

基于网络药理学和分子对接探究威灵仙治疗 类风湿性关节炎的作用机制

蒋叶珂^{1,2}, 陈燕^{1,2}, 潘凌宇¹, 韩燕全¹, 何宁², 汪永忠^{1*}

(1.安徽中医药大学第一附属医院 国家中医药管理局中药制剂三级实验室 中药复方安徽省重点实验室
现代药物制剂安徽省工程技术中心,安徽 合肥 230031. 2.安徽中医药大学 药学院,安徽 合肥 230012)

摘要:运用网络药理学和分子对接方法探究威灵仙治疗类风湿性关节炎的作用机制。中药系统药理学数据库与分析平台、PubChem、SwissTargetPrediction数据库筛选威灵仙的活性成分及其作用靶点;OMIM、GeneCards数据库预测类风湿性关节炎的靶点;Venn图获取威灵仙-类风湿性关节炎的交集靶点;STRING数据库构建蛋白-蛋白相互作用网络后导入Cytoscape3.7.1获取核心靶点;DAVID数据库进行基因本体和京都基因与基因组百科全书富集分析;AutoDock Vina1.5.6对关键活性成分和核心靶点进行分子对接验证。威灵仙中的关键活性成分齐墩果酸、 β -谷甾醇、豆甾醇、3-表齐墩果酸作用于MAPK3、PTGS2、CYP19A1等核心靶点,通过调控花生四烯酸代谢通路、卵巢类固醇生成等发挥治疗类风湿性关节炎的作用,分子对接结果显示关键活性成分与核心靶点具有较好的结合活性。该研究初步探讨了威灵仙治疗类风湿性关节炎的关键活性成分、核心作用靶点及其相关通路,为威灵仙的临床应用提供参考。

关键词:威灵仙;网络药理学;类风湿性关节炎;分子对接;作用机制

中图分类号:R285 文献标志码:A 文章编号:1002-4026(2022)06-0042-08

开放科学(资源服务)标志码(OSID):



Mechanism of Clematidis Radix Rhizoma in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology and molecular docking

JIANG Ye-ke^{1,2}, CHEN Yan^{1,2}, PAN Ling-yu¹, HAN Yan-quan¹, HE Ning², WANG Yong-zhong^{1*}

(1.The Third Level Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparations of State Administration of Chinese Medicine Anhui Engineering Technology Center of Modern Pharmaceutical Preparations, Anhui Key Laboratory of Chinese Herbal Compound, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine Hefei, Anhui 230031. 2. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230012)

Abstract: This study aimed to explore the mechanism of Clematidis Radix Rhizoma in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology and molecular docking. Traditional Chinese medicine systems pharmacology database and

收稿日期:2021-09-08

基金项目:安徽省高等学校自然科学研究项目(KJ2019A0440);安徽省高等学校自然科学研究项目(KJ2020A0409)

作者简介:蒋叶珂(1995—),女,硕士研究生。研究方向为中药新药研究与开发。Tel:18856093532;E-mail:1466989029@qq.com

*通信作者:汪永忠(1970—),男(汉),主任药师。研究方向为中药新药研究与开发。Tel:13013063818;E-mail:wyzhmail@163.com

analysis platform database, PubChem, and SwissTargetPrediction database were used to screen the active ingredients of Clematidis Radix Rhizoma and their targets. The targets of rheumatoid arthritis were predicted using OMIM database and GeneCards database. Venn diagram was used to obtain the intersection targets of Clematidis Radix Rhizoma and rheumatoid arthritis. Protein interaction network was constructed using STRING database and imported into Cytoscape3.7.1 to obtain core targets. DAVID database was used for Gene Ontology(GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) analysis. AutoDock Vina1.5.6 was employed to perform molecular docking of key active ingredients and core targets. The key active ingredients in Clematidis Radix Rhizoma, such as oleanolic acid, β -sitosterol, stigmasterol, and 3-epioleanolic acid, act on core targets, such as MAPK3, PTGS2, and CYP19A1, and play a role in the treatment of rheumatoid arthritis by regulating arachidonic acid metabolic pathway and ovarian steroidogenesis. The result of molecular docking suggested that the key active ingredients had good binding activity with the core targets. In this paper, the key active ingredients, core targets, and related pathways of Clematidis Radix Rhizoma in the treatment of rheumatoid arthritis were preliminarily discussed, serving as a reference for clinical application of Clematidis Radix Rhizoma.

