

基于网络药理学对鹿蹄橐吾镇咳活性成分的初步研究

汤俊¹, 陈翔¹, 徐玲², 胡敏², 肖凌^{2*} (1. 武汉大学药学院, 组合生物合成与新药发现教育部重点实验室, 武汉 430071; 2. 湖北省药品监督检验研究院, 国家药品监督管理局中药质量控制重点实验室, 湖北省药品质量检测与控制工程技术研究中心, 武汉 430075)

摘要 目的: 采用网络药理学方法获取鹿蹄橐吾治疗咳嗽的潜在活性成分及蛋白靶点, 并探讨可能的作用机制。方法: 从PubMed等数据平台获得鹿蹄橐吾化学成分并使用SwissADME和SwissTargetprediction对其进行筛选, 获取潜在成分; 利用GeneCards获取咳嗽相关靶点; 通过STRING和Cytoscape构建和分析PPI网络, 获取核心靶点; 使用Metascape平台进行GO生物功能过程和KEGG代谢通路富集分析。结果: 在多平台分析下得到23个核心靶点, 其对应成分中多为艾里莫芬烷型倍半萜, GO分析获取了如蛋白磷酸化正调控、炎症反应调节等生物过程, 细胞膜及突触等细胞组成, 以及蛋白激酶结合、蛋白质结构域特异性结合等分子功能条目。KEGG富集显示与炎症等相关的信号通路。结论: 鹿蹄橐吾存在改善咳嗽病征的有效成分, 且以多组分、多靶点、多通路的形式发挥作用, 其机制可能涉及炎症和免疫等相关通路。

关键词: 鹿蹄橐吾; 镇咳; 网络药理学; 活性成分; 分子机制

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2024)04-0423-016

doi:10.16153/j.1002-7777.2024.04.008

Preliminary Study on the Anti-cough Active Components of *Ligularia hodgsonii* Hook. Based on Network Pharmacology

Tang Jun¹, Chen Xiang¹, Xu Ling², Hu Min², Xiao Ling^{2*} (1. Key Laboratory of Combinatorial Biosynthesis and Drug Discovery (Wuhan University), Ministry of Education, and Wuhan University School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan 430071, China; 2. Hubei Institute for Drug Control, NMPA Key Laboratory of Quality Control of Chinese Medicine, Hubei Engineering Research Center for Drug Quality Control, Wuhan 430075, China)

Abstract Objective: To obtain the potential active ingredients and protein targets of *Ligularia hodgsonii* Hook. in the treatment of cough, and to explore the possible mechanism of action by Network Pharmacology. **Methods:** The chemical constituents of *Ligularia hodgsonii* Hook. were retrieved from PubMed and other data platforms, then the potential targets screened out through SwissADME and SwissTargetprediction. Cough related targets were obtained by using GeneCards. Key targets were obtained from STRING and Cytoscape, which were used to construct and analyze PPI network. Metascape platform was used for GO biological function process and KEGG

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号31970349); 湖北省重点研发计划项目(编号2020ACA007-01)

作者简介: 汤俊 Tel: 18062119267; E-mail: tangj0205@163.com

通信作者: 肖凌 Tel: (027) 87705272; E-mail: lingyun724@126.com

metabolic pathway enrichment analysis. **Results:** Total of 23 key targets was obtained by multi-platform analysis, and most of the corresponding components were eremophilane-type sesquiterpenes. GO analysis obtained biological processes such as positive regulation of protein phosphorylation and regulation of inflammatory response, cellular component such as cell membrane and synapse, molecular function such as protein kinase binding and protein domain specific binding. The results of KEGG enrichment showed the signal pathways related to inflammation. **Conclusion:** *Ligularia hodgsonii* Hook. has many active ingredients, which may improve cough symptoms and functions via multi-component multi-target manner and multi-pathway. The underlying mechanism may involve related pathways of inflammation and immunity.

Keywords: *Ligularia hodgsonii* Hook.; cough-relieving effect; network pharmacology; active ingredients; molecular mechanism

鹿蹄橐吾 (*Ligularia hodgsonii* Hook.) 为菊科橐吾属植物, 主要分布于我国四川、云南、贵州等地, 其根及根茎分别以“川紫菀”和“滇紫菀”之名收载于四川省中药材标准和云南省药品标准中, 在临床上常代替“紫菀”使用, 具有镇咳祛痰等功效, 迄今已有较长的应用历史^[1-2]。据报道, 该药材含有多糖^[3]、生物碱^[4]、萜类^[5-6]及其他挥发性成分^[7]。研究表明, 鹿蹄橐吾水提醇溶物具有明显的祛痰镇咳效果, 且与相同剂量的紫菀作用相似^[2], 说明鹿蹄橐吾在临床上具有治疗咳嗽的潜在价值。目前, 对鹿蹄橐吾研究较多的是其生物碱类成分及其毒性作用, 但对于祛痰镇咳活性成分的研究尚不多见。网络药理学作为一种中药研究中的重要手段, 能够借助计算机中各类数据库, 预测核心靶点, 筛选潜在的活性成分, 能够为中药活性成分筛选提供理论帮助。基于此, 本文以鹿蹄橐吾为对象, 通过网络药理学获得其已知成分的潜在镇咳靶点, 预测其成分所影响的通路, 以期探究其治疗咳嗽的活性成分及其分子机制提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 鹿蹄橐吾化学成分的收集和ADME筛选

通过PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、知网 (<https://www.cnki.net>) 等平台获取与“鹿蹄橐吾”或“川紫菀”成分有关的文献, 提取出具有结构式的化学成分并编号, 在Chemdraw20.0中绘制成分结构, 输出“SMILES”形式和sdf文件, 在Excel中去重合并, 构建鹿蹄橐吾化学成分库, 共获得成分194个。通过SwissADME (www.swissadme.ch) 输入每个成分相应的“SMILES”式, 以GI absorption显示“high”, 同时满足Lipinski、Ghose、Veber、

Egan、Muegge中显示2个及以上的“Yes”为筛选条件, 获得符合要求的成分为112个。

1.2 鹿蹄橐吾成分靶点预测

基于Swiss Target Prediction (swisstargetprediction.ch) 平台, 输入化学成分的“SMILES”式, 参数选择“Homo Sapiens”(人类)进行靶点预测。收集可能性 ≥ 0.1 的靶点, 并去除可能性为0的靶点。针对部分未检索到的成分, 使用“PharmMapper”数据库进行补充。将Chemdraw20.0中输出的sdf格式上传至该平台, 检索条件中筛选目标设置为“Human Protein Targets Only”, 获得Norm Fit ≥ 0.9 的蛋白靶点, 通过UniprotID在Uniprot网站查询获得gene symbol。通过Excel整合, 去除重复靶点, 获得鹿蹄橐吾成分-靶点库。

