

· 方药研究 ·

基于网络药理学和分子对接技术探讨柴胡-黄芩治疗急性胰腺炎的作用机制[※]

曹 健 林兰梅 范丽玉 陈一斌 吴耀南

摘 要 目的:基于网络药理学和分子对接技术探讨“柴胡-黄芩”对急性胰腺炎的作用机制。**方 法:**利用中药系统药理学数据库与分析平台,筛选出柴胡、黄芩的活性成分,借助SwissADME平台进一步筛选化合物,用SwissTarget Prediction数据库预测成分潜在作用靶点,应用Disgenet数据库、GeneCards数据库、OMIM数据库获得急性胰腺炎相关靶点,将柴胡、黄芩活性化学成分相关靶点与急性胰腺炎相关靶点进行交集,并绘制韦恩图;针对两者交集靶点,利用STRING 12.0数据库及Cytoscape3.9.1软件构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络;利用Metascape数据库对药物与疾病关键靶点进行基因本体论(Gene Ontology, GO)功能富集分析和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,通过Cytoscape3.9.1构建“中药-有效成分-作用靶点-疾病-通路”网络图,最后运用AutoDockTools1.5.7等软件进行分子对接验证,运用Pymol进行分子对接可视化。**结果:**共筛选出40个有效化学成分,487个药物作用靶点,疾病相关靶点1639个,药对中共180个作用靶点与急性胰腺炎存在交集关系,核心靶点为GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3等,GO分析结果主要涉及磷酸化的调节、磷酸盐代谢、细胞迁徙及运动等生物过程,KEGG主要富集在癌症通路、PI3K-Akt信号通路、Rap1信号通路、细胞凋亡、TNF信号通路等。柴胡和黄芩中去甲汉黄芩素、异鼠李素这2种活性成分与GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3均能够有效结合。**结论:**“柴胡-黄芩”可以通过多成分、多靶点、多维度、多通路治疗急性胰腺炎(起重要作用的成分为去甲汉黄芩素、异鼠李素等,靶点为GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3),可起到抗炎症反应、抗细胞凋亡、抗氧化应激反应等综合作用,这可为后续的研究提供理论基础及参考依据。

关键词 柴胡-黄芩;急性胰腺炎;网络药理学;分子对接;作用机制

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是消化内科的常见急危重症,以突发腹痛为主要临床表现,以发病急骤、进展迅速、并发症多为临床特点。随着病情进展,该病可能并发全身炎症反应综合征、急性呼吸窘迫综合征、急性肾损伤、腹腔高压、腹腔间隔室综合征、胰周积液、胰腺坏死等多种并发症^[1]。中国的胰腺炎疾病负担大致呈上升趋势,其死亡率随着年龄的增长而增长^[2]。西医治疗方面,以液体复苏、抑制胰液分泌、抑制胰酶活性等常规治疗为主。相关研究^[3-5]表明,中医在西医基础上,施以中药汤剂口服、中药汤剂灌肠、中药外敷、针灸、微波等治疗手段,可有效减轻

患者症状,促进病情恢复,具有良好的临床疗效。中医将急性胰腺炎归属于“脾心痛”“厥心痛”“脾痹”“结胸”“腹痛”“胰瘕”等范畴^[6-7],并将其病因总结为过嗜酒浆、饮食不节、胆石内积、蛔虫上扰、跌仆损伤、情志不遂、感受外邪等。上述病理因素阻滞中焦气机,气机阻滞,不通则痛,发为腹痛,故其基本病机为“不通则痛”^[8]。数据统计分析^[9]显示,“大柴胡汤”“清胰汤”“柴芩承气汤”在急性胰腺炎中的临床应用最为广泛。以上三个方子中都含有“柴胡-黄芩”这一重要的药对。“柴胡-黄芩”这一经典药对首见于《伤寒论》的“小柴胡汤”中,之后在临床中得到广泛应用,如2020年版《中国药典》所记载的中成药中含有“柴胡-黄芩”药对的就有28种。柴胡味苦、性微寒,归肝、胆经,可和解表里,疏肝,升阳;黄芩味苦、性寒,归肺、胆、脾、大

※基金项目 国家中医药管理局全国名老中医药专家吴耀南传承工作室建设项目(No. 国中医药人教函[2022]75号)
• 作者单位 厦门市中医院(福建 厦门 361009)

肠、小肠经,可清热燥湿,泻火解毒,止血,安胎。柴胡与黄芩一升一降,升降有序,疏调气机,可有效行气止痛。由于药对在中药汤剂中的具体起效方式并不是单纯的药味叠加,其起效机制尚待进一步科学探索,故本文采用网络药理学研究方法,利用平台大数据预测“柴胡-黄芩”主要活性成分、作用靶点和途径,构建主要活性成分-靶点-疾病-通路关系,并以分子对接验证结合成果,进而分析其治疗急性胰腺炎的潜在作用机制,为药对的研究提供理论依据,为“柴胡-黄芩”在急性胰腺炎中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 “柴胡-黄芩”有效活性成分的筛选及靶点预测

