从网络药理学探讨洋金花治疗 类风湿关节炎的作用机制

付长龙^{1,2},梅阳阳³,李西海^{1,2},邱志伟^{1,2,4},陈长兴^{4*},郑春松^{1,2}

1 福建中医药大学中西医结合研究院,福建 福州 350122;

2 福建省中西医结合老年性疾病重点实验室,福建 福州 350122;

3 福建卫生职业技术学院,福建 福州 350101;

4 福建中医药大学附属康复医院,福建 福州 350003

* 通信作者:陈长兴,E-mail: 1125452554@qq.com

收稿日期:2020-05-10;接受日期:2020-07-20

基金项目:国家自然科学基金项目(81873319);福建省自然科学基金项目(2019J01363);

福建中医药大学高层次人才科研启动资金项目(X2019011-人才)

DOI:10.3724/SP.J.1329.2020.06008

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

摘要 目的:运用网络药理学构建洋金花活性成分靶点及类风湿关节炎的疾病靶点,预测洋金花治疗类风湿关节炎的特异分子信号及通路,分析其潜在治疗靶标及分子机制。**方法:**通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)归纳筛选洋金花药物所有化学成分,预设口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18进行检索,经 Uniprot 数据库进行有效化合物全部关联基因的汇集筛选,利用 GeneCards 与 OMIM 数据库进行以“rheumatoid arthritis”为检索词的疾病靶点筛选,归纳分析洋金花药物靶点与类风湿关节炎疾病靶点的叠加靶点区域,作为洋金花治疗类风湿关节炎的预测靶点基因。基于 Cytoscape 3.7.1 软件和 STRING 7.8 数据库对导出数据进行网络靶点构建与分析,最后经 GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路分析进一步筛选其主要作用靶点及信号通路。**结果:**①经筛选分析导出洋金花有效化合物 27 个,对应的靶基因 318 个,治疗类风湿关节炎的预测靶基因 125 个。②PPI 网络中的核心基因主要包括 Ju-Nana 原癌基因(JUN)、蛋白激酶 Bα(PKBα 或 AKT1)、V-rel 网状内皮细胞过多症病毒癌基因同源物 A(RELA)、丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)等。③基因本体(GO)功能富集分析显示洋金花治疗类风湿关节炎的预测靶基因生物学过程(BP)主要涉及脂多糖反应、细菌源性分子的反应、对活性氧的反应、对金属离子反应、氧化应激反应、类固醇激素反应、活性氧代谢过程、对氧含量的反应等;细胞组分(CC)包括膜筏、膜区、质膜筏、突触前膜的组成部分等;分子功能(MF)主要涉及到核受体的活性、转录因子活性(直接配体调控序列特异性 DNA 结合)、类固醇激素受体活性、细胞因子受体结合、细胞因子活性、DNA 结合转录激活剂活性、RNA 聚合酶 II 转录因子结合、激酶调节活动、受体配体活动等。京都基因和基因组百科全书(KEGG)结果显示主要有 4 条基因显著富集的通路(IL-17 信号通路、TNF 信号通路、HIF-1 信号通路、Toll 样受体信号通路)与洋金花治疗类风湿关节炎关系密切。**结论:**洋金花治疗类风湿关节炎的潜在机制是通过发挥抗炎镇痛、抗氧化作用而起效,其涉及多条交互作用的信号途径。

关键词 类风湿关节炎;洋金花;网络药理学;作用机制;信号通路

类风湿关节炎是一类以滑膜炎、关节进行性破坏为主要病理基础的慢性自身免疫性疾病,具有易

反复、病程长、高致残率等特点,其受累关节常伴有疼痛、肿胀、功能障碍甚至畸形,严重影响类风

引用格式:付长龙,梅阳阳,李西海,等.从网络药理学探讨洋金花治疗类风湿关节炎的作用机制[J].康复学报,2020,30(6):459-467.

FU C L, MEI Y Y, LI X H, et al. Mechanism of *Hindu Datura* in the treatment of rheumatoid arthritis from the perspective of network pharmacology [J]. Rehabilitation Medicine, 2020, 30(6): 459-467.