1.3 疾病相关靶点库的建立

在“GeneCards”数据库中, 搜索关键词咳嗽“cough”收集相关基因, 选取Relevance Score ≥ 2 的靶点, 最终获得疾病相关靶点。

1.4 鹿蹄橐吾成分-靶点网络构建

通过Venn图 (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/Venny/>), 将筛选成分与疾病靶点整理映射, 获得交集靶点, 此即为鹿蹄橐吾治疗咳嗽的潜在靶点。

1.5 PPI网络构建和核心靶点筛选

将“1.4”项中获得的潜在靶点导入STRING (<https://cn.string-db.org>) 数据库, 默认Score为0.4, 输出TSV格式结果。将信息导入Cytoscape 3.9.0软件进行分析, 安装插件Centiscape2.2, 并在运行Analyze network后启动该插件, 勾选“Betweenness unDir”(节点介度)、“Closeness

unDir”（节点紧密度）、“Degree”（节点连接度），运行后获得核心靶点阈值，即Betweenness unDir \geq 105.93，Closeness unDir \geq 0.00465，Degree \geq 49.81，最后通过阈值筛选出核心靶点。通过Cytoscape再对核心靶点和关联的成分靶点作图。

1.6 基因本体论 (Gene ontology, GO) 生物功能过程和KEGG代谢通路富集分析

使用Metascape平台 (<https://metascape.org>)，在其中输入核心靶点，从数据库中获取KEGG、GO (BP、CC、MF) 信息，将文件导出，通过微信

网站 (www.bioinformatics.com.cn) 平台进行绘图。

2 结果与分析

2.1 鹿蹄橐吾化学成分筛选

在常用网站TCMSP (<https://www.tcm-sp.com>) 及ETCM (www.tcmip.cn/ETCM/) 上未查询到“鹿蹄橐吾”及“川紫菀”的药材成分数据。通过PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、知网 (<https://www.cnki.net>) 等平台获取的论文及文章数据^[4-6, 8-22]，去重后获得共194种成分，通过ADME筛选，最终获得112种化学成分，见表1。

表 1 鹿蹄橐吾筛选成分信息表

序号	化合物编号	名称	文献来源
1	A1	3 β -acetoxy-10 β -hydroxy-6 β ,8 β -dimethoxyeremophil-7(11)-en-8 α ,12-olide	[9]
2	A2	3 β -acetoxy-10 β -hydroxy-6 β -methoxy-eremophil-7(11),8-dien-8,12-olide	[9]
3	A3	3 β -acetoxy-10 β -hydroxy-6 β ,8 α -dimethoxyeremophil-7(11)-en-8 β -olide	[9]
4	A4	(6 β -(2'-methylbutanoyloxy)-3 β -acetoxy-10 β -hydroxy-8 α -methoxyeremophil-7(11)-en-8 β ,12-olide	[9]
5	A5	(6 β -(2'-methylbutanoyloxy)-3 β -acetoxy-10 β -hydroxy-eremophil-7(11)-en-8 β ,12-olide	[9]
6	A6	(6 β -(2'-methylbutanoyloxy)-3 β -acetoxy-8 β ,10 β -dihydroxyeremophil-7(11)-en-8 α ,12-olide	[9]
7	A7	3 β -acetoxy-8-oxoeremophil-6(7),9(10)-dien-12-oic methyl ester	[9]
8	A8	3 β -acetoxy-6 α ,7 α -epoxy-9(10)-en-8-oxoeremophil-12-nor-11-one	[9]
9	A9	5 β -acetoxy-3 α ,4,5,6,7,7 α -hexahydro-7 α ,4 β -dimethyl-1 <i>H</i> -inden-2-yl-ethanone	[9]
10	A10	1 β ,6 α -dihydroxyl-5 α - <i>H</i> -4(15)-eudesmene	[9]
11	A11	1 β ,6 α -dihydroxyl-5 α - <i>H</i> -4 β (15)-epoxyeudesmane	[9]
12	A12	loliolide	[9]
13	A13	9 β -hydroxy-1 β -methoxy-caryolane	[9]
14	A14	liguhodgsonal	[9]
15	A15	ligudentatin A	[9]
16	A16	2-hydroxyplatyphyllid	[9]
17	A17	5,6-dimethoxy-2-(prop-1-en-2-yl)-benzofuran	[9]
18	A18	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	[9]
19	A19	methyl 4-hydroxybenzoate	[9]
20	A20	(6 <i>S</i> ,7 <i>E</i>)-6-hydroxy-4,7-megastigmadien-3,9-dione	[9]
21	A21	syringaresinol	[9]

续表 1

序号	化合物编号	名称	文献来源
22	A24	wrightial	[9]
23	A27	5 α ,8 α -epidioxy-6,22-dien-ergosta-3 β -ol	[9]
24	A28	6,9(11),22-trien-5,8-epidioxy-ergosta-3 β -ol	[9]
25	A34	palmitic acid	[9]
26	A35	3-palmitoyl-sn-glycerol	[9]
27	B1	biliguhodgsonolide	[6, 10-11]
28	B2	10 α -hydroxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8,12-diolide	[6, 10-11]
29	B3	1 β -acetoxy-eremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
30	B4	1 β -acetoxy-8 β -hydroxy-eremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
31	B5	8 β -hydroxy-9 α -angeloyloxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
32	B6	6 α -angeloyloxy-8 α -hydroxyeremophil-7(11)-en-12,8 β -olide-4 β -carboxylic methyl ester	[6, 10-11]
33	B7	6 β -angeloyloxy-8 α -ethoxyeremophil-7(11)-en-12,8 β -olide-15 β -oic acid	[6, 10-11]
34	B8	6 α -angeloyloxy-8 α -ethoxyeremophil-7(11)-en-12,8 β -olide-15 β -oic acid	[6, 10-11]
35	B9	8,9-seco-12-hydroxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8,12-diolide-9-al	[6, 10-11]
36	B10	eremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
37	B11	8 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
38	B12	6 α ,15 β -epoxy-8 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-8 α ,12-olide	[6, 10-11]
39	B13	8 β -methoxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
40	B14	8 β -ethoxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
41	B15	eremopil-7(11),8(9)-dien-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	[6, 10-11]
42	B16	10 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8,12-diolide	[6, 10-11]
43	B17	6 β -angeloyloxy-8 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-12,8 β -olide-15 α -oic acid	[6, 10-11]
44	B21	ligudentatol	[6, 10-11]
45	B22	4 α -hydroxy-2-methyl-5 α -(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-one	[6, 10-11]
46	B23	4 β -hydroxy-2-methyl-5 α -(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-one	[6, 10-11]
47	B24	(4 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)- <i>trans</i> -6-hydroxy-piperitone	[6, 10-11]
48	B25	(4 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)- <i>cis</i> -6-hydroxy-piperitone	[6, 10-11]
49	B26	(1 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-1,4-dihydroxymenthenes	[6, 10-11]
50	B27	(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-1,4-dihydroxymenthenes	[6, 10-11]
51	B30	scopoletin	[6, 10-11]
52	B31	(<i>E</i>) ethyl 3-(4-hydroxyphenyl) propenoate	[6, 10-11]