Key words : Clematidis Radix Rhizoma; network pharmacology; rheumatoid arthritis; molecular docking; mechanism

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节损伤、持续性滑膜炎为主要表现特征的慢性炎症性疾病,其发病机制尚不完全清楚^[1],慢性炎症形成侵袭性血管翳和滑膜组织肿瘤样增生是类风湿性关节炎的重要特征之一^[2]。据估计,全球类风湿性关节炎的平均患病率在 0.5%~1.0%之间^[3]。目前临床治疗类风湿性关节炎的西药主要用于减轻症状,长期使用会产生不良反应,包括呕吐、皮疹、白细胞减少和肝肾损伤^[4]。因此,迫切需要找到高效低毒的药物来改善类风湿性关节炎的治疗和长期预后。类风湿性关节炎属于中医“痹证”范畴,其中,风寒湿邪,经络不畅、痰瘀互结是导致类风湿关节炎发生、发展的病机关键。故类风湿性关节炎的临床治疗亦遵循祛风除湿、散寒通络、扶正祛邪、祛痰化瘀、清热利湿、活血通络的治则^[5]。中药防治疾病具有多靶点、多通路的整体调理的治疗原则,使其临床疗效显著。

威灵仙具有祛风湿、消痰涎、通经络、解散癖积之作用,被广泛应用于关节炎、腰膝疼痛、肢体麻木等疾病。威灵仙中主要含有皂苷、黄酮、木脂素、酚类、生物碱、挥发油等化学成分^[6]。相关文献报道,威灵仙皂苷类成分是治疗类风湿性关节炎的主要成分,Xiong 等^[7]研究发现威灵仙三萜皂苷类化合物灵仙新苷(clematichinenoside AR)可能通过抑制 p38 和 ERK MAPKS 信号通路来降低 TNF- α 刺激的人成纤维样滑膜细胞 MH7A 中 IL-6 和 IL-8 的分泌。柳清等^[8]采用气相色谱-飞行时间质谱技术检测威灵仙总皂苷(TSC)对 AA 大鼠血清代谢谱的变化,发现 TSC 对 AA 大鼠的治疗作用可能与调节脂代谢、氨基酸代谢和能量代谢有关。目前关于威灵仙治疗类风湿性关节炎的研究主要集中于相关化学成分的抗类风湿性关节炎作用,有关药效机制的研究相对较少。因此,应该进行更深入的机制研究。因网络药理学研究具有的整体性、系统性特点与现代中医药对于疾病治疗的整体观、辩证理论相适应和契合^[9],本研究采用网络药理学的方法来研究威灵仙治疗类风湿性关节炎的机制,为威灵仙的后期研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 软件与数据库

所用在线数据库及其网址见表 1, Cytoscape3.7.1 为网络分析软件, AutoDock Vina 1.5.6 为分子对接软件, PyMOL 软件将分子对接结果进行可视化。

表 1 网络药理学研究数据库

Table 1 Network databases for pharmacological research

数据库名称	网址
TCMSP	https://tcmsp-e.com/
PubChem	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov
Swiss Target Prediction	http://www.swisstargetprediction.ch/
OMIM	https://www.omim.org
GeneCards	https://www.genecards.org
STRING	https://string-db.org
DAVID	https://david.ncifcrf.gov
ZINC	http://zinc.docking.org
PDB	https://www.rcsb.org