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.06008

节炎患者的健康及生活质量^[1-2]。类风湿关节炎归属于中医“痹症”范畴,基本病机为本虚标实,即以肺、脾、肾 3 个脏腑功能减弱为本,风、寒、湿等外邪及痰浊致气滞血瘀,引起经络痹阻为标实^[3-4]。

洋金花又名闹洋花、醉心花、风茄花、风茄花、白花曼陀罗,其味辛性温,具有行痹通络、止痛镇静之效,可用于治疗风湿痹痛、跌打损伤及慢惊风之痉挛抽搐等,是临床治疗类风湿关节炎常用药物之一。《本草纲目》记载:“诸风及寒湿脚气,煎汤洗之,又主惊痫及脱肛,并入麻药”,2015 年版《中国药典》亦刊载其具有重要的药用价值。随着现代医学的深入发展,洋金花及其提取成分已被药理学、基础医学及临床应用等领域专家广泛研究,并成为新的研究热点。研究表明,洋金花具有调节免疫、抗炎、抑制增殖等功能^[5],其多种活性成分可有效治疗类风湿关节炎,减轻类风湿关节炎的滑膜炎反应,调节免疫应答,阻止其病理进程进一步发展。此外,洋金花临床治疗类风湿关节炎具有独特疗效^[6-7]。本研究通过网络药理学方法,构建洋金花作用于类风湿关节炎靶点的网络模型和“疾病-药物-成分-靶点”网络,筛选与分析网络中的核心靶点以及相应的功能富集和信号通路,为阐明洋金花治疗类风湿关节炎的作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 数据库和软件

数据库和软件具体应用情况,见表 1。

表 1 数据库与软件汇集
Table 1 Collections of database and software

数据库或软件	相应网站
Cytoscape 3.7.1	https://cytoscape.org/
GeneCards 数据库	https://www.genecards.org/
OMIM 数据库	https://omim.org/
R 3.6.3	https://www.r-project.org/
STRING 7.8 数据库	https://string-db.org/
中药系统药理学数据库 和分析平台(TCMSP)	http://tcmspw.com/tcmsp.php/
Uniprot 数据库	http://www.uniprot.org/

1.2 洋金花有效化合物及靶点筛选

通过中药系统药理学数据库和分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP),检索与洋金花相关的所有化学成分,以口服生物利用度(oral bioavailability,OB)≥30%,类药性(drug likeness,DL)

≥0.18 作为筛选指标,筛选出洋金花的有效化合物,通过 Uniprot 数据库将有效化合物的所有蛋白名称转化为基因名。

1.3 类风湿关节炎靶点的获取

通过 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库中的 Gene map 以“rheumatoid arthritis”为关键词进行已知的类风湿关节炎靶点检索。

1.4 疾病-药物-有效化合物-靶点网络的构建

用 R 3.6.3 的韦恩图(Venn Diagram)包将洋金花靶点和类风湿关节炎靶点取交集并作韦恩图,作为洋金花治疗类风湿关节炎的预测靶基因,利用网络图编辑软件 Cytoscape 3.7.1 对获取的预测靶基因和洋金花有效化合物进行可视化处理,构建疾病-药物-有效化合物-靶点网络。

1.5 蛋白质相互作用网络构建

STRING 数据库是一个在线搜索已知蛋白相互作用关系的数据库,本研究采用 STRING 7.8 数据库构建预测靶基因的蛋白相互作用网络,去除游离节点,为提高可信度,置信度设置为 0.9,建立蛋白质相互作用网络(protein-protein interaction network, PPI)。将获得的网络导入 Cytoscape 3.7.1 进行可视化处理,用 cytoHubba 插件获取度值(degree)最高的 30 个基因作为核心基因,度值可以反映网络中某个节点与其他节点相连接的数目,度值越高的节点更倾向于网络中的核心基因。

1.6 GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路分析

利用 R 3.6.3 ClusterProfiler 包对洋金花治疗类风湿关节炎的预测靶基因进行 GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路分析,获得洋金花治疗类风湿关节炎的主要功能富集信息和信号通路。

2 结 果

2.1 洋金花有效化合物和作用靶点

在 TCMSP 中共检测到洋金花有效化合物 27 个,对应的靶基因 318 个,主要化合物包括槲皮素、山柰酚、东莨菪碱、白曼陀罗素、阿托品等。见表 2。

2.2 类风湿关节炎靶点

在 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库中共检索到类风湿关节炎相关靶点 4 360 个。

2.3 疾病-药物-有效化合物-靶点网络

用 Venn Diagram 包共筛选出洋金花治疗类风湿关节炎的预测靶基因 125 个,见图 1。将预测靶基因和有效化合物导入 Cytoscape 3.7.1 进行可视化处理,见图 2。该网络共有 142 个节点,352 条边。网络