续表 1

序号	化合物编号	名称	文献来源
53	B32	(Z) ethyl 3-(4-hydroxyphenyl) propenoate	[6, 10-11]
54	B33	ethyl caffeate	[6, 10-11]
55	B34	2,4,6-heptatrienoic acid,5-hydroxy-7-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3-methoxy- δ -lactone	[6, 10-11]
56	B35	9-angloyloxypinoresinol	[6, 10-11]
57	B39	ergost-6,22-diene-3 β ,5 α ,8 α -triol	[6, 10-11]
58	C1	quercetin	[8]
59	C2	(E)-3-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)-2-acrylic acid	[8]
60	C3	(E)-3-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-acrylic acid	[8]
61	C4	(S)-3-hydroxy-3-phenylpropanoic acid	[8]
62	F1	liguhodgcins A	[5]
63	F2	liguhodgcins B	[5]
64	G10	4-thujanol	[7]
65	G17	benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)	[7]
66	G19	bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 7,7-dimethyl-, acetate	[7]
67	G20	linalyl acetate	[7]
68	G21	6,6-dimethyl-2-bicyclo[3.1.1]hept-2-enyl]methyl acetate	[7]
69	G26	terpinyl acetate	[7]
70	H1	clivorine	[12]
71	H2	ligularine	[12]
72	I2	furanoeremophilane 2	[13]
73	I3	triglyceride	[13]
74	J2	6 β -(angeloyloxy)furanoeremophilan-15-oic acid	[14-15]
75	J3	3 β -acetoxy-6 β -[(2-methylbutanoyl)oxy]furanoer-emophilan-10 β -ol	[14-15]
76	L1	(1S,4aR,5R,6S,8 α R)-6-acetoxy-3-acetyl-8 α -hydroxy-4 α ,5-dimethyl-2-oxodecahydronaphthalen-1-yl (Z)-2-methylbut-2-enoate	[16]
77	L2	(1R,4 α R,6R,8 α S)-6-isopropyl-8 α -methyl-4-methyleneoctahydronaphthalene-1,4 α (2H)-diol	[16]
78	M1	furanoeremophilane	[17-19]
79	M2	bakkenolide A	[17-19]
80	M3	eremophilenolide	[17-19]
81	O2	6 β ,10 β -dihydroxyeremophil-7(11)-en-8 α ,12-olide	[19]
82	O3	3 β -acetoxy-6,9-dien-8-oxoeremophil-12-nor-11-ketone	[19]

续表 1

序号	化合物编号	名称	文献来源
83	O4	3 β -acetoxy-6 α ,8 α -dihydroxy-eremophil-7(11),9-dien-8,12-olide	[19]
84	Q2	hodgsonine	[20]
85	Q4	ligularizine	[20]
86	R1	2-pentanone	[21-22]
87	R22	caryophyllene oxide	[21-22]
88	R23	ledol	[21-22]
89	R24	spathulenol	[21-22]
90	R26	cedrol	[21-22]
91	R28	cedreanol	[21-22]
92	R29	selina-6-en-4-ol	[21-22]
93	R30	6,8,8-trimethyl-2-methylenetricyclo [5.2.2.0(1,6)]undecan-3-ol	[21-22]
94	R31	β -bisabolol	[21-22]
95	R32	α -bisabolol	[21-22]
96	R33	eudesm-7(11)-en-4-ol	[21-22]
97	R34	1-acetyl-4,6,8-trimethylazulene	[21-22]
98	R35	6-isopropenyl-4,8 α -dimethyl-3,5,6,7,8,8 α -hexahydro-2(1 <i>H</i>)-naphthalenone	[21-22]
99	R36	6-isopropenyl-4,8 α -dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8 α -octahydro-naphthalen-2-ol	[21-22]
100	R37	(1 <i>Z</i>)-4-isopropylidene-7-methylbicyclo [5.3.1]undec-1-en-8-ol(7 <i>R</i> ,8 <i>R</i> -8-hydroxy-4-isopropylidene-7-methylbicyclo[5.3.1]undec-1-ene)	[21-22]
101	R38	humulane-1,6-dien-3-ol	[21-22]
102	R39	<i>n</i> -pentadecanoic acid	[21-22]
103	R40	methyl hexadecanoate	[21-22]
104	R42	diisobutyl phthalate	[21-22]
105	T1	otonecine	[4]
106	T3.1	senkirkine	[4]
107	T3.2	neosenkirkine	[4]
108	T4.1	yamataimine	[4]
109	T4.2	duciformine	[4]
110	T5.2	platyphylline	[4]
111	T7.1	ligularidine	[4]
112	T7.2	neoligularidine	[4]

2.2 鹿蹄橐吾潜在作用靶点的获得

通过“1.2”项及“1.3”项的数据库分析操作，可以获得717个蛋白靶点以及650个疾病靶点。将得到的潜在成分作用靶点与疾病靶点进行比对，

如图1所示，在Venn图中，二者重合的靶点共有116个，将这些靶点提取并重新映射到成分集中，进行下一步的分析。

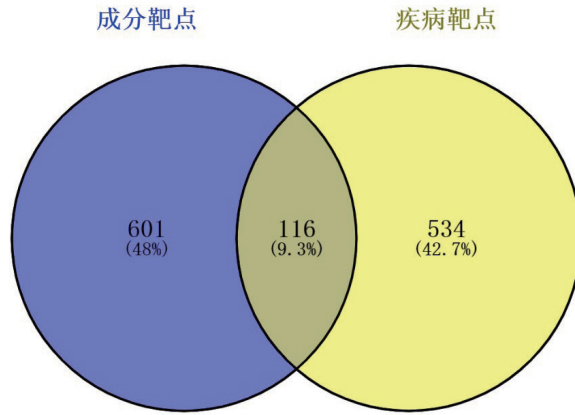


图 1 鹿蹄橐吾治疗咳嗽的靶点 Venn 图

2.3 STRING分析及核心靶点的筛选

将“1.4”项中获得的潜在靶点导入STRING (<https://cn.string-db.org>) 数据库，默认Score为0.4，输出后如图2。再将数据转入Cytoscape3.9.0软件进行分析，以Degree为变化对象，颜色越深，靶点形状越大，表示其代表的Degree值越大，即靶点