1.2 威灵仙活性成分与作用靶点的筛选

在中药系统药理学数据库与分析平台 (traditional Chinese medicine Systems pharmacology database and analysis platform,TCMSP) 数据库中,以“威灵仙”为检索词,设置口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性(drug-like index, DL) ≥ 0.18 ,获取威灵仙的活性成分,补充《中国药典》中未能符合筛选标准但含量高的活性成分齐墩果酸。使用 PubChem、SwissTargetPrediction 数据库预测威灵仙活性成分的作用靶点。

1.3 类风湿性关节炎相关靶点的获取

在 GeneCards、OMIM 数据库中检索“rheumatoid arthritis”筛选得到与类风湿性关节炎相关的靶点。在 GeneCards 数据库中,Relevance score 值越大,则代表该靶点与疾病联系越密切,若靶点过多,参考相关文献^[10],选择 Relevance score 大于中位数的靶点为类风湿性关节炎的潜在靶点。将两个数据库的靶点合并、删除重复值得到类风湿性关节炎的潜在靶点。

1.4 获取交集靶点并构建活性成分-交集靶点网络图

用在线画图工具 Venny2.1.0 构建维恩图,确定威灵仙活性成分与疾病的交集靶点。用 Cytoscape3.7.1 软件构建活性成分-交集靶点网络图,根据“度值(degree) 大于均值筛选威灵仙治疗类风湿性关节炎的关键活性成分。

1.5 PPI 网络的构建及核心靶点筛选

将交集靶点导入 STRING 数据库,设置交互分数 >0.400 ,物种为“Homo sapiens”,获得蛋白质-蛋白质相互作用(proteinprotein interaction,PPI) 网络图。将结果导入 Cytoscape3.7.1 软件进行“Network Analyzer”分析,筛选度值、介数(betweenness centrality) 均大于平均值的节点为威灵仙治疗类风湿性关节炎的核心靶点^[11]。

1.6 GO 分析与 KEGG 通路分析

将获取的交集靶点输入到 DAVID 数据库,设置标识符为“OFFICIAL GENE SYMBOL”、物种选择为“Homo sapiens”,其余保持默认,进行基因本体(gene ontology,GO) 功能分析与京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG) 通路富集分析。可视化 $P<0.05$ 的通路,利用微生信平台绘制 GO 功能富集和 KEGG 通路富集图。

1.7 活性成分-靶点-通路网络的构建

将 1.4 项得到的交集靶点与相应活性成分,结合 1.6 项下得到的 KEGG 通路富集分析结果,通过 Cytoscape3.7.1 构建活性成分-靶点-通路网络图。

1.8 分子对接验证

在 ZINC 数据库中获取关键活性成分的 3D 分子结构 mol2 文件,PDB 数据库下载核心靶点蛋白结构的

PDB Format 格式文件。采用 AutoDock Tools 软件对核心靶点蛋白结构进行去水、加氢、并计算其电荷,最后转换为 pdbqt 受体格式,将小分子加全氢、检测扭转键,转换为 pdbqt 配体格式。AutoDock Vina1.5.6 软件进行分子对接,PyMOL 软件对分子对接结果进行可视化。

2 结果与讨论

2.1 威灵仙主要活性成分及靶点筛选结果

在 TCMSP 数据库中根据设置的条件初步筛选出 7 个成分,去除 1 个未找到靶点的成分,根据《中国药典》补充不满足筛选条件但含量较高的成分齐墩果酸,最终确定 7 个成分,结果见表 2。利用 Swiss Target Prediction 数据库收集 Probability 大于 0 的靶点,共收集到 251 个靶点,删除重复值后得到 104 个靶点。