表 2 洋金花活性化合物
Table 2 Active compounds of hindu datura

化合物 ID	化合物名称	OB/%	类药性
MOL011093	apohyosine(天仙子碱)	59.68	0.25
MOL001554	scopolamine(东莨菪碱)	67.97	0.27
MOL011470	12-deoxywithastramonolide	109.97	0.75
MOL011484	datuarmeteloside A	36.13	0.25
MOL011486	datuarmeteloside B	31.74	0.26
MOL011487	datuarmetelosideB_qt	62.06	0.75
MOL011488	datuarmeteloside C	41.16	0.25
MOL011490	datumetelin(白曼陀罗素)	56.04	0.68
MOL011491	datumetine(白曼陀罗碱)	84.74	0.18
MOL011495	daturametelinA_qt	42.04	0.89
MOL011497	(6R)-6-[(1R)-2-hydroxy-1-[(8S,9S,10R,13S,14S,17R)-1-keto-10,13-dimethyl-4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]ethyl]-4-methyl-3-methylol-5,6-dihdropyran-2-one	53.86	0.90
MOL011498	(1R,2R,5R,6S)-2-[(8S,9S,10R,13S,14S,17R)-10,13-dimethyl-1-oxo-4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-decahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-(methoxymethyl)-5-methyl-4,8-dioxabicyclo[3.3.1]nonan-7-one	81.26	0.68
MOL011499	daturameteline A	50.40	0.73
MOL011505	daturameteloside E	36.00	0.37
MOL011507	daturameteloside F	45.10	0.35
MOL011519	hyosine(东莨菪碱)	49.84	0.27
MOL011520	hyaconitine(次乌头碱)	31.39	0.26
MOL011531	secowithamerclin	50.21	0.89
MOL011539	withametelin	83.59	0.77
MOL011540	withanolide D	58.29	0.76
MOL003283	(2R,3R,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-7-methoxy-2,3-dimethylol-tetralin-6-ol	66.51	0.39
MOL003644	withaferine	33.14	0.73
MOL000422	kaempferol(山柰酚)	41.88	0.24
MOL005406	atropine(阿托品)	45.97	0.19
MOL000631	coumaroyltyramine(酪胺)	112.90	0.20
MOL007923	2-(4-hydroxyphenyl)ethyl (E)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoate	93.36	0.21
MOL000098	quercetin(槲皮素)	46.43	0.28

中包含 27 个有效化合物,槲皮素(quercetin)、山柰酚(kaempferol)、阿托品(scopolamine)、异落叶松脂素[(2R,3R,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-7-methoxy-2,3-dimethylol-tetralin-6-ol]、天仙子碱(apohyosine)、东莨菪碱(hyosine),分别为 104、37、11、11、10。提示以上关联性较强的化合物可能是洋金花治疗类风湿关节炎的重要组成。

2.4 洋金花治疗类风湿关节炎预测靶基因的 PPI 网络

125 个靶点基因基于 STRING 数据库的 PPI 网络,隐藏游离节点,置信度 0.9,见图 3。该网络共有 125 个节点,452 条边,平均度值 7.23。每个节点代表一个靶基因,边代表节点之间的相互作用关系,

边越多说明该节点在网络中越重要。将该网络导入 Cytoscape 进行可视化处理,利用 cytoHubba 插件获得度值最高的 30 个基因作为核心基因,见图 4。由图可见,Ju-Nana 原癌基因(JUN)、蛋白激酶 Bα(PKBα 或 AKT1)、V-rel 网状内皮细胞过多症病毒原癌基因同源物 A(RELA)、丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)度值(degree 依次为:30、29、28、27)明显高于其余靶点度值(degree 均<22),这提示以上靶点在 PPI 网络中发挥了重要的关联作用,可能是洋金花与类风湿关节炎产生关联的关键作用靶点。

2.5 基因本体功能富集分析

基因本体(gene ontology,GO)功能富集分析包括生物学过程(biological process,BP)、细胞组分

注:① 蓝色代表 RA 基因;② 绿色代表洋金花基因;③ 灰色代表二者交集基因。
Note: ① Blue represent RA gene; ② Green represent hindu datura gene; ③ Gray represents the intersection gene of ① and ②.