关联度越大，设置后输出图像如图3。通过软件计算出核心阈值并筛选出23个核心靶点，如表2展示即为核心靶点名称和相关信息。根据所得的核心靶点，重新映射至鹿蹄橐吾成分中，获得共46个关键成分，将其列表于表3，将靶点与成分映射，使用Cytoscape作图，输出结果如图4。

表 2 鹿蹄橐吾核心靶点信息

核心靶点	中文名称	节点介度	节点紧密度	节点连接度
ABCB1	ATP 依赖性转位酶 ABCB1	161.4545	0.004975	60
MAPK3	丝裂原活化蛋白激酶 3	337.147	0.005917	120
STAT3	信号转导和转录激活因子 3	145.8788	0.005525	108
TP53	细胞肿瘤抗原 p53	417.5464	0.005848	122
EGFR	表皮生长因子受体	329.4201	0.005848	120
ALB	白蛋白	1312.82	0.006579	154
MTOR	丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 mTOR	126.4292	0.005348	94
PTGS2	前列腺素 G/H 合酶 2	387.0614	0.005682	108
JUN	转录因子 Jun	136.0513	0.005495	104
SRC	原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src	387.0959	0.005917	120
TNF	肿瘤坏死因子	928.2578	0.006579	154
ESR1	雌激素受体	244.2205	0.005464	96

续表 2

核心靶点	中文名称	节点介度	节点紧密度	节点连接度
AKT1	RAC- α 丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶	848.421	0.006289	140
ACE	血管紧张素转换酶	156.7955	0.005236	76
MPO	髓过氧化物酶	114.3533	0.005102	76
IL1B	白细胞介素 -1 β	746.1475	0.006329	140
KNG1	激肽原 1	438.13	0.004975	60
PPARG	过氧化物酶体增殖物激活受体 γ	113.9801	0.005348	88
TLR4	Toll 样受体 4	245.1019	0.005618	110
MMP9	基质金属蛋白酶 -9	166.5043	0.005525	102
IL2	白细胞介素 -2	164.4928	0.005405	98
PTPRC	受体型酪氨酸蛋白磷酸酶 C	164.0912	0.005348	96
JAK2	酪氨酸蛋白激酶 JAK2	306.1823	0.005319	92

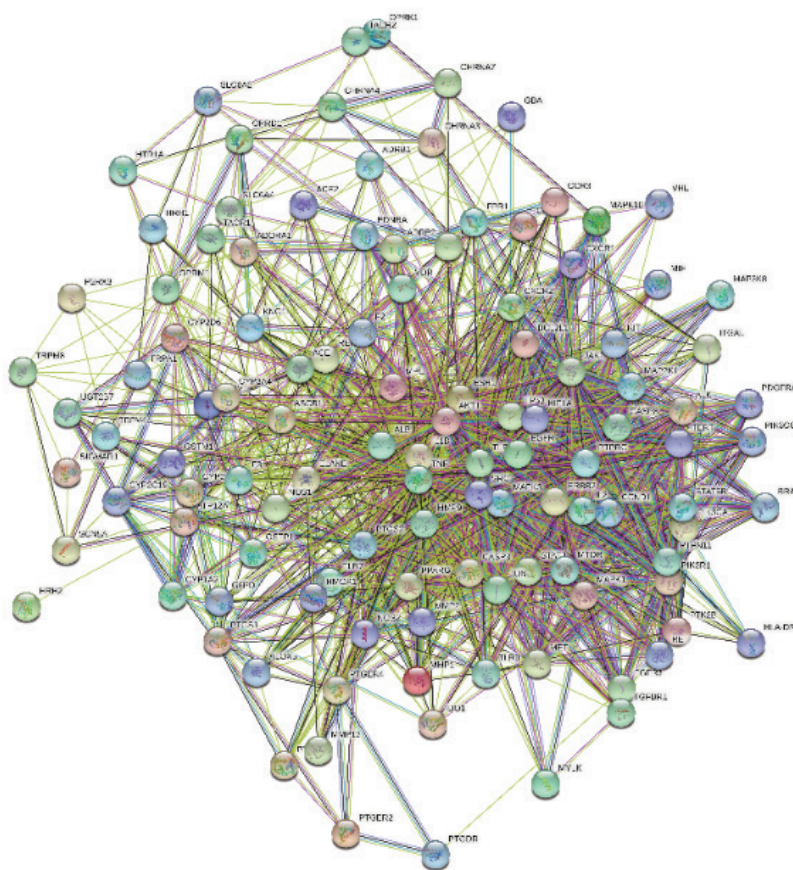


图 2 鹿蹄藁吾治疗咳嗽 PPI 互动图

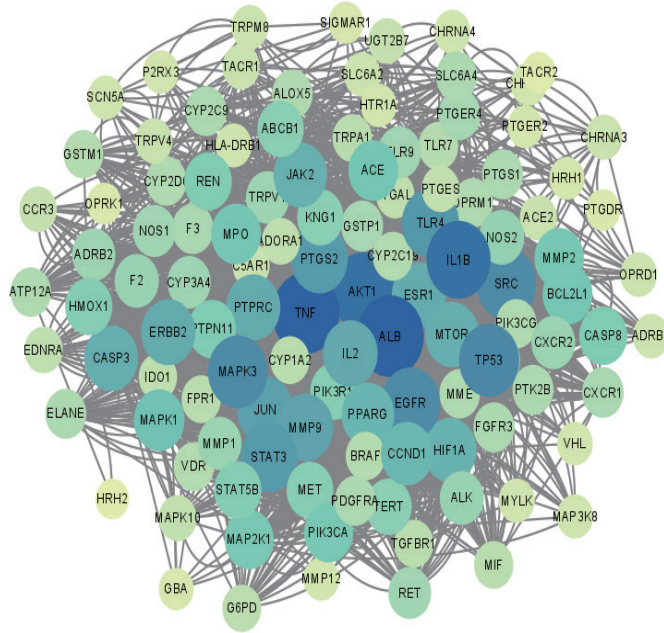


图 3 PPI 互作网络分析图

表 3 鹿蹄藁吾关键成分信息表

编号	化合物名称	化合物类型	对应的核心靶点
A4	(6β-(2'-methylbutanoyloxy)-3β-acetoxy-10β-hydroxy-8α-methoxyeremophil-7(11)-en-8β,12-olide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	JAK2、MTOR、PTGS2、SRC、STAT3
A5	(6β-(2'-methylbutanoyloxy)-3β-acetoxy-10β-hydroxy-eremophil-7(11)-en-8β,12-olide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	PTGS2
A6	(6β-(2'-methylbutanoyloxy)-3β-acetoxy-8β,10β-dihydroxyeremophil-7(11)-en-8α,12-olide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ESR1
A7	3β-acetoxy-8-oxoeremophil-6(7),9(10)-dien-12-oic methyl ester	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	AKT1、JAK2、PTGS2、TNF、SRC
A9	5β-acetoxy-3α,4,5,6,7,7α-hexahydro-7αβ,4β-dimethyl-1H-inden-2-yl-ethanone	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ABCB1、EGFR、JAK2、MPO、PTGS2
A35	3-palmitoyl-sn-glycerol	L-α-棕榈酸甘油酯	ABCB1、IL2
B1	biliguhodgsonolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	JUN、PTGS2
B2	10α-hydroxyeremophil-7(11)-en-6α,15β;8,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	JAK2、PTGS2、STAT3
B3	1β-acetoxy-eremophil-7(11)-en-6α,15β;8α,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ABCB1、IL1B、JAK2、PTGS2、PTPRC
B4	1β-acetoxy-8β-hydroxy-eremophil-7(11)-en-6α,15β;8α,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	PTGS2
B5	8β-hydroxy-9α-angeloyloxyeremophil-7(11)-en-6α,15β;8α,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	JAK2、JUN、PTGS2、STAT3

续表 3

编号	化合物名称	化合物类型	对应的核心靶点
B6	6 α -angeloyloxy-8 α -hydroxyeremophil-7(11)-en-12,8 β -olide-4 β -carboxylic methyl ester	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ABCB1、EGFR、JAK2、PTGS2、SRC、STAT3
B10	eremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ACE、JAK2、JUN、PPARG、PTGS2、PTPRC
B11	8 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	PTGS2
B12	6 α ,15 β -epoxy-8 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-8 α ,12-olide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	PPARG、PTGS2
B15	eremopil-7(11),8(9)-dien-6 α ,15 β ;8 α ,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ACE、JAK2、JUN、MPO、STAT3
B16	10 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-6 α ,15 β ;8,12-diolide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	AKT1、JAK2、PTGS2、STAT3
B17	6 β -angeloyloxy-8 β -hydroxyeremophil-7(11)-en-12,8 β -olide-15 α -oic acid	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ACE、PTGS2、TP53
B22	4 α -hydroxy-2-methyl-5 α -(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-one	单萜化合物	MAPK3、PTGS2、TNF
B23	4 β -hydroxy-2-methyl-5 α -(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-one	单萜化合物	JAK2、MAPK3、PTGS2、TNF
B24	(4 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)- <i>trans</i> -6-hydroxy-piperitone	单萜化合物	ESR1、MAPK3、PTGS2、TNF
B25	(4 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)- <i>cis</i> -6-hydroxy-piperitone	单萜化合物	ESR1、MAPK3、PPARG、PTGS2、TNF
B26	(1 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-1,4-dihydroxymenthenes	单萜化合物	ESR1
B27	(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-1,4-dihydroxymenthenes	单萜化合物	ESR1
B33	ethyl caffeate	咖啡酸乙酯	MMP9
B34	2,4,6-heptatrienoic acid,5-hydroxy-7-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3-methoxy- δ -lactone	吡喃酮类成分	EGFR、MMP9、PTGS2、STAT3
B35	9-angloyloxy-pinoreosinol	双萜四氢呋喃型木脂素	JAK2、SRC
B39	ergost-6,22-diene-3 β ,5 α ,8 α -triol	甾醇类化合物	EGFR、MTOR
C1	quercetin	黄酮类	ABCB1、AKT1、EGFR、MMP9、MPO、SRC
C3	2,4-dihydroxycinnamic acid	含苯丙烯酸成分	MMP9
F1	liguhodgins A	单萜化合物	JAK2、TLR4
H2	ligularine	生物碱类	ESR1、JAK2、KNG1、PTGS2、SRC
I2	furanoeremophilane 2	呋喃佛术烷型成分	ALB
J3	3 β -acetoxo-6 β -[(2-methylbutanoyl)oxy]furanoeremophilan-10 β -ol	呋喃佛术烷型成分	EGFR、MMP9、PTGS2

续表 3

编号	化合物名称	化合物类型	对应的核心靶点
L1	(1 <i>S</i> ,4 <i>α</i> <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>α</i> <i>R</i>)-6-acetoxy-3-acetyl-8 <i>α</i> -hydroxy-4 <i>α</i> ,5-dimethyl-2-oxodecahydronaphthalen-1-yl (<i>Z</i>)-2-methylbut-2-enoate	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	ABCB1、JAK2、MTOR、SRC
O2	6 <i>β</i> ,10 <i>β</i> -dihydroxyeremophil-7(11)-en-8 <i>α</i> ,12-olide	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	JAK2、PPARG、PTGS2
O3	3 <i>β</i> -acetoxy-6,9-dien-8-oxoeremophil-12-nor-11-ketone	艾里莫芬烷型倍半萜型成分	EGFR、PTGS2、PTPRC
Q4	ligularizine	生物碱类	EGFR、JAK2、STAT3
R29	selina-6-en-4-ol	挥发油类成分	ESR1
R36	6-isopropenyl-4,8 <i>α</i> -dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8 <i>α</i> -octahydro-naphthalen-2-ol	挥发油类成分	ESR1
R42	diisobutyl phthalate	挥发油类成分	PTGS2
T3.1	senkirkine	生物碱类	AKT1、JAK2、STAT3、TNF
T3.2	neosenkirkine	生物碱类	AKT1、EGFR、JAK2、STAT3
T4.1	yamataimine	生物碱类	EGFR、JAK2、MMP9、STAT3
T4.2	duciformine	生物碱类	EGFR、JAK2、MMP9、STAT3
T5.2	platyphylline	生物碱类	AKT1、JAK2

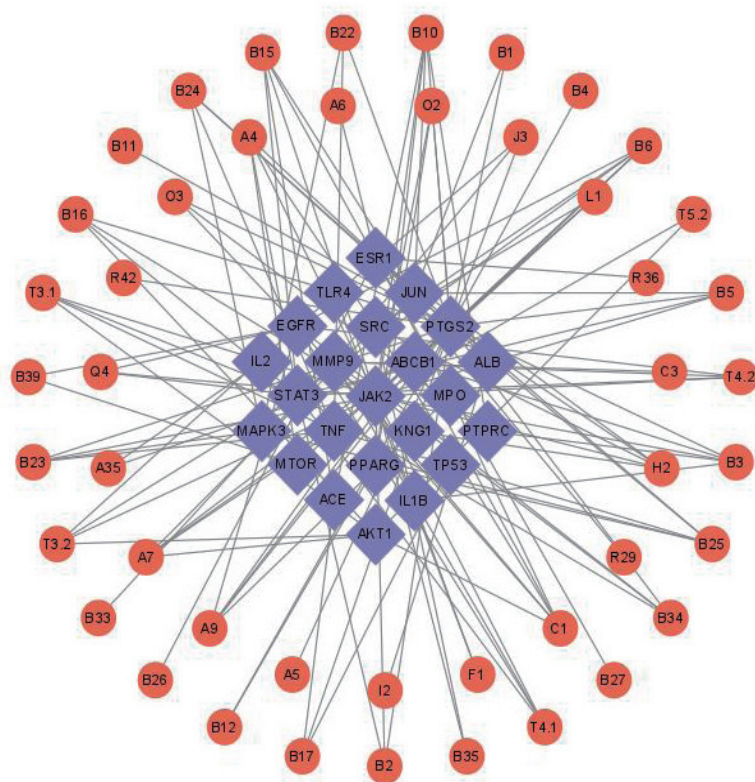


图 4 鹿蹄橐吾关键成分 - 核心靶点关联图

2.4 GO与KEGG富集分析结果

将获得鹿蹄橐吾的核心靶点进行GO富集分析(见图5),其中BP(Biological Processes,生物过程)主要涉及正调节蛋白磷酸化、炎症反应的调节、细胞迁移的正向调节、细胞死亡的正向调节、

对胞外刺激反应、白细胞分化及细胞对有机氮化合物的反应等。CC(Cellular Component,细胞成分)中主要有细胞膜、突触等参与。MF(Molecular Function,分子作用)中主要包括了蛋白激酶结合、蛋白质结构域特异性结合等内容。

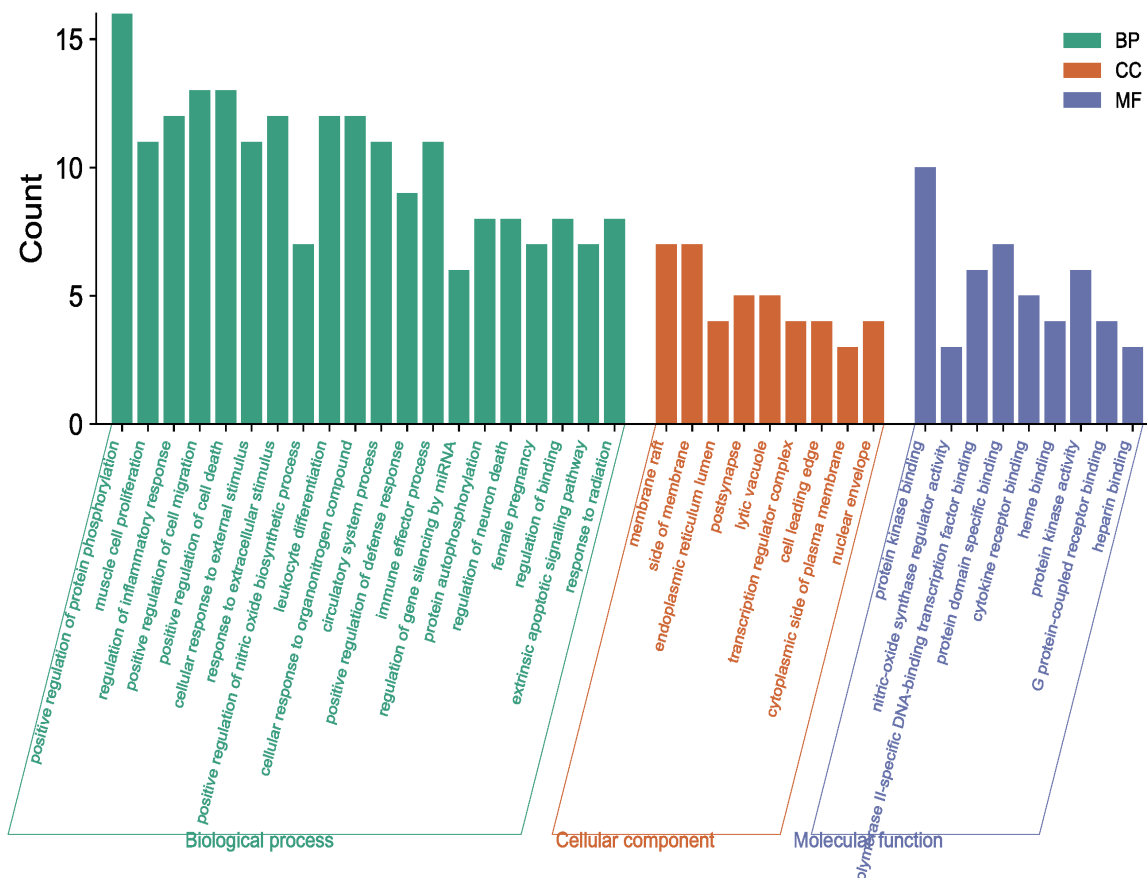


图5 鹿蹄橐吾相关靶点的GO富集分析

对鹿蹄橐吾靶点进行KEGG富集分析,得到11条相关的信号通路(见图6)。其中主要涉及的通路有癌症信号通路、乙型肝炎、恰加斯病(美国锥虫病)、麻疹、Th17细胞分化、寿命调节途径和瞬时受体电位(Transient Receptor Potential, TRP)通道的炎症介质调节等。将核心靶点、鹿蹄橐吾成

分和KEGG所富集的通路进行联系,生成“成分-靶点-通路”网络图(见图7)。根据图中的结果可以发现,不同关键成分分别对应一种或多种治疗靶点及信号通路,说明鹿蹄橐吾治疗咳嗽涉及的成分多、靶点多,通路复杂,具有多组分-多靶点-多通路的作用特点。

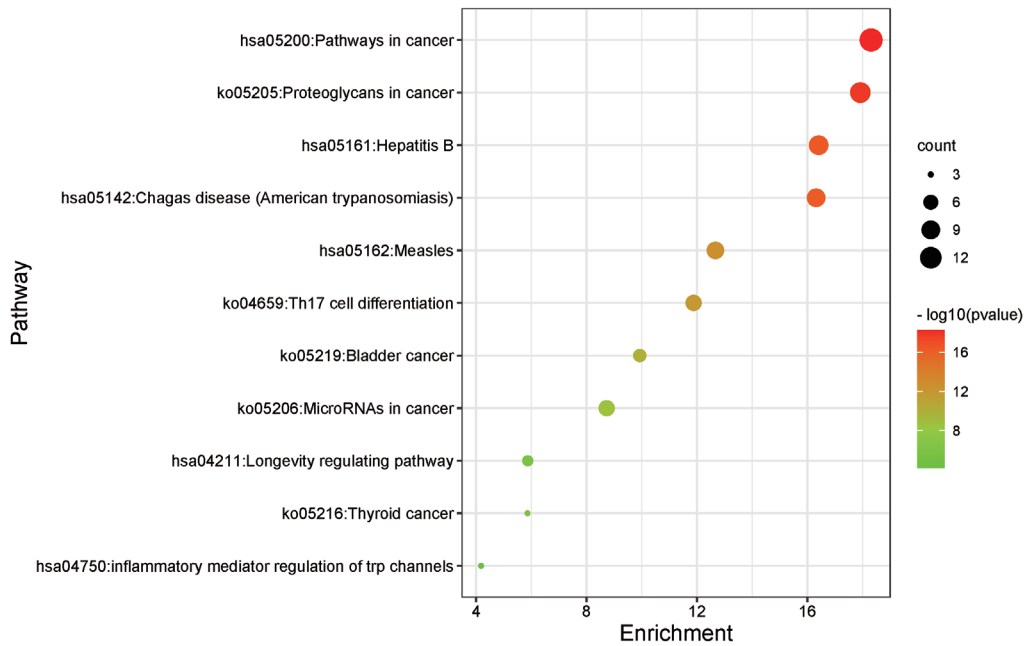


图 6 鹿蹄橐吾相关靶点的 KEGG 富集分析

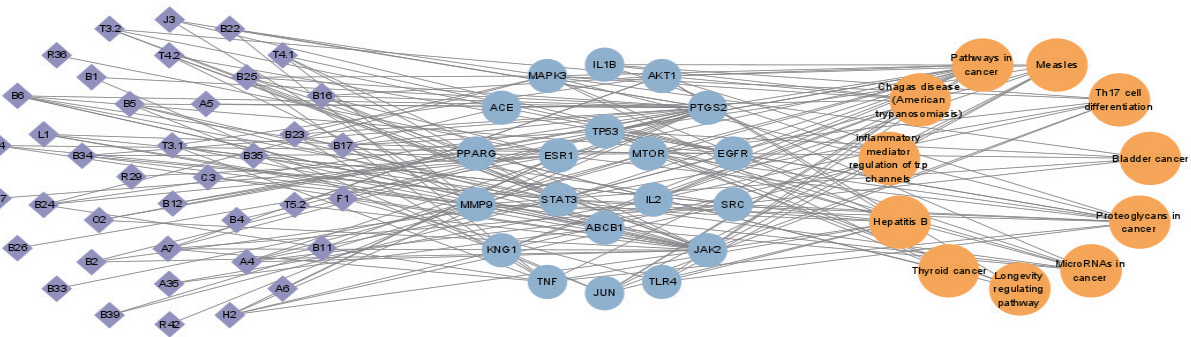


图 7 鹿蹄橐吾成分 - 靶点 - 通路网络图

3 讨论

3.1 潜在活性成分分析

本研究通过网络药理学分析了鹿蹄橐吾中镇咳的潜在活性成分。经过数据分析，发现了46个关键成分，包括艾里莫芬烷型倍半萜及衍生物、单萜类、黄酮类、生物碱类及其他类型成分。其中，20个关键成分为艾里莫芬烷型倍半萜及衍生物。这些成分在筛选后仍能获得结构多样的化合物，推测其改善咳嗽是多成分组合作用的结果。

另有研究表明，许多橐吾属植物具有止咳化痰作用，且含有艾里莫芬烷型倍半萜类成分与黄酮类成分，这些成分均具有较强的抗炎活性，很可能

是其中发挥镇咳作用或协同治疗呼吸道感染的潜在活性物质^[23-24]。本文中黄酮类成分槲皮素，也是鹿蹄橐吾的关键成分之一（表3），据报道^[25]具有祛痰镇咳平喘作用，能够抑制TNF、IL-8等炎症介质的表达以改善呼吸道氧化损伤^[26]，而且可能通过与ACE2等结合抑制新型冠状病毒肺炎^[27]。因此，有理由推测，这两类成分可能为鹿蹄橐吾发挥镇咳作用及治疗咳嗽等呼吸系统疾病的药效物质基础。需要指出的是，有关艾里莫芬烷型倍半萜祛痰镇咳平喘作用尚未见报道，故仍有待进一步研究。

虽然已知许多中药生物碱成分兼具抗炎与镇咳作用^[28]，但是鹿蹄橐吾中大部分生物碱成分具有

较强的肝毒性^[3-4]，其作为治疗成分可能会产生副作用以及治疗窗口窄等问题，因此，鹿蹄橐吾生物碱成分治疗咳嗽的有效性和安全性还有待探究。

3.2 核心靶点分析

根据表2结果可知，鹿蹄橐吾的核心靶点共23个，其中多为参与诱发炎症反应的关键靶点，例如TNF、TLR4、AKT1、MAPK3、IL1B、IL2、MPO、MMP9、PTGS2、JUN、STAT3以及ACE等。TNF所引导和诱发的信号通路包括炎症、免疫、细胞凋亡等，可通过调控TNF- α /NF- κ B信号通路，减轻肺部炎症反应，改善肺组织炎性损伤^[29]。同样，TLR4/NF- κ B也是一条经典的炎症信号通路，在许多呼吸道感染模型中有较高表达^[30-31]。AKT1属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族，是PI3K-Akt信号级联反应的重要组成部分。该信号通路对于改善呼吸系统疾病有较大作用^[32]，通过调节PI3K/Akt通路能减少肺泡中水肿组织液的渗出、抑制肺泡上皮细胞凋亡以及减少炎症反应来减轻肺组织损伤^[33]。MAPK3、IL1B、IL2、MPO、MMP9和PTGS2等均为一些常见的炎症细胞因子或前炎症细胞因子，参与了咳嗽和生痰等很多炎症性疾病的发病过程^[34]；而2个转录因子JUN和STAT3分别参与的c-Jun氨基末端蛋白激酶（JNK）信号通路和JAK-STAT信号通路，同样在肺部炎症反应中发挥重要作用^[35-36]。血管紧张素转换酶2（ACE2）作为SARS-CoV-2入侵宿主细胞的重要受体，在新型冠状病毒感染所引发的肺炎中也扮演着非常重要的角色^[27]。这些核心靶点提示鹿蹄橐吾的镇咳作用可能与抗炎机制有关。

3.3 基因功能及通路分析

GO功能和KEGG代谢通路富集分析显示，鹿蹄橐吾治疗靶点多涉及炎症及免疫相关通路，其中，Th17细胞是一种重要的辅助T细胞，可通过释放炎症因子参与多种炎症反应及免疫反应^[37]。乙型肝炎、恰加斯病及麻疹也可能与治疗过程中抗炎分子机制有关^[38-39]。寿命调节途径涉及广泛的信号通路，其中就包括了常见的PI3K-Akt信号通路和AMPK信号通路，这些通路炎症反应进程密切相关^[32-33,40]。TRP通道是一类重要的非选择性阳离子通道，同样参与了包括肺炎等多种病理过程中炎症反应的发生与进展^[41]。此外，筛选出的癌症信号通路也涉及了炎症的调节，例如JNK/c-Jun信号通

路、HIF-1信号通路和MAPK信号通路等^[34,42-43]。这些信号通路都可能在鹿蹄橐吾抗炎或镇咳作用中起着关键的调控作用。

总之，鹿蹄橐吾成分可能通过调节炎症通路和提高免疫等改善咳嗽的效果，体现了鹿蹄橐吾镇咳的多组分、多靶点、多通路的作用特点，这些结果为进一步探究鹿蹄橐吾镇咳活性成分及其分子机制提供了依据。然而，由于客观条件限制，本研究目前只在计算机模拟下进行了虚拟筛选和作用机制的初步探讨，对鹿蹄橐吾镇咳关键活性分子、核心作用靶点及其作用机制研究尚未深入，后续还需要利用分子对接技术并结合体内外实验验证获得更加确凿有效的结果。

参考文献：

- [1] 赵显国, 李志猛, 张勉, 等. 中药山紫菀类研究 I. 山紫菀类药材药源调查及原植物鉴定[J]. 中草药, 1998 (2): 115-119.
- [2] 赵显国, 王峥涛, 马继元, 等. 中药山紫菀类研究 III. 川紫菀与紫菀祛痰镇咳药理作用比较[J]. 中草药, 1999 (1): 35-37.
- [3] Song XP, Tang J. Extraction Optimization, Preliminary Characterization and Bioactivities in Vitro of *Ligularia hodgsonii* Polysaccharides[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17 (5): 788.
- [4] Tang J, Cheng M, Hattori M. Pyrrolizidine Alkaloid Profile in a Traditional Chinese Herbal Medicine Chuan Zi Wan (*Ligulariae Radix et Rhizoma*) by Liquid Chromatography/electrospray Ionization Ion Trap Mass Spectrometry[J]. Analytical Methods, 2012, 4 (9): 2797-2808.
- [5] Chen JJ, Li WX, Gao K, et al. Absolute Structures of Monoterpenoids with a δ -lactone-containing Skeleton from *Ligularia hodgsonii*[J]. Journal of Natural Products, 2012, 75 (6): 1184-1188.
- [6] Huang HL, Xu YJ, Liu HL, et al. Eremophilane-type Sesquiterpene Lactones from *Ligularia hodgsonii* Hook[J]. Phytochemistry, 2011, 72 (6): 514-517.
- [7] 邝静, 郭超, 李军, 等. 鹿蹄橐吾不同器官挥发性成分的SPME-GC-MS分析[J]. 轻工科技, 2021, 37 (4): 38-40.
- [8] 王文蜀, 卢鹏, 赵坤, 等. 鹿蹄橐吾化学成分研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11 (7): 176-177.

- [9] 李文娟. 鹿蹄橐吾化学成分的研究[D]. 兰州大学, 2008.
- [10] 徐扬军. 苕荚菜和鹿蹄橐吾化学成分及生物活性研究[D]. 兰州大学, 2008.
- [11] Li WX, Lei M, Fei DQ, et al. Eremophilane-Type Sesquiterpene Derivatives from *Ligularia hodgsonii*[J]. *Planta Medica*, 2009, 75 (6) : 635–640.
- [12] Lin G, Rose P, Chatson B, et al. Characterization of Two Structural forms of Otonecine-type Pyrrolizidine Alkaloids from *Ligularia hodgsonii* by NMR Spectroscopy[J]. *Journal of Natural Products*, 2000, 63 (6) : 857.
- [13] Kuroda C, Inagaki K, Chao X, et al. Chemical and Genetic Diversity of *Ligularia hodgsonii* in China[J]. *Natural Product Communications*, 2015, 10 (6) : 823–6.
- [14] Torihata A, Chao X, Kuroda C, et al. Chemical and Genetic Differentiation of *Ligularia hodgsonii* in Japan and China[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2010, 6 (12) : 2184–2191.
- [15] Ishizaki Y, Tanahashi Y, Takahashi T, et al. Furanoeremophilan-14 β , 6 α -olide, a New Furanosquiterpene Lactone from *Ligularia Hodgsonii* Hook. f. The Structure and Nuclear Overhauser Effects[J]. *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications*, 1969, 10: 551–552.
- [16] Ishizaki Y, Tanahashi Y, Moriyama Y, et al. Sesquiterpenes from the Roots of *Ligularia hodgsonii*[J]. *Phytochemistry*, 1974, 3 (13) : 674–675.
- [17] Xu YJ, Nan ZD, Li WH, et al. New Eremophilanolides from *Ligularia hodgsonii*[J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2009, 92 (1) : 209–216.
- [18] Xu JQ, Li YS, Li YM, et al. New Eremophilane-Type Sesquiterpenes from *Ligularia hodgsonii*[J]. *Planta Medica*, 2006, 72 (6) : 567–569.
- [19] Ishizaki Y, Tanahashi Y, Tsuyuki T, et al. Furanoeremophilan-14 β , 6 α -olide. A New Furanosquiterpene Lactone of an Eremophilane-type from *Ligularia Hodgsonii* