同时调节树突状细胞对肠系膜淋巴结免疫活化和免疫耐受之间平衡等固有免疫中的作用而受到关注<sup>[24]</sup>。槲皮素属于黄酮醇类化合物,临床观察性试验结果表明其治疗RA效果明显。同时,动物实验结果证实其能减轻炎症反应、抑制滑膜血管翳形成、抑制滑膜增生、抑制中性粒细胞外诱捕网(NETs)形成、调节破骨/成骨细胞和Th17/调节性T细胞(Treg)平衡,在治疗RA上具有较大潜力<sup>[25]</sup>。

结合核心靶点PPI网络图和“药物-成分-靶点-通路”图,得到三叶青化学成分相关的7个核心靶点,包括EGFR、MAPK1、IGF1R、PIK3R1、AR、

AKT1、MMP9。同时,通过KEGG富集分析可知,差异性最高的3条通路为癌症途径、PI3K-AKT、癌症蛋白聚糖,合理推测RA与癌症存在某些共同靶点。三叶青作为一种疗效确切的抗肿瘤药物,此方面的作用机制已受到广泛关注与研究,肿瘤能导致免疫微环境严重失衡,三叶青可通过激活细胞免疫与体液免疫,起到抗肿瘤的作用。RA同属于破坏免疫平衡的疾病类型,在相同药物作用时极可能存在相同靶点。EGFR为上皮生长因子受体,与相应的配体结合后,能激活PI3K、MAPK等信号通路,有调控细胞增殖和调节骨代谢的作用<sup>[26]</sup>。MAPK1属于丝裂原活化蛋白激酶家族,可通过减少氧自由基,从而抑制细胞增殖和促进凋亡,减轻炎症反应,缓解RA的症状。研究证实TNF- $\alpha$ 能激活P38-MAPK通路,促进炎症反应,使细胞发生程序化死亡。P38-MAPK通路的抑制剂,通过抑制MMP的表达来抑制NO的表达,从而减少由NO诱导的软骨组织凋亡,减少TNF- $\alpha$ 、IL-1等炎症因子,起到保护关节软骨的作用<sup>[27]</sup>。AKT1是一种丝苏氨酸特异性蛋白激酶,可调控PI3K-AKT通路,在PI3K下游激活,可磷酸化细胞凋亡启动因子(Bad)、核转录因子(NF)- $\kappa$ B、雷帕霉素靶蛋白(mTOR)等多个下游靶点,调控RA引起的成纤维样滑膜细胞增殖与凋亡的失衡,且作为许多致炎因子的媒介,对RA炎症反应过程具有正向调控作用<sup>[28]</sup>。PI3K-AKT通路作为细胞自噬的经典传导通路,包括PIK3R1调节亚基和AKT1亚型,通过磷酸化及结构域相互作用,激活AKT,直接或间接磷酸化mTOR及其他下游靶蛋白,如NF- $\kappa$ B,减弱细胞内成纤维样滑膜细胞的自噬反应,促进炎症因子表达<sup>[29]</sup>。同时结合分子对接的结合模式及结合力大小结果,三叶青各成分与7个核心靶点均具有很强的亲和力,其中MMP9与PIK3R1与多个主要活性成分有强烈的结合活性。因此P38-MAPK通路、PI3K/AKT/mTOR及PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B通路可能是三叶青治疗RA的关键性通路,具有后期深入研究的价值。

综上,网络药理学及分子对接技术分析结果显示,三叶青是通过亚麻酸甲酯、槲皮素、山柰酚等主要活性成分,作用于ALB、AKT1、SRC等核心靶点,调控癌症途径、内分泌激素耐药作用、癌症蛋白聚糖、PI3K-AKT等通路治疗RA。



## [参考文献]

- [1] SCOTT D L, WOLFE F, HUIZINGA T W J. Rheumatoid arthritis[J]. The Lancet, 2010, 376(9746): 1094-1108.
- [2] 韩宇飞, 高明利, 刘东武. 类风湿性关节炎的发病机制研究进展综述[J]. 中国卫生标准管理, 2021, 12(1): 162-165.
- [3] 巴燕·艾克海提, 古结乃特汗·拜克里木. 祛风湿、通经祛痹类中药治疗类风湿性关节炎[J]. 中医学报, 2018, 33(12): 2466-2469.
- [4] 阿古达木, 陈薇薇, 耿丽娜, 等. 从瘀论治类风湿关节炎进展[J]. 中医学报, 2021, 36(3): 533-540.
- [5] 王珠强, 乐李敬, 黄泽豪. 蛇附子的本草考证[J]. 中药材, 2015, 38(11): 2421-2424.
- [6] 张晓雄, 邱韬, 林彤, 等. 三叶青的化学成分及药理作用的研究进展[J]. 福建轻纺, 2024, 2: 42-47.
- [7] 孙永. 三叶青化学成分及其抗氧化和抗癌活性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- [8] 李萍, 彭昕, 楼天灵, 等. 三叶青多糖抗免疫性肝损伤的作用机制研究[J]. 中药材, 2020, 43(3): 712-715.
- [9] FENG Z Q, HAO W R, LIN X Y, et al. Antitumor activity of total flavonoids from *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg is associated with the inhibition of regulatory T cells in mice[J]. Oncot Targets and Therapy, 2014, 7: 947-956.
- [10] 丁丽, 张璐幸, 邱彦, 等. 三叶青三氯甲烷部位化学成分及其抗肿瘤活性研究[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(21): 1857-1860.
- [11] 许文, 傅志勤, 林婧, 等. UPLC-MS/MS法同时测定三叶青中10种黄酮类成分[J]. 药学报, 2014, 49(12): 1711-1717.
- [12] 霍昕, 杨迺嘉, 刘文炜, 等. 三叶青块根乙醚提取物成分研究[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(20): 1651-1653.
- [13] 徐硕, 金鹏飞, 惠慧, 等. 三叶青石油醚萃取部位的化学成分研究[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(3): 270-272.
- [14] 曾美玲, 沈耐涛, 吴赛伟, 等. 基于UPLC-Triple-TOF/MS方法的三叶青化学成分分析[J]. 中草药, 2017, 48(5): 874-883.
- [15] 吴舟涛, 朱玲燕, 吴学谦, 等. 三叶青化学成分和抗肿瘤作用研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(3): 319-324.
- [16] 中华中医药学会风湿病分会. 类风湿关节炎病证结合诊疗指南[J]. 中医杂志, 2018, 59(20): 1794-1800.
- [17] 浙江中医药大学. 三叶青综合提取物在制备防治类风湿性关节炎药物中的应用: CN201711108697.4[P]. 2018-04-20.
- [18] 王铁烽, 朱文瑞, 苏洁, 等. 三叶青调节Th17/Treg平衡抗类风湿性关节炎的作用及机制研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2023, 28(2): 138-146.
- [19] 古秋莉, 黄聪琳, 张丽, 等. 镰形棘豆中鼠李柠檬素抗炎作用研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(12): 48-50.
- [20] 郭敏, 张丽, 姜华. 藏药镰形棘豆鼠李柠檬素对免疫抑制小鼠非特异性免疫功能的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(5): 57-59.
- [21] PAN D, LI N, LIU Y, et al. Kaempferol inhibits the migration and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by blocking activation of the MAPK pathway[J]. International Immunopharmacology, 2018, 55: 174-182.
- [22] OLIVIERO F, SCANU A, ZAMUDIO-CUEVAS Y, et al. Anti-inflammatory effects of polyphenols in arthritis[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 98(5): 1653-1659.
- [23] KO G A, SHRESTHA S, KIM C S. Sageretia thea fruit extracts rich in methyl linoleate and methyl linolenate downregulate melanogenesis via the Akt/GSK3 $\beta$  signaling pathway[J]. Nutrition Research and Practice, 2018, 12(1): 3-12.
- [24] 谈勤春, 王青青.  $\beta$ -Catenin与免疫系统[J]. 国际免疫学杂志, 2013, 36(1): 32-35.
- [25] 蒋海旭, 许杰, 陆清怡. 槲皮素治疗类风湿关节炎的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(5): 243-250.
- [26] 曾文波, 兰生辉, 蔡贤华, 等. EGFR通路在骨性关节炎研究进展[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2019, 5(2): 109-113.
- [27] 张学增. RA治疗新靶点—信号转导通路的调节[J]. 现代免疫学, 2010, 30(3): 253-256.
- [28] 刘琼, 李永乐, 董平, 等. PI3K/Akt信号通路与类风湿关节炎相关性探讨[J]. 风湿病与关节炎, 2021, 10(3): 62-66.
- [29] 郝润璇. 基于PI3K/AKT/mTOR信号通路探讨刺老苞抑制RA滑膜增值的作用及机制[D]. 恩施: 湖北民族大学, 2020: 27-28.

[责任编辑: 钟志敏, 蒋维超(英文)]