图 1 洋金花靶点与类风湿关节炎靶点韦恩图

Figure 1 Venn diagram of the hindu datura target and rheumatoid arthritis target

注:① 红色代表类风湿性关节炎;② 黄色代表活性化合物;③ 绿色代表基因;④ 蓝色代表洋金花。
Note: ① Red represent rheumatoid arthritis; ② Yellow represent active compounds; ③ Green represent genes; ④ Blue represent hindu datura.

图 2 类风湿关节炎-洋金花-预测靶点-有效化合物网络
Figure 2 Network of rheumatoid arthritis-hindu datura-predicted target-effective compound

图 3 预测靶基因构建的 PPI 网络

Figure 3 Prediction of PPI network constructed by target genes

注:颜色越深、节点越大代表度值越高

Note: The darker the color and the larger the node, the higher the degree value

图4 PPI网络中的核心基因

Figure 4 Core genes in the PPI network

(cell component, CC) 和分子功能 (molecular functions, MF), 见图 5。利用 R 3.6.3 的 ClusterProfiler 包对 125 个预测靶基因进行分析, GO 分析中涉及 2 313 个条目, 包括 BP 2 086 条、CC 75 条、MF 152 条。洋金花治疗类风湿关节炎的预测靶基因 BP 主要涉及脂多糖反应、细菌源性分子的反应、对活性氧的反应、对金属离子反应、氧化应激反应、类固醇激素反应、活性氧代谢过程、对氧含量的反应等。CC 包括膜筏、膜区、质膜筏、突触前膜的组成部分。MF 涉及到核受体的活性、转录因子活性 (直接配体调控序列特异性 DNA 结合)、类固醇激素受体活性、细胞因子受体结合、细胞因子活性、DNA 结合转录激活剂活性、RNA 聚合酶 II 转录因子结合、激酶调节活动、受体配体活动等。

2.6 京都基因和基因组百科全书信号通路分析

利用 R 3.6.3 的 ClusterProfiler 包, 对洋金花治疗类风湿关节炎的预测靶基因进行京都基因和基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 信号通路分析, 前 20 结果, 见表 3。主要涉及 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路、HIF-1 信号通路和 Toll 样受体信号等关键通路。

3 讨论

洋金花在中国古代已被应用于疾病治疗。据

《后汉书·华佗传》记载, 古代医家华佗开展“剖腹腹背, 抽割积聚”以及“刮骨疗毒”等外科手术, 与其所创“能令人麻醉, 忽而不知人事, 任人劈剖, 不晓痛痒”的麻沸散密切相关^[8]; 清代《伤科汇纂》卷七方名的整骨麻药以“闹羊花倍用, 胡加子、姜黄、川乌、草乌、麻黄各等分”构成, 则具有“开取箭头, 服之不痛”之功效^[9], 以上组方均以洋金花为主药, 充分验证了洋金花具有抗炎、镇痛、抗氧化等作用。因此, 洋金花被广泛应用于治疗风湿痹痛、癰疽、蛇伤、狂犬病等。在南美洲、欧洲、中东等国外医学中, 洋金花也被用于治疗各类疾病, 如风湿病、溃疡、伤口、炎症、坐骨神经痛等, 故又被称为“万能神药”。此外, 还发现洋金花在改善免疫系统疾病方面 (类风湿、银屑病等) 也具有良效^[10-11], 尤其在干预类风湿性关节炎病程进展方面疗效独特^[12]。这可能与洋金花以下的作用机制有关。

3.1 从网络药理学探讨洋金花治疗类风湿关节炎的作用机制

3.1.1 抗炎镇痛作用 本研究 TCMSP 检测到洋金花有效化合物 27 个, 对应的靶基因 318 个, 主要化合物包括槲皮素、山柰酚、东莨菪碱等。有研究表明, 槲皮素可降低类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞中炎症因子 (interleukin, IL)-1 β 、6、8 与基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP)-1、3、13 的含量表达, 这可能与抑制 NF- κ B 的表达相关^[13]; 山柰酚 (3, 4', 5, 7-四羟基黄酮) 作为一种具有羟基苯基铬酮结构的次生植物代谢物, 可调控炎症反应过程, 改善致炎状态^[14]; 东莨菪碱对大脑皮层及皮下部位产生抑制作用, 其可能通过诱导脑电波由低幅快波转变为不规则高波幅慢波, 增加脑电总功率和低频成分及其主频率, 进而促使意识丧失, 产生麻醉止痛功效^[15-16]。这提示, 洋金花发挥抗炎镇痛作用以治疗类风湿性关节炎可能与以上活性成分物质密切相关。这与刘振明等^[17-18]研究发现洋金花具有很强的镇痛作用, 显著提高小鼠的痛阈值的实验结果一致。

3.1.2 抗氧化作用 在类风湿关节炎介导的慢性疼痛中, 外周敏化发挥了重要作用, 而外周致敏机制通常因关节炎症或结构异常损伤直接诱导激活致敏伤害感受器 (例如低阈值伤害性纤维), 伴随刺激累及, 可最终促使脊髓神经元致敏发生^[19]。在此过程中, 多类型激素与趋化因子扮演了重要角色, 其中异常氧自由基的含量表达可直接介导炎症反应, 引起疼痛, 进而加剧类风湿性关节炎的病理进程。其

注:① A:生物学过程柱状图;② B:细胞组分柱状图;③ C:分子功能柱状图。
Note: ① A: The histogram of biological process; ② B: The histogram of cell component;
③ C: The histogram of molecular functions.

图 5 GO 功能富集分析
Figure 5 GO functional enrichment analysis

表 3 KEGG 信号通路
Table 3 KEGG signaling pathway

KEGG 信号通路 ID 描述	描述	校正后 <i>P</i> 值	基因数
hsa04933	AGE-RAGE 信号通路	1.68E-28	29
hsa05418	液体剪切应力和动脉粥样硬化	3.04E-24	29
hsa05161	乙肝病毒	4.10E-21	28
hsa04657	IL-17 信号通路	7.21E-21	23
hsa05167	卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染	7.89E-21	29
hsa05215	前列腺癌	1.06E-20	23
hsa04668	TNF 信号通路	1.39E-20	24
hsa05212	胰腺癌	1.39E-17	19
hsa05163	人类巨细胞病毒感染	1.39E-17	28
hsa05219	膀胱癌	1.17E-16	15
hsa05142	南美锥虫病	2.21E-16	20
hsa05160	丙型肝炎病毒	4.01E-16	23
hsa01522	内分泌抵抗	1.64E-15	19
hsa05162	麻疹	5.78E-15	21
hsa04066	HIF-1 信号通路	1.15E-14	19
hsa05145	弓形体病	1.83E-14	19
hsa05164	甲型流感病毒	2.99E-14	22
hsa05210	结肠直肠癌	3.93E-14	17
hsa04620	Toll 样受体信号通路	6.05E-14	18
hsa04625	C 型凝集素受体信号通路	6.05E-14	18

具体机制为:以自由电子的形式形成局部负电位,释放电子汇聚成电子流,并趋向高电位的痛觉神经末梢,当电子流刺激达到阈值电位时,Na⁺、K⁺通道开放,膜电位翻转,产生了动作电位,引起疼痛^[20]。有研究表明,洋金花甲醇提取物、总生物碱、有效活性成分(槲皮素、山柰酚)等具有较强的抗氧化作用^[21-23],可增加抗氧化剂的表达酶表达,提高血液中超氧化歧化酶的活力,抑制丙二醛含量,降低细胞损伤,从而调节氧化应激反应,介导炎症反应过程。这提示,洋金花治疗类风湿性关节炎可能与其抗氧化作用有关。

3.2 洋金花通过调控与炎症反应相关信号途径发挥治疗类风湿性关节炎作用

本研究网络药理学分析结果显示,洋金花通过调控与炎症反应相关信号途径发挥治疗类风湿性关节炎作用,其具体作用途径及过程包括:

3.2.1 调节活化阶段 受病理性致炎因素刺激后,炎症因子可与细胞膜受体发生特异性结合,通过跨膜信息递进,诱导胞内丝/苏氨酸蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)信号活化。活化后的MAPK 信号可进一步启动级联效应,直至将跨膜信息移至细胞核内,并特异性激活相关转录因子,产生转录效应,进而参与细胞的多种生物学反应。

3.2.2 调节转录阶段 受到压应力异常改变或炎症刺激因素影响,其信息调控从胞外向胞内传递,再到引起生物学效用,需要 MAPK 途径的级联反应(三级激酶)的参与。在此过程中激活型 Ras 通过级联反应活化 Raf 转录因子,一旦发动该反应后续又可依次激活丝裂原活化蛋白激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase,MAPKK 或 MEK)与细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)(其中 ERK2 即 MAPK1),而 ERK 作为 Ras 途径的重要下游部分,是连接胞质至细胞核内信息转录的关键媒介,一旦被磷酸化激活,即转变为 p-ERK1/2,可引起下游相关转录因子(C-JUN 等)活化,由此介导炎症反应^[24]。

3.2.3 调控效应(致炎)阶段 有研究发现,TNF-α 与 ERK 信号途径具有密切联系,TNF-α 可产生放大 ERK 信号途径的活化效用^[25],此外,IL-1β 可上调细胞中 C-MYC 含量表达,并影响 C-MYC 等相关信号转录过程^[26]。受磷酸化作用而被活化的 p-ERK1/2 可作用于多类活性底物,其中可针对内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)与诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase,iNOS)并致使其活化,诱导精氨酸发生氧化产生 NO,参与氧化应激反应^[27]。而 AKT1(又称为

蛋白激酶 B)作为丝/苏氨酸蛋白激酶家族中的重要成员之一,亦参与了多种生物学过程(代谢、增殖、血管生成等)。研究表明,RELA 基因在调控炎症的细胞信号系统—NF- κ B 信号通路中起着极其重要的作用^[28]。而当其遭受外界压力变化、异常细胞因子(脂多糖、TNF- α 与 IL-1 等)与自由基(NO 等)作用、紫外线照射影响及细菌或病毒抗原发生结合反应等一系列刺激后,可激活 NF- κ B 经典途径,而此通路的活化又可加剧炎症反应的程度^[29]。综上,洋金花可能通过调控以上相关信号途径及信号分子发挥作用。

4 小 结

随着计算机技术的普及应用,网络药理学已成为一种研究中药有效成分及其作用机理的新途径。本研究基于网络药理学研究发现洋金花可通过多途径、多靶点发挥抗炎镇痛及抗氧化作用治疗类风湿关节炎;推测其机制可能与槲皮素、山柰酚、东莨菪碱等活性物质有关,并调控相关信号分子及信号途径抑制炎症反应和氧化应激反应。这可为进一步开展洋金花防治类风湿关节炎作用机制的基础研究提供一定的理论依据^[30-31]。

但本研究仍存在一些不足之处,如:① 洋金花治疗类风湿关节炎作用途径间的交互影响机制及其是否通过影响关联的非编码长链 RNA 或微小 RNA 等微介质成分的调控机制仍需进一步研究;② 洋金花的活性成分(槲皮素、山柰酚、东莨菪碱等)治疗类风湿关节炎的深层次效用机制及有效成分间的联合应用研究亦需要进一步探讨。

参考文献

- [1] GREENBLATT H K,KIM H A,BETTNER L F,et al. Preclinical rheumatoid arthritis and rheumatoid arthritis prevention [J]. Curr Opin Rheumatol,2020,32(3):289-296.
- [2] CHEN J,HE Z,FAN Y,et al. Production of a bispecific antibody targeting TNF- α and C5a in *Pichia pastoris* and its therapeutic potential in rheumatoid arthritis [J]. Biotechnol Lett,2020,42(4):557-569.
- [3] 龚雪,汪元. 类风湿关节炎中医病因病机研究进展[J]. 风湿病与关节炎,2020,9(6):62-65.
- [4] 李光耀,姜泉. 从痰瘀痹阻论治类风湿关节炎[J]. 中医杂志,2018,59(12):1063-1065,1068.
- [5] 井佳楠,吕邵娃,王秋红,等. 洋金花化学成分和药理作用及临床应用研究进展[J]. 中草药,2016,47(19):3513-3521.
- [6] 郑春雷. 洋金花酒治疗类风湿性关节炎 118 例[J]. 山西中医,2001,17(6):20.
- [7] 饶光立,郭运清,姚凤祥,等. 洋金花和马钱子熏蒸治疗类风湿关节炎 72 例[J]. 人民军医,1992,35(8):64-65.

- [8] 张文娟.《后汉书·华佗传》释译[J]. 中国中医药现代远程教育,2012,10(1):163-165.
- [9] 胡廷光. 伤科汇纂[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:222.
- [10] YANG B Y,CHENG Y G,LIU Y,et al. Datura metel L. ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis and inhibits inflammatory cytokines production through TLR7/8-MyD88-NF- κ B-NLRP3 inflammasome pathway [J]. Molecules,2019,24(11):2157.
- [11] LI T T,WEI Z,SUN Y P,et al. Withanolides,extracted from datura metel L. inhibit keratinocyte proliferation and imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis via the STAT3/P38/ERK1/2 pathway [J]. Molecules,2019,24(14):2596.
- [12] 张红星,祁青. 洋金花的镇痛作用及临床应用研究[J]. 湖北中医杂志,2010,32(2):29-31.
- [13] 贾庆运,王拥军,梁倩倩,等. 槲皮素对人类风湿性关节炎成纤维样滑膜细胞炎症因子和基质金属蛋白酶的表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2019,25(6):738-741.
- [14] CALDERON-MONTANO J M,BURGOS-MORON E,PEREZ-GUERRERO C,et al. A review on the dietary flavonoid kaempferol [J]. Mini Rev Med Chem,2011,11(4):298-344.
- [15] 许健. 东莨菪碱以及其它胆碱能拮抗剂的中枢抗毒蕈碱样能作用[J]. 中国药理学报,1983,4(3):156-162.
- [16] 彭建中,金丽容. 脑室注射山莨菪碱、阿托品、樟柳碱和东莨菪碱的中枢作用[J]. 宁夏医学院学报,1982,4(1):4.
- [17] 刘振明,陈萍,衣秀义,等. 洋金花对吗啡镇痛作用耐受性的影响[J]. 时珍国药研究,1996,7(4):23-24.
- [18] 邱召娟,朱萱萱,倪文澎. 洋金花伤膏抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2007,14(1):45.
- [19] 何佳莉,王晓霞,陈慧芳,等. 影响类风湿关节炎疼痛的非炎症性因素[J]. 中国医药导报,2020,17(5):38-40,58.
- [20] 田明清. 氧自由基致痛的机制[J]. 中国临床康复,2004,8(32):7278.
- [21] ROY S,PAWAR S,CHOWDHARY A. Evaluation of in vitro cytotoxic and antioxidant activity of *Datura metel* Linn. and *Cynodon dactylon* Linn. extracts [J]. Phcog Res,2016,8(2):123.
- [22] SAHIN T D,GOCMEZ S S,DURUKSU G,et al. Resveratrol and quercetin attenuate depressive-like behavior and restore impaired contractility of vas deferens in chronic stress-exposed rats:involvement of oxidative stress and inflammation [J]. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol,2020,393(5):761-775.
- [23] HOFER S,GEISLER S,LISANDRELLI R,et al. Pharmacological targets of kaempferol within inflammatory pathways:a hint towards the central role of tryptophan metabolism [J]. Antioxidants,2020,9(2):180.
- [24] ZHANG F,CAO H. MicroRNA 143 3p suppresses cell growth and invasion in laryngeal squamous cell carcinoma via targeting the kRas/Raf/MEK/ERK signaling pathway [J]. Int J Oncol,2019,54(2):689-701.
- [25] 李迎雪,陈丹丹,张茹,等. 双歧杆菌脂磷壁酸通过激活小鼠腹腔巨噬细胞 MEK/ERK 通路促进 TNF- α 的表达[J]. 海南医学院学报,2015,21(4):442-444,448.
- [26] ZOU J,LI X L,SHI Z M,et al. Effects of C-myc gene silencing on interleukin-1 β -induced rat chondrocyte cell proliferation

- tion, apoptosis and cytokine expression [J]. J Bone Miner Metab, 2018, 36(3): 286–296.
- [27] 田华, 闫平慧, 张锋利. 蒲公英甾醇通过 ROS/ERK/iNOS 途径保护 Hp 相关性胃炎大鼠胃黏膜的实验研究[J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(21): 23–25.
- [28] PARKER M, MOHANKUMAR K M, PUNCHIHEWA C, et al. C11orf95–RELA fusions drive oncogenic NF–κB signalling in ependymoma [J]. Nature, 2014, 506(7489): 451–455.
- [29] YUAN F L, ZHAO M D, JIANG D L, et al. Involvement of acid-sensing ion channel 1a in matrix metabolism of endplate chondrocytes under extracellular acidic conditions through NF–κB transcriptional activity [J]. Cell Stress Chaperones, 2016, 21(1): 97–104.
- [30] 郑春松, 叶蕻芝, 叶锦霞, 等. 应用计算机模拟研究牛膝在骨关节炎中的痿痹同治作用[J]. 康复学报, 2020, 30(2): 124–130.
- [31] 郑春松, 徐筱杰, 黄绥心, 等. 补肾壮筋汤延缓关节软骨退变多靶点作用计算机模拟研究[J]. 康复学报, 2018, 28(2): 32–36.

Mechanism of *Hindu Datura* in the Treatment of Rheumatoid Arthritis from the Perspective of Network Pharmacology

FU Changlong^{1,2}, MEI Yangyang³, LI Xihai^{1,2}, QIU Zhiwei^{1,2,4}, CHEN Changxing^{*}, ZHENG Chunsong^{1,2}

¹ Academy of Integrative Medicine of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China;

² Fujian Key Laboratory of Integrative Medicine on Geriatrics, Fuzhou, Fujian 350122, China;

³ Fujian Health College, Fuzhou, Fujian 350101, China;

⁴ Affiliated Rehabilitation Hospital, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350003, China

*Correspondence: CHEN Changxing, E-mail: 1125452554@qq.com

ABSTRACT Objective: To construct the active component target of *Hindu datura* and the disease target of rheumatoid arthritis by using network pharmacology, to predict the specific molecular signal and pathway of *hindu datura* in the treatment of rheumatoid arthritis, and to analyze its potential therapeutic target and molecular mechanism. **Methods:** All the chemical components of *hindu datura* were summarized and screened through Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) database, retrieval was performed with the preset oral bioavailability (OB) $\geq 30\%$ and drug like (DL) ≥ 0.18 . Uniprot database was used to screen the entire correlation basis of the effective chemical compound. After screening the disease target with "rheumatoid arthritis" as the retrieval word using GeneCards and OMIM database, the superimposed target area between the drug target of *hindu datura* and the disease target of rheumatoid arthritis was summarized and analyzed, and it could be used as the prediction target gene of *hindu datura* for treating rheumatoid arthritis. Network targets were constructed and analyzed for the exported data based on Cytoscape 3.7.1 software and STRING 7.8 database. Finally, GO functional enrichment analysis and KEGG signal pathway analysis were performed to further screen the main targets and signal pathways. **Results:** ① Through screening and analysis, 27 effective compounds, 318 corresponding target genes and 125 predicted target genes were obtained for the treatment of rheumatoid arthritis. ② The core genes in PPI network mainly included JUN, AKT1, RELA, MAPK1, etc. ③ GO functional enrichment analysis showed that the biological process (BP) for the treatment of rheumatoid arthritis by *hindu datura* mainly involves response to lipopolysaccharide, response to lipopolysaccharide, response to molecule of bacterial origin, response to metal ion, response to oxidative stress, response to steroid hormone, cellular response to oxidative stress, reactive oxygen species metabolic process, response to oxygen levels, etc. The cell component (CC) consisted of membrane raft, membrane region, plasma membrane raft and presynaptic membrane; molecular functions (MF) mainly involved the nuclear receptor activity, transcription factor activity (direct ligand regulated sequence-specific DNA binding), steroid hormone receptor activity, cytokine receptors, cytokine activity, DNA-binding transcription activator activity, RNA polymerase II transcription factor binding, kinase regulator activity, receptor ligand activity, etc. The analysis of KEGG signaling pathway showed that the obvious pathway of *hindu datura* in the treatment of rheumatoid arthritis may involve IL-17 signaling pathway, TNF signal pathway, HIF-1 signal pathway, Toll-like receptor signal pathway, etc. **Conclusion:** The potential mechanism of *hindu datura* for the treatment of rheumatoid arthritis is to exert anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects, which involve a number of interactive signal pathways.

KEY WORDS rheumatoid arthritis; *hindu datura*; network pharmacology; mechanism; signal pathway

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.06008