表 2 威灵仙的活性成分

Table 2 Active ingredients in Clematidis Radix Rhizoma

分子编号	活性成分(Active ingredients)	OB/%	DL
MOL001663	3-表齐墩果酸(3-Epioleanolic acid)	32.03	0.76
MOL002372	角鲨烯(Squalene)	33.55	0.42
MOL000358	β -谷甾醇(Beta-sitosterol)	36.91	0.75
MOL000449	豆甾醇(Stigmasterol)	43.83	0.76
MOL005598	恩比宁(Embinin)	33.91	0.73
MOL005603	邻苯二甲酸庚酯(Heptyl phthalate)	42.26	0.31
MOL000263	齐墩果酸(Oleanolic acid)	29.02	0.76

2.2 类风湿性关节炎靶点的预测结果

通过查询 GeneCards 与 OMIM 数据库,将数据经过筛选、删除重复值后共得到 1 592 个类风湿性关节炎的靶点。

2.3 获取交集靶点并构建威灵仙活性成分-交集靶点网络图

将威灵仙的 104 个活性成分作用靶点与 1 592 个类风湿性关节炎的靶点导入 Venny2.1.0 作图平台,获得威灵仙作用于类风湿性关节炎的靶点 37 个,见图 1。使用 Cytoscape3.7.1 软件构建威灵仙活性成分-交集靶点网络图,该网络包含 46 个节点(7 个威灵仙活性成分节点,37 个交集靶点节点,1 个威灵仙节点和 1 个类风湿性关节炎节点),104 条边,见 OSID 科学数据与内容附图 1,使用网络拓扑学分析得到威灵仙治疗类风湿性关节炎的关键活性成分为齐墩果酸、3-表齐墩果酸、豆甾醇、 β -谷甾醇。

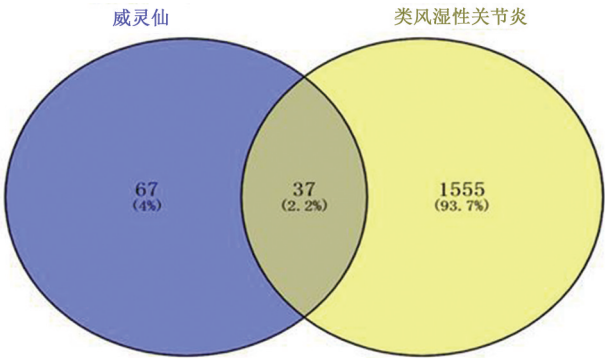


图 1 威灵仙治疗类风湿性关节炎潜在作用靶点

Fig.1 The potential targets of Clematidis Radix Rhizoma in the treatment of rheumatoid arthritis

2.4 PPI 网络分析及核心靶点的筛选

将交集靶点导入 STRING 数据库,构建 PPI 网络,Cytoscape3.7.1 软件进行网络拓扑学分析及可视化展示,见 OSID 科学数据与内容附图 2。网络中共有 36 个节点,122 条边,各节点的平均度值为 6.75,平均介数

为 0.034,节点的大小与颜色表示度值的大小,节点越大、颜色越深、度值越大的靶点为威灵仙治疗类风湿性关节炎的重要靶点。推测 MAPK3、PTGS2、CYP19A1、PPARG、NR3C1、ALOX5 靶点可能是威灵仙治疗类风湿性关节炎的核心靶点,见 OSID 科学数据与内容附图 3。

2.5 GO 和 KEGG 富集分析

利用 DAVID 数据库对威灵仙活性成分与类风湿性关节炎交集靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析。结果得到 GO 条目 145 条,包括生物过程(biological process , BP)94 条,主要与转录起始 RNA 聚合酶 II 启动子,类固醇激素介导的信号通路,对脂多糖、炎症反应的负调控,氧化还原过程,炎症反应,环氧合酶途径,脂氧合酶途径,前列腺素生物合成的过程等功能有关;细胞组成(cell component , CC)得到 12 条,主要与内质网膜、内质网、蛋白质复合体、细胞内的膜结合细胞器、细胞核、核浆、细胞器膜、核膜、核膜内腔、质膜等有关;分子功能(molecular function , MF)得到 39 条,主要与类固醇激素受体活性、类固醇结合、酶结合、RNA 聚合酶 II 转录因子活性,配体激活的序列特异性 DNA 结合、血红素结合、非跨膜蛋白酪氨酸磷酸酶活性、锌离子结合、转录因子活性,序列特异性 DNA 结合、转录激活子活性,RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区域序列特异性结合等功能有关,将 $P<0.05$ 且排名前 10 的 BP、CC、MF 通过微生信平台作图,结果见 OSID 科学数据与内容附图 4。