在中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, <https://tcmsp-e.com/tcmssp.php>)检索柴胡、黄芩这两味中药的化学成分,设置口服利用度(oral bioavailability, OB)≥30%,设置药物相似性(drug likeness, DL)≥0.18,初步筛选活性化学成分;以分子名称(核对分子量及分子结构)在 Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)找到对应 SMILES,若在 Pubchem 上未搜索到 SMILES,则在 TCMSP 上下载分子结构,将分子结构上传至 NovoPro (<https://www.novopro.cn/tools/mol2smiles.html>)生成 SMILES,进而以 SMILES 在 SwissADME 平台进行进一步筛选,以胃肠道吸收(Gastrointestinal absorption)的得分为“high”,类药性(Druglikeness)至少通过2个“Yes”为条件进行筛选,将筛选出的有效化合物的 SMILES 输入 SwissTarget Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)预测作用靶点,剔除无靶点的化学成分,获得“柴胡-黄芩”的活性化学成分及其潜在作用靶点。

1.2 急性胰腺炎疾病靶点的筛选及药物-疾病交集靶点的获取

以“Acute pancreatitis”为关键词在 Disgenet 数据库(<https://www.disgenet.org/>)、Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<https://omim.org/>)检索 AP 的潜在疾病靶点(在 Gene Cards 数据库、Disgenet 数据库中,若靶点过多,则设定数值大于中位数的靶点为急性胰腺炎的靶点);将3个疾病数据库搜索到的靶点汇总,删除重复靶点后得到急性胰腺炎靶点;将“柴胡-黄芩”的潜在靶点与急性胰腺炎疾病靶点输入 Venny 在线软件([\[bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html\]\(https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html\)\)进行交集,获取交集靶点,并绘制可视化的韦恩图,得到的交集靶点就是“柴胡-黄芩”治疗急性胰腺炎的作用靶点;结合上述得到的药物靶点、疾病靶点及重要有效成分的关系,在 Cytoscape3.9.1 软件上构建“中药-活性成分-靶点-疾病”的网络关系图。](https://</p></div><div data-bbox=)

1.3 构建 PPI 蛋白互作网络关系图

将“柴胡-黄芩”与急性胰腺炎的交集靶点导入 STRING 12.0 数据库(<https://string-db.org/>),设置物种为“Homo sapiens”,获得 PPI 网络;将结果导入 Cytoscape3.9.1 软件上使用 Centiscape2.2 插件 Degree、Closeness、Betweenness 参数筛选核心靶点,构建靶点蛋白的可视化互作网络图。

1.4 对药物与疾病交集靶点进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

借助 Metascape 数据库对交集靶点进行 GO 和 KEGG 分析,获得交集靶点参与的生物学过程和相关通路,根据 P -Value<0.05 进行信号通路分析及可视化,再对 GO 各分类前 10 名及 KEGG 通路前 20 名进行可视化分析。

1.5 构建“中药-有效成分-作用靶点-疾病-通路”网络图

在 Cytoscape3.9.1 软件中导入前述筛选的有效成分、靶点、KEGG 富集的主要信号通路,构建“中药-有效成分-作用靶点-疾病-通路”网络图。

1.6 分子对接

选取蛋白质-蛋白质相互作用网络中作用强度排名前 5 位的核心靶点作为受体蛋白,将“1.5”得出的网络中排名前 2 位的药物活性化学成分作为配体蛋白,通过 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)和 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)获取药物和关键靶点蛋白的结构;利用 Pymol 3.0 软件对蛋白质结构进行去水处理,利用 Autodocktools 1.5.7 对蛋白和配体进行处理,之后利用 Autodock Vina 1.1.2 软件进行分子对接,最后利用 ligplot+ 软件进行结果的化学键分析,并采用 Pymol 3.0 软件进行可视化处理。

2 结果

2.1 “柴胡-黄芩”有效活性成分的筛选及靶点获取

检索及筛选后得到黄芩有效化学成分 28 个,柴胡有效化学成分 12 个(见表 1),通过 SwissTarget Prediction 数据库分析共获得 678 个靶点,其中柴胡 336 个、黄芩 342 个,去除重复靶点后共获得 487 个作用靶点。

表1 柴胡-黄芩有效化学成分

来源	编号	分子标识	有效化学成分	OB	DL
柴胡	Chai1	MOL000354	异鼠李素(isorhamnetin)	49.60	0.31
	Chai2	MOL000422	山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24
	Chai3	MOL004598	3,5,6,7-四甲氧基-2-(3,4,5-三甲氧基苯基)色酮[3,5,6,7-tetramethoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)chromone]	31.97	0.59
	Chai4	MOL004609	茵陈黄酮(Areapillin)	48.96	0.41
	Chai5	MOL013187	葎澄茄素(Cubebin)	57.13	0.64
	Chai6	MOL004624	长贝壳杉素 A(Longikaurin A)	47.72	0.53
	Chai7	MOL004628	羟基羽扇豆烷宁(Octalupine)	47.82	0.28
	Chai8	MOL004644	赛因呋喃(Sainfuran)	79.91	0.23
	Chai9	MOL004653	(+)-阿诺马林[(+)-Anomalin]	46.06	0.66
	Chai10	MOL004702	柴胡皂苷 C _{qt} (saikosaponin c _{qt})	30.50	0.63
	Chai11	MOL000490	矮牵牛素(petunidin)	30.05	0.31
	Chai12	MOL000098	槲皮素(queretin)	46.43	0.28
黄芩	Huang1	MOL001689	刺槐素(acacetin)	34.97	0.24
	Huang2	MOL000173	汉黄芩素(wogonin)	30.68	0.23
	Huang3	MOL000228	(2R)-7-羟基-5-甲氧基-2-苯基色满-4-酮[(2R)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one]	55.23	0.20
	Huang4	MOL002714	黄芩苷(baicalein)	33.52	0.21
	Huang5	MOL002908	5,8,2'-三羟基-7-甲氧基黄酮(5,8,2'-Trihydroxy-7-methoxyflavone)	37.01	0.27
	Huang6	MOL002909	5,7,2',5'-四羟基-8,6-二甲氧基黄酮(5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone)	33.82	0.45
	Huang7	MOL002910	红花素(Carthamidin)	41.15	0.24
	Huang8	MOL002911	2,6,2',4'-四羟基-6'-甲氧基查耳酮(2,6,2',4'-tetrahydroxy-6'-methoxychaleone)	69.04	0.22
	Huang9	MOL002913	二氢黄芩苷(Dihydrobaicalin _{qt})	40.04	0.21
	Huang10	MOL002914	圣草酚(Eriodyctiol)	41.35	0.24
	Huang11	MOL002915	鼠尾草素(Salvigenin)	49.07	0.33
	Huang12	MOL002917	5,2',6'-三羟基-7,8-二甲氧基黄酮(5,2',6'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone)	45.05	0.33
	Huang13	MOL002925	5,7,2',6'-四羟基黄酮(5,7,2',6'-Tetrahydroxyflavone)	37.01	0.24
	Huang14	MOL002926	二氢木蝴蝶素 A(dihydrooroxylin A)	38.72	0.23
	Huang15	MOL002927	黄芩黄酮 II (Skulcapflavone II)	69.51	0.44
	Huang16	MOL002928	木蝴蝶素 A (oroxylin a)	41.37	0.23
Huang17	MOL002932	黄芩黄酮 I (Panicolin)	76.26	0.29	
Huang18	MOL002933	5,7,4'-三氧甲基黄酮(5,7,4'-Trihydroxy-8-methoxyflavone)	36.56	0.27	
Huang19	MOL002934	新黄芩素(Neobaicalein)	104.30	0.44	
Huang20	MOL002937	二氢木蝴蝶素(Dihydrooroxylin)	66.06	0.23	
Huang21	MOL000525	去甲汉黄芩素(Norwogonin)	39.40	0.21	
Huang22	MOL000552	5,2'-二羟基-6,7,8-三甲氧基黄酮(5,2'-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone)	31.71	0.35	
Huang23	MOL001458	黄连碱(coptisine)	30.67	0.86	
Huang24	MOL002897	表小檗碱(epiberberine)	43.09	0.78	
Huang25	MOL008206	5-羟基-7,8-二甲氧基黄酮(Moslosooflavone)	44.09	0.25	
Huang26	MOL012245	5,7,4'-三羟基-6-甲氧基二氢黄酮(5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavanone)	36.63	0.27	
Huang27	MOL012246	5,7,4'-三羟基-6-甲氧基二氢黄酮(5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavanone)	74.24	0.26	
Huang28	MOL012266	半枝莲种素(rivularin)	37.94	0.37	

2.2 急性胰腺炎相关靶点的获取 应用 Disgenet 数据库、Gene Cards 数据库、OMIM 数据库分别获得急性胰腺炎相关靶点 436 个、1305 个、181 个, 合并 3 个数据库靶点, 删除重复值后, 共获取急性胰腺炎疾病靶

点 1639 个。

2.3 潜在活性化合物及靶点筛选结果 采用 Venny 在线软件将“柴胡-黄芩”潜在靶点与急性胰腺炎潜在靶点取交集, 得到 180 个交集靶点。见图 1。

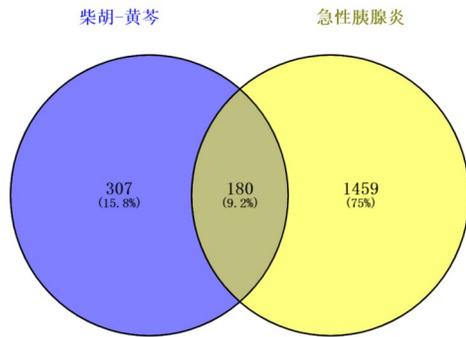


图1 “柴胡-黄芩”与急性胰腺炎相关靶点韦恩图

2.4 构建“中药-活性成分-靶点-疾病”的网络关系图

在 Cytoscape3.9.1 软件构建“中药-活性成分-靶点-疾病”相关网络,网络中有 222 个节点和 1505 条边,节点大小与度值成正比。浅蓝色为药物有效成分(使用缩写代号,详见表 1),浅绿色为共同靶点,黄色为中药名称。与靶点关联度排名前 5 位的是 Huang21、Chai1、Huang18、Chai12、Huang4,所代表的化学成分分别为去甲汉黄芩素、异鼠李素、5,7,4'-三氧甲基黄酮、槲皮素、黄芩苷。见图 2。

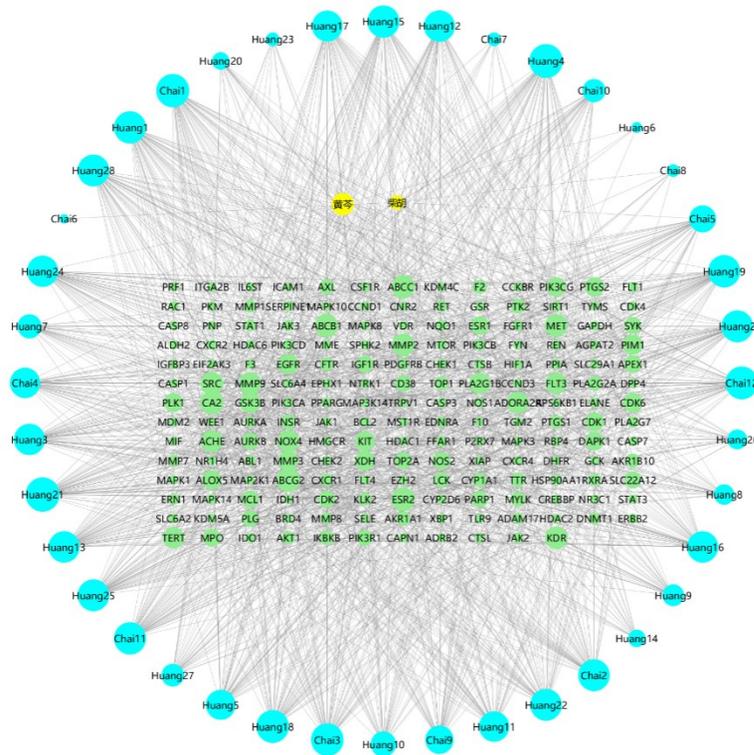


图2 中药-活性成分-靶点-疾病网络图

2.5 蛋白质-蛋白质相互作用网络构建及可视化分析

将从 Venny 软件中所获得的“柴胡-黄芩”在急性胰腺炎中潜在的 180 个靶点导入 STRING 数据库,物种选择“Homo sapiens”,得到“柴胡-黄芩”与急性胰腺炎之间蛋白质-蛋白质相互作用网络的构建,导入 Cytoscape3.9.1 软件,筛选前网络中有 180 个节点和 3517 条边,使用插件 Centiscape2.2 进行筛选,筛选得到 Closeness 值大于 0.003047713, Betweenness 值大于 155.3777778, Degree 值大于 39.0777778, 筛选后网络中有 38 个节点和 593 条边,其中节点代表靶点蛋白,边代表蛋白质与蛋白质之间的作用关系,网络连接程度越高说明蛋白质之间关系越密切,以同心圆排列,

degree 值越高的蛋白节点越大,颜色越深,越趋于中心位置,其中排名前 5 的核心靶点为: GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3。见图 3。

2.6 靶点功能 GO 及 KEGG 通路富集

GO-BP 富集提示“柴胡-黄芩”主要参与蛋白质磷酸化调节、细胞迁徙、细胞运动、细胞对化合物的反应等生物过程; GO-CC 提示靶点富集于细胞基质、质膜蛋白复合物、受体复合物等细胞组分; GO-MF 显示与蛋白激酶活性、跨膜受体蛋白激酶活性、生长因子结合等分子功能有关。KEGG 富集发现 207 条通路,主要涉及癌症相关通路、PI3K-Akt 信号通路、Rap1 信号通路、细胞凋亡、TNF 信号通路等。见图 4、图 5。

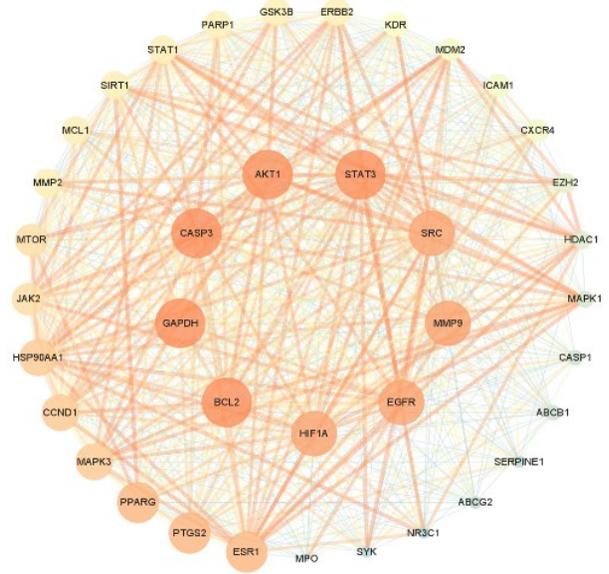


图3 柴胡-黄芩在急性胰腺炎中潜在靶点的蛋白质-蛋白质相互作用图

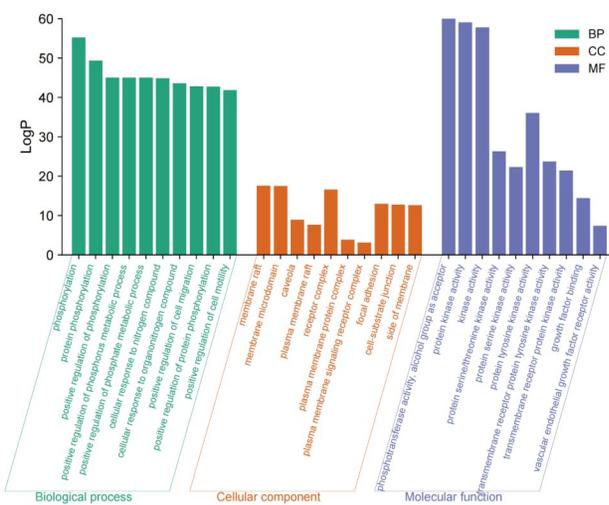


图4 柴胡-黄芩基因本体论富集分析图

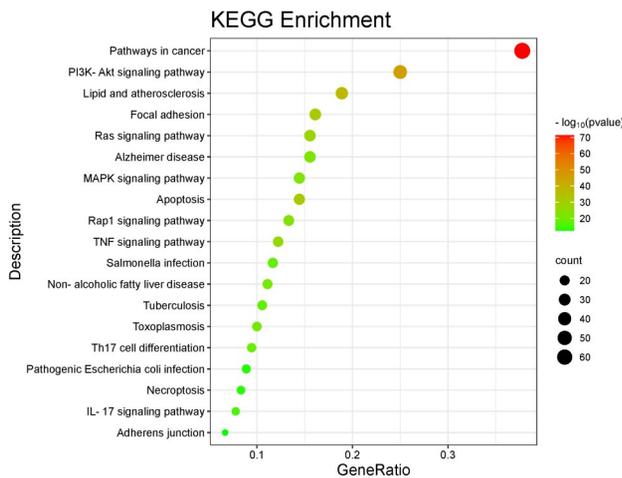


图5 京都基因与基因组百科全书富集气泡图

2.7 构建“中药-有效成分-作用靶点-疾病-通路”相关网络 利用 Cytoscape3.9.1 软件将 KEGG 信号通路富集的前 20 条通路与“柴胡-黄芩”的有效成分、作用靶点、疾病之间结合,构建中药、有效成分、作用靶点、疾病、通路这 5 个要素之间的网络图。其中,节点大小与度值成正比;嫩绿色为黄芩有效成分;蓝绿色为柴胡有效成分(有效成分缩写详见表 1);紫色为通路;黄色为靶点。见图 6。

2.8 分子对接结果分析 根据度值,选取蛋白质-蛋白质相互作用网络中作用强度前 5 位的核心靶点 (GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3) 作为受体蛋白,将“1.5”得出的网络中排名前 2 位的药物活性化学成分(去甲汉黄芩素、异鼠李素)作为配体蛋白,进行分子对接(分子对接结果见表 2)。结合能越低,表明结合活性越好,若结合能 < -5 kcal/mol,则表示分子在自然状态下结合良好。结果显示,柴胡和黄芩中 2 种活性成分(去甲汉黄芩素、异鼠李素)与 GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3 均能够有效结合。结合能从小到大排列,将位于前 2 位的对接结果进行可视化作图(见图 7)。

3 讨论

急性胰腺炎以发病急骤、进展迅速、并发症多、死亡率高为临床特点。众多学者对其发病机制展开研究,近年来研究发现线粒体功能障碍、自噬流受损、病理性钙信号和内质网应激失衡可能在其发病过程中发挥重要作用^[10]。随着其发病机制研究的不断深入,临床治疗方案也随着多样化,但急性胰腺炎所导致的重症率和死亡率仍偏高^[11]。中医药治疗急性胰腺炎的研究颇多,多获得很好的疗效。通过大数据分析,结果显示“大柴胡汤”“清胰汤”“柴芩承气汤”在临床中的应用最为广泛,进一步分析上述组方,发现均有“柴胡-黄芩”,故“柴胡-黄芩”在急性胰腺炎中可能发挥着至关重要的作用。柴胡一药首载于《神农本草经》:“柴胡,一名地熏,味苦平,生川谷。治心腹肠胃中结气,饮食积聚,寒热邪气,推陈致新。”现代药理学研究也发现柴胡具有抗抑郁、抗炎、免疫调节、保肝、退热、抗癫痫、抗肿瘤、镇痛等一系列作用^[12]。黄芩亦首载于《神农本草经》:“黄芩,一名腐腹,味苦平,生川谷。治诸热黄疸,肠澼泄利,逐水下血闭,恶疮蚀火疡。”现代药理学研究发现黄芩具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤、保护神经元等作用^[13]。“柴胡-黄

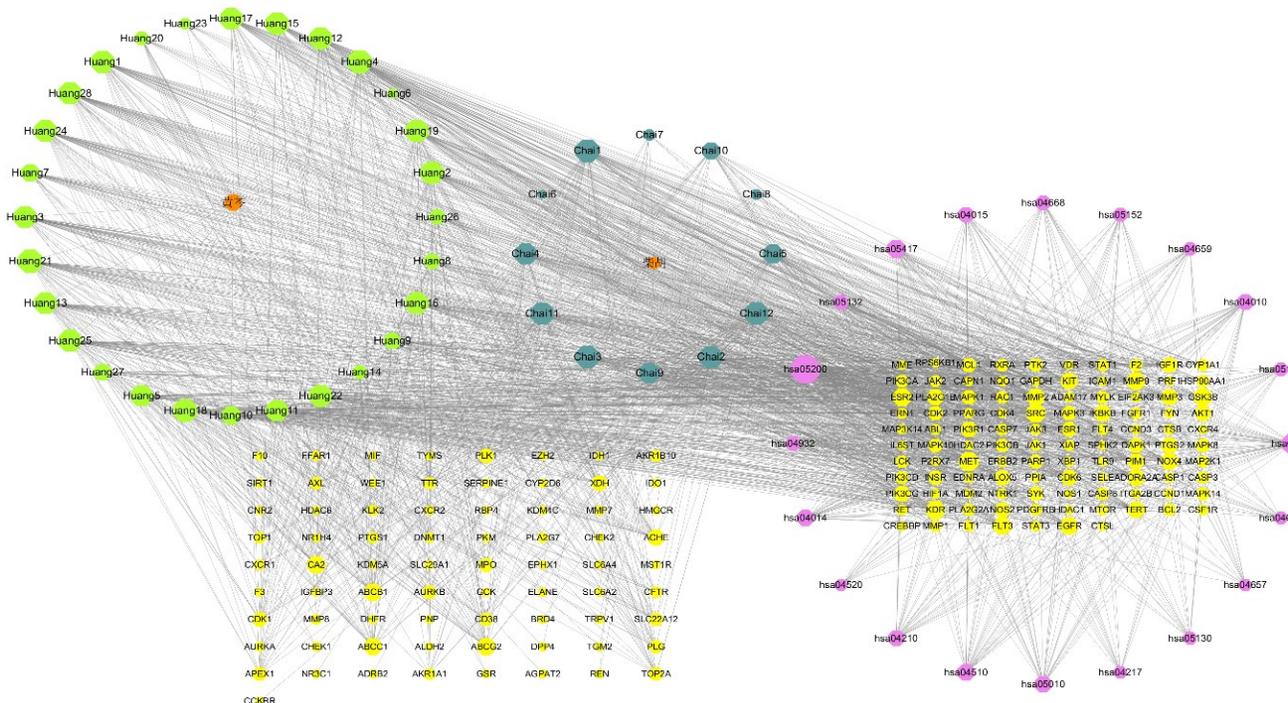


图6 “中药-有效成分-作用靶点-疾病-通路”网络图

表2 去甲汉黄芩素、异鼠李素与GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3的分子对接结果

编号	PDB	核心靶点	活性成分	结合能/kcal·mol ⁻¹	编号	PDB	核心靶点	活性成分	结合能/kcal·mol ⁻¹
1	6NJS	STAT3	异鼠李素	-7.1	6	6NJS	STAT3	去甲汉黄芩素	-7.0
2	8UW9	AKT1	异鼠李素	-10.5	7	8UW9	AKT1	去甲汉黄芩素	-10.5
3	8P5F	GAPDH	异鼠李素	-7.1	8	8P5F	GAPDH	去甲汉黄芩素	-7.6
4	4JJE	CASP3	异鼠李素	-7.2	9	4JJE	CASP3	去甲汉黄芩素	-7.2
5	8HTR	BCL2	异鼠李素	-7.8	10	8HTR	BCL2	去甲汉黄芩素	-7.3

芩”作为中医经典药对,在临床多系统疾病中应用广泛,在急性胰腺炎的临床应用中尤其明显。

本研究通过网络药理学方法筛选出“柴胡-黄芩”药对治疗急性胰腺炎的核心活性化学成分去甲汉黄芩素、黄芩苷、异鼠李素、5,7,4'-三氧甲基黄酮、槲皮素。其中去甲汉黄芩素是一种黄酮类化合物,不仅可以去除活性氧ROS,也可以起到降低白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-6(IL-6)、抗肿瘤坏死因子α(TNF-α)表达的作用。TNF-α是炎症反应的启动因子,在很多炎症疾病中均有较高水平的表达^[4],可以促进胰腺泡细胞的凋亡而引起胰腺组织坏死;IL-6、IL-1β则是调节急性重症胰腺炎的炎症反应的重要细胞因子^[15-16]。黄芩苷也是一种天然黄酮类化合物,不仅可以抑制IL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α等一系列炎症因子(这些炎症因子在急性胰腺炎的炎症反应中均发挥重要作用),也可以抑制一氧化氮、前列腺素、白三烯、活性氧等炎性介质的生成^[17],从而阻断炎症反应。

异鼠李素是一种天然的黄烷醇类化合物,具有显著的药理作用,包括抗炎、抗氧化等^[18],能够显著降低TNF-α、IL-8等炎症因子水平^[19],同时可以清除ROS,而过量的ROS可以引起细胞内氧化应激失衡,进一步导致细胞损伤^[20]。5,7,4'-三氧甲基黄酮具有抗菌及抗真菌活性^[21],对急性胰腺炎合并感染的患者存在治疗作用。槲皮素也是一种黄酮类化合物,对炎症反应有积极作用,不仅能够抑制炎症介质TNF-α、IL-6和IL-10等的产生^[22],而且能够显著增加组织胰岛素的产生,恢复抗氧化防御系统,抑制炎症的进展^[23]。

本研究结果表明,“柴胡-黄芩”药对治疗急性胰腺炎的核心靶点为GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3。GAPDH(甘油醛-3-磷酸脱氢酶,Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)是一种多功能蛋白,在氧化/亚硝基化应激状态下介导细胞死亡。GAPDH的活性位点残基半胱氨酸-152(Cys-152)被氧化,形成分子间二硫键,诱导GAPDH聚集,引起线粒体功能

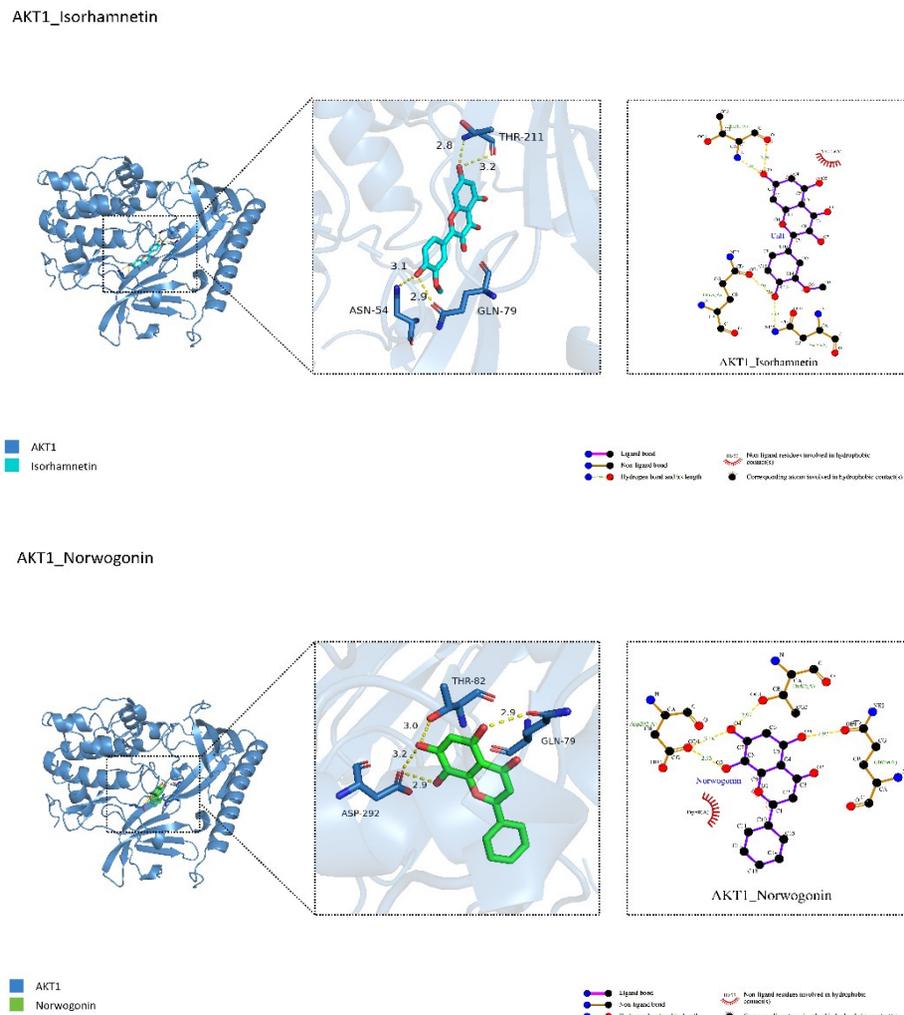


图7 AKT1与异鼠李素(上图)、去甲汉黄芩素(下图)分子对接可视化

障碍,最终导致细胞死亡^[24]。AKT1(蛋白激酶B α , Protein Kinase B α)是细胞信号传导的核心分子,通过磷酸化下游靶点调控多种关键生理过程。研究表明,抑制AKT1的表达可通过减少胰腺酶的激活来降低炎症组织损伤^[25]。BCL2(B细胞淋巴瘤/白血病-2蛋白, B-cell lymphoma 2)作为调控细胞凋亡的关键分子,在胰腺炎的发生、发展中发挥重要作用,主要通过影响胰腺细胞凋亡、炎症反应及组织修复等过程来参与疾病进展,通过抑制BAX/BCL2/CASP3信号通路来抑制胰腺细胞凋亡^[26]。STAT3(信号转导和转录激活因子3, Signal Transducer and Activator of Transcription 3)是调节免疫和炎症反应的多功能因子,在细胞增殖、分化、凋亡、免疫调节及肿瘤发生中起关键作用,因而抑制STAT3可缓解急性胰腺炎炎症反应^[27]。CASP3(半胱天冬酶-3, Caspase-3)属于半胱氨酸蛋白酶家族,是

细胞凋亡通路中的关键执行因子,其活化与胰腺腺泡细胞凋亡、炎症反应放大及组织损伤密切相关^[25-26]。虽然目前尚且缺乏关于去甲汉黄芩素、异鼠李素对GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3的直接作用机制的研究,但本研究分子对接技术结果表明,以上2种化学活性成分与上述核心靶点具有良好的结合活性,故可推测其主要活性成分可调控上述靶点的信号通路,从而发挥抑制炎症反应的作用。

本研究中GO功能富集分析和KEGG通路富集分析的结果显示,柴胡-黄芩药对治疗急性胰腺炎的作用机制主要涉及癌症相关通路、PI3K-Akt信号通路、Rap1信号通路、细胞凋亡、TNF信号通路。上述通路可参与胰腺细胞的炎症、凋亡、焦亡、自噬、氧化应激等途径^[28-30],从而干预急性胰腺炎的发生及发展。

综上所述,“柴胡-黄芩”药对中的去甲汉黄芩素、

异鼠李素能够通过调控 GAPDH、AKT1、BCL2、STAT3、CASP3 基因的表达而发挥抗炎作用,可通过抑制癌症相关通路、PI3K-Akt 信号通路、Rap1 信号通路、细胞凋亡、TNF 信号通路,从而减少 IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 等一系列炎症细胞因子的释放,以达到治疗急性胰腺炎的目的。此次研究以生物信息学及数据计算为基础来预测“柴胡-黄芩”对急性胰腺炎的作用机制,可为基础研究提供一定方向。后续可在此基础上进一步开展动物及细胞试验、临床试验等加以验证,进而明确“柴胡-黄芩”药对治疗急性胰腺炎的调控靶点。

参考文献

- [1] 李非,曹锋.中国急性胰腺炎诊治指南(2021)[J].中国实用外科杂志,2021,41(7):739-746.
- [2] 蒋梦可,陆宗庆,周伍明,等.1990—2019年中国胰腺炎疾病负担分析[J].中国循证医学杂志,2022,22(8):869-875.
- [3] JIAO J, LIU J, LUO F, et al. Qingyi granules ameliorate severe acute pancreatitis in rats by modulating the gut microbiota and serum metabolic aberrations[J]. Pharm Biol, 2023, 61(1):927-937.
- [4] 孙远松,李贺,王琪,等.大黄配方颗粒对急性胰腺炎患者炎症因子水平影响的临床观察[J].中国中医急症,2023,32(12):2134-2137.
- [5] LIU X, YUAN L, TANG Y, et al. Da-Cheng-Qi decoction improves severe acute pancreatitis-associated acute lung injury by interfering with intestinal lymphatic pathway and reducing HMGB1-induced inflammatory response in rats[J]. Pharm Biol, 2023, 61(1):144-154.
- [6] 蒋里,简婕,王世东,等.胰腺疾病中医病名考辨[J].北京中医药,2020,39(8):777-781.
- [7] 朱沛文,杨国红.急性胰腺炎中医病名溯源探微[J].中医临床研究,2016,8(14):35-36.
- [8] 刘洋,赵平武,陈钰.急性胰腺炎中医治疗的研究进展[J].中外医疗,2023,42(8):191-194.
- [9] 张雪奇,兑秋李,张云娜,等.急性胰腺炎的中医药治疗知识图谱可视化分析[J].中国中西医结合外科杂志,2023,29(6):746-752.
- [10] 彭凯新,文礼.急性胰腺炎的发病机制研究进展及未来展望[J].西安交通大学学报(医学版),2024,45(2):167-177.
- [11] 许利明,郑悦亮.基于指南强化重症急性胰腺炎的综合评估和治疗[J].临床急诊杂志,2022,23(12):837-841.
- [12] 李力恒,陈丽萍,胡晓阳,等.柴胡的化学成分及药理作用研究进展[J].中医药学报,2023,51(2):109-112.
- [13] 黄烈岩,聂黎行,康帅,等.黄芩中化学成分、药理作用和质量控制的研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2024,26(4):88-96.
- [14] 柏慧,王新会,娄佳悦,等.去甲汉黄芩素抗脓毒症潜在靶点的筛选与鉴定[J].药学研究,2021,40(11):708-712.
- [15] 信然然,霍丽丽,刘岩.前列地尔联合血必净治疗急性重症胰腺炎的疗效及对血清肿瘤坏死因子- α 白细胞介素-6 降钙素原的影响[J].山西医药杂志,2020,49(2):137-140.
- [16] 乔德峰,赵刘乐,刘海凤.柴芩承气汤配合奥曲肽对重症急性胰腺炎并发肠梗阻患者血清肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 和 C 反应蛋白的影响[J].中国中医急症,2018,27(8):1362-1365.
- [17] LIAO H, YE J, GAO L, et al. The main bioactive compounds of *Scutellaria baicalensis* Georgi. for alleviation of inflammatory cytokines: A comprehensive review[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133:110917.
- [18] WANG L, XIE Y, XIAO B, et al. Isorhamnetin alleviates cisplatin-induced acute kidney injury via enhancing fatty acid oxidation[J]. Free Radic Biol Med, 2024, 212:22-33.
- [19] GREIFOVÁ H, TOKÁROVÁ K, JAMBOR T, et al. Isorhamnetin influences the viability, superoxide production and interleukin-8 biosynthesis of human colorectal adenocarcinoma HT-29 cells in vitro[J]. Life (Basel), 2023, 13(9):1921.
- [20] 潘俊坤,焦中高,张强. EGCG 和异鼠李素的细胞抗氧化协同作用[J].食品工业科技,2023,44(22):12-18.
- [21] FILHO O D A A, FERNANDES B M H, SOUSA D P J, et al. Antifungal Effect of Flavonoid 5,7,4'-Trimethoxyflavone against *Candida krusei* Strains[J]. International Journal of TROPICAL DISEASE & Health, 2015, 5(2):36-40.
- [22] SHENG B, ZHAO L, ZANG X, et al. Quercetin inhibits caerulein-induced acute pancreatitis through regulating miR-216b by targeting MAP2K6 and NEAT1[J]. Inflammopharmacology, 2021, 29(2):549-559.
- [23] TRI W, KHOIRUN N, SRI H, et al. Ameliorative effect of quercetin on pancreatic damage in rodent: a meta-analysis[J]. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 2023, 10(1):433-446.
- [24] ITAKURA M, KUBO T, KANESHIGE A, et al. Inhibition of GAPDH aggregation as a potential treatment for acute ischemic stroke[J]. iScience, 2025, 28(6):112564.
- [25] WANG X, QIAN J, MENG Y, et al. Salidroside ameliorates severe acute pancreatitis-induced cell injury and pyroptosis by inactivating Akt/NF- κ B and caspase-3/GSDME pathways[J]. Heliyon, 2023, 9(2):e13225.
- [26] YU X, ZHANG Y, PEI K, et al. *Lactiplantibacillus plantarum* attenuates Coxsackievirus B3-induced pancreatitis through the BAX/BCL2/CASP3 signaling pathway[J]. Food Funct, 2023, 14(9):4129-4142.
- [27] LIANG T, ZHANG Z, BAI Z, et al. STAT3 increases CVB3 replication and acute pancreatitis and myocarditis pathology via impeding nuclear translocation of STAT1 and interferon-stimulated gene expression[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(16):9007.
- [28] 钟焕英,刘礼剑,黎丽群,等. PI3K/AKT 信号通路与急性胰腺炎相关研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2023,25(2):139-144.
- [29] OKUNO K, XU C, PASCUAL-SABATER S, et al. Berberine overcomes gemcitabine-associated chemoresistance through regulation of Rap1/PI3K-Akt signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2022, 15(10):1199.
- [30] EXPRESSION OF CONCERN: chondroitin-4-sulphate reduced oxidative injury in caerulein-induced pancreatitis in mice: the involvement of NF- κ B translocation and apoptosis activation[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2023, 248(23):2496.

(收稿日期:2024-09-02)

(本文编辑:蒋艺芬)