KEGG 通路分析获得 22 条信号通路,主要涵盖了花生四烯酸代谢通路、卵巢类固醇生成、催乳素信号通路、甾体类激素生物合成、含血清素的神经突触、利什曼病、炎症介质对 TRP 通道的调节、雌激素信号通路、神经活性受体-配体相互作用、癌症通路等,利用微生信平台将 $P<0.05$ 的前 10 条通路作气泡图,见 OSID 科学数据与内容附图 5 所示。

2.6 活性成分-靶点-通路网络图的构建

运用 Cytoscape3.7.1 软件将 P 值排名前 10 的通路 with 活性成分、交集靶点构建活性成分-靶点-通路图,见 OSID 科学数据与内容附图 6。

2.7 分子对接验证

为明确核心靶蛋白与相应的活性成分之间的结合活性,以关键活性成分齐墩果酸、3-表齐墩果酸、 β -谷甾醇、豆甾醇作为配体,核心靶点 MAPK3、PTGS2、CYP19A1、PPARG、NR3C1、ALOX5 作为受体,AutoDock Vina1.5.6 软件进行分子对接,结果见表 3。结合能评判小分子与蛋白的相互作用强度,结合能越低,表明两者结合越稳定,小分子与蛋白的最低结合能 ≤ -5.0 kJ/mol^[12],说明药物成分与靶点具有强结合力。分子对接结果发现关键活性成分与核心靶点的结合能均 ≤ -5.0 kJ/mol,说明威灵仙对类风湿性关节炎具有治疗效果。齐墩果酸与 3-表齐墩果酸是度值排名前两位的关键成分,MAPK3 与 PTGS2 是筛选出的排名前两位的核心靶点,因此认为齐墩果酸与 3-表齐墩果酸作用于 MAPK3、PTGS2 是威灵仙治疗类风湿性关节炎的关键,对接结果显示其具有较好的结合活性,初步验证了网络药理学挖掘的结果,Pymol 软件将对接结果进行可视化,见图 2。

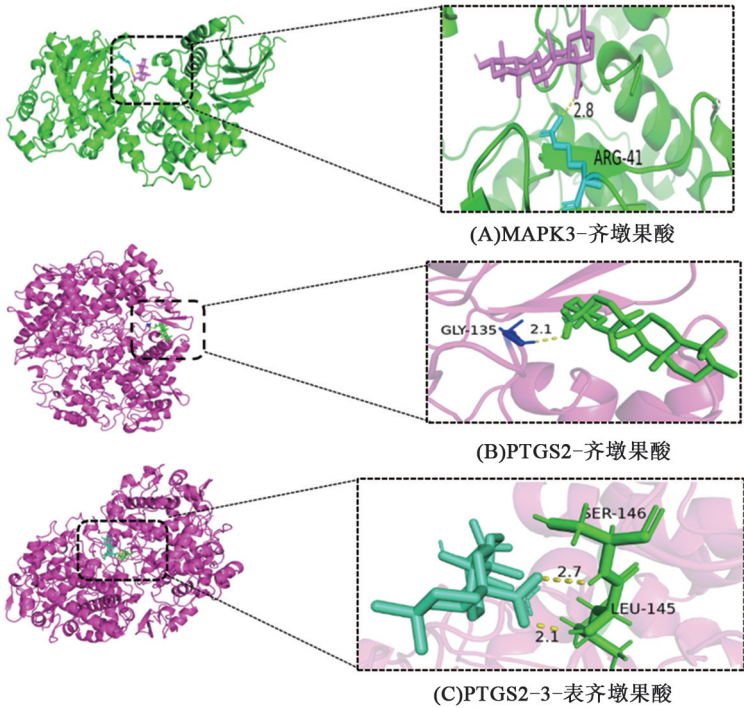
表 3 关键活性成分与核心靶点的对接结果

Table 3 Docking results of key active ingredients and core targets

PDB 编号	核心靶点	关键活性成分	结合自由能/(kJ·mol ⁻¹)
6GES	MAPK3	齐墩果酸	-8.5
		3-表齐墩果酸	-9.1
5KIR	PTGS2	3-表齐墩果酸	-8.4
		β -谷甾醇	-8.3
		豆甾醇	-8.1
3S79	CYP19A1	齐墩果酸	-8.3
		3-表齐墩果酸	-8.3

表 3(续)

PDB 编号	核心靶点	关键活性成分	结合自由能/(kJ·mol ⁻¹)
3H0A	PPARG	齐墩果酸	-8.0
		β-谷甾醇	-8.1
		豆甾醇	-7.0
1NHZ	NR3C1	齐墩果酸	-8.3
		3-表齐墩果酸	-7.8
3V92	ALOX5	齐墩果酸	-9.9
		3-表齐墩果酸	-9.3



注:ARG 代表精氨酸;GLY 代表甘氨酸;SER 代表丝氨酸;LEU 代表亮氨酸。

图 2 威灵仙治疗类风湿性关节炎的关键活性成分与核心靶点对接图

Fig.2 Docking diagram of key active ingredients and core targets of Clematidis Radix Rhizoma in the treatment of rheumatoid arthritis

3 讨论

本研究采用网络药理学分析了威灵仙治疗类风湿性关节炎的物质基础和可能的分子机制,通过 GO 和 KEGG 富集分析得到威灵仙治疗类风湿性关节炎相关的分子功能、生物过程、作用通路。通过构建网络图和拓扑分析筛选得到齐墩果酸、3-表齐墩果酸、豆甾醇、β-谷甾醇关键活性成分,其核心靶点为 MAPK3、PTGS2、CYP19A1、PPARG、NR3C1、ALOX5。分子对接初步验证了结果,说明威灵仙可能通过作用于以上的靶点和通路发挥治疗类风湿性关节炎的作用。

分析结果表明,威灵仙治疗类风湿性关节炎的关键成分为齐墩果酸、3-表齐墩果酸、豆甾醇、β-谷甾醇。成纤维样滑膜细胞 (FLS) 增殖和炎症因子分泌是类风湿性关节炎的主要病理特征,研究发现齐墩果酸及其衍生物具有显著的抗炎镇痛作用,齐墩果酸可能通过抑制 TNF-α 诱导的 FLS 细胞炎症因子的分泌来发挥治疗类风湿性关节炎的作用^[13],其衍生物能减轻类风湿性关节炎大鼠关节炎症^[14]。豆甾醇能明显降低 LPS 诱导的环氧合酶-2 (COX-2) 的蛋白和 mRNA 表达水平,减少前列腺素 E2 (PGE2) 的释放,发挥抗炎作用^[15]。β-谷甾醇固体脂质纳米粒通过抑制 NF-kB 和激活 HO1/Nrf-2 通路发挥抗关节炎的作用^[16]。提示上述成分

可能是威灵仙治疗类风湿性关节炎的主要药效物质基础。

通过 PPI 分析并构建相关网络,筛选得到 MAPK3、PTGS2、CYP19A1、PPARG、ALOX5、NR3C1 6 个核心蛋白。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)信号通路包括 ERK1/2、JNK1/2/3、p38-MAPK 和 ERK5。MAPK 参与调节细胞分化、增殖、迁移、凋亡^[17],MAPKs 已被证实在类风湿性关节炎的发病机制中发挥重要作用,激活 MAPKs 可导致促炎细胞因子的产生和关节炎症。研究发现类风湿关节炎患者滑膜组织中 MAPKs 的表达异常增加,促进滑膜增殖。因此,MAPK 被认为是治疗类风湿性关节炎的有前途的潜在治疗靶点^[18]。

前列腺素内过氧化物合酶(PTGS)又称环氧化酶(COX),有 PTGS1 和 PTGS2 两种亚型,环氧化酶是前列腺素生物合成中必不可少的限速酶^[19],在正常生理条件下,PTGS2 低水平表达。然而,在炎症部位促炎因子的诱导下,PTGS2 可以从单核细胞、滑膜细胞、内皮细胞等多种细胞中大量释放,参与炎症过程,造成机体损伤^[20]。CYP19A1 是细胞色素 P450 超家族的成员,他们是催化类固醇生成中许多反应的单加氧酶,又称芳香酶。在 RA 患者的滑膜组织中,巨噬细胞参与了外周性激素代谢,这与 p450 芳香化酶(CYP19A1 基因编码)的局部作用有关^[21]。

花生四烯酸代谢通路是威灵仙治疗类风湿性关节炎的关键通路,同时也是炎症反应的重要通路,花生四烯酸(AA)是一种多不饱和-6 脂肪酸,主要作为磷脂的组成部分存在。在炎症刺激下,AA 可通过胞质磷脂酶 A2(cPLA2)释放,并通过代谢产生类二十五烷家族^[22-23],前列腺素和白三烯是这个家族中的两个重要成员,参与稳态生物功能和炎症^[24]

综上所述,本研究利用网络药理学的方法对威灵仙治疗类风湿性关节炎的机制进行了初步的探索,结果表明威灵仙通过作用于多个靶点、多条通路发挥抗类风湿性关节炎的作用,为其进一步开发及临床应用提供了参考依据。

参考文献:

[1] WANG Y, GAO W. Effects of TNF- α on autophagy of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes and regulation of the NF- κ B signaling pathway[J]. Immunobiology, 2021, 226(2): 152059. DOI: 10.1016/j.imbio.2021.152059.

[2] 文建庭, 刘健, 孙艳秋, 等. 环状 RNA(circRNA)与类风湿性关节炎关系的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(3): 276-280. DOI:10.13423/j.cnki.cjcmi.008977.

[3] GOTTENBERG J E, MOREL J, PERRODEAUE, et al. Comparative effectiveness of rituximab, abatacept, and tocilizumab in adults with rheumatoid arthritis and inadequate response to TNF inhibitors: Prospective cohort study[J]. BMJ (Clinical Research Ed), 2019, 364: l67. DOI:10.1136/bmj.l67.

[4] JIAO Y Y, XU J, CHEN H, et al. Identification of the main active components and mechanism of Wang Bi tablet in treating rheumatoid arthritis based on integrative pharmacology[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 669551. DOI:10.3389/fphar.2021.669551.

[5] 肖红, 姜泉, 唐晓颇, 等. 姜泉治疗类风湿关节炎组方用药规律研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(2): 381-387. DOI:10.19540/j.cnki.cjcmm.20181101.014.

[6] 付强, 王萍, 杜宇凤, 等. 威灵仙化学成分及其药理活性最新研究进展[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2018, 37(2): 113-119. DOI:10.3969/j.issn.1004-5422.2018.02.001.

[7] XIONG Y, MA Y, KODITHUWAKKU N D, et al. Protective effects of Clematichinenoside AR against inflammation and cytotoxicity induced by human tumor necrosis factor- α [J]. International Immunopharmacology, 2019, 75: 105563. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.04.010.

[8] 柳清, 汪永忠, 姜辉, 等. 基于 GC-TOF-MS 研究威灵仙总皂苷对佐剂性关节炎大鼠血清代谢谱的影响[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(12): 2321-2328. DOI: 10.4268/cjcmm20161225.

- [9]单丽芳,康国娇,张超,等. 基于网络药理学和分子对接探讨四物汤抗乳腺癌的作用机制[J]. 中草药, 2021, 52(13): 3943-3953. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.13.018.
- [10]徐婷,王延,伍沙沙,等. 茜草防治心肌梗死的作用及网络药理学方法预测其作用机制[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(3): 132-139. DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20210609.008.
- [11]黄石,段贤春,潘凌宇,等. 基于网络药理学探究桃红四物汤治疗类风湿性关节炎作用机制[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(3): 437-444. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2021.03.024.
- [12]付昌丽,刘春花,潘洁,等. 基于血浆药物化学和网络药理学分析良附滴丸治疗胃肠道疾病的活性成分和潜在分子机制[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(20): 5393-5402. DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20210705.201.
- [13]邓莉,冯健,何成松. 齐墩果酸抑制肿瘤坏死因子- α 诱导的成纤维细胞样滑膜细胞炎症因子表达及其机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(7): 1138-1142. DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.7.007.
- [14]CHOI J K, KIM S W, KIM D S, et al. Oleanolic acid acetate inhibits rheumatoid arthritis by modulating T cell immune responses and matrix-degrading enzymes[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2016, 290: 1-9. DOI: 10.1016/j.taap.2015.11.005.
- [15]汪帅,孙宇,李春梅,等. 豆甾醇的研究进展概述[J]. 中国药业, 2019, 28(23): 96-98. DOI: 10.3969/j.issn.1006-4931.2019.23.031.
- [16]ZHANG F, LIU Z Y, HE X J, et al. B-Sitosterol-loaded solid lipid nanoparticles ameliorate complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats: Involvement of NF- κ B and HO-1/Nrf-2 pathway[J]. Drug Delivery, 2020, 27(1): 1329-1341. DOI:10.1080/10717544.2020.1818883.
- [17]SUN Y, LIU W Z, LIU T, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis[J]. Journal of Receptor and Signal Transduction Research, 2015, 35(6): 600-604. DOI:10.3109/10799893.2015.1030412.
- [18]ZHANG Q, LIU J, ZHANG M M, et al. Apoptosis induction of fibroblast-like synoviocytes is an important molecular-mechanism for herbal medicine along with its active components in treating rheumatoid arthritis[J]. Biomolecules, 2019, 9(12): 795. DOI: 10.3390/biom9120795.
- [19]RAO S R, BALAJI T M, PRAKASH P S G, et al. Elevated levels of cyclooxygenase 1 and 2 in human cyclosporine induced gingival overgrowth[J]. Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 2014, 113/114/115: 69-74. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2014.07.003.
- [20]WU M Y, YANG R S, LIN T H, et al. Enhancement of PLGF production by 15-(S)-HETE via PI3K-Akt, NF- κ B and COX-2 pathways in rheumatoid arthritis synovial fibroblast[J]. European Journal of Pharmacology, 2013, 714(1/2/3): 388-396. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.07.010.
- [21]VILLAGGIO B, SOLDANO S, CUTOLO M. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 downregulates aromatase expression and inflammatorycytokines in human macrophages[J]. Clinical and Experimental Rheumatology, 2012, 30(6): 934-938.
- [22]MESAROS C, BLAIR I A. Targeted chiral analysis of bioactive arachidonic Acid metabolites using liquid-chromatography-mass spectrometry[J]. Metabolites, 2012, 2(2): 337-365. DOI:10.3390/metabo2020337.
- [23]BUCZYNSKI M W, DUMLAO D S, DENNIS E A. Thematic Review Series: Proteomics. An integrated omics analysis of eicosanoid biology[J]. Journal of Lipid Research, 2009, 50(6): 1015-1038. DOI:10.1194/jlr.R900004-JLR200.
- [24]FUNK C D. Prostaglandins and leukotrienes: Advances in eicosanoid biology[J]. Science, 2001, 294(5548): 1871-1875. DOI: 10.1126/science.294.5548.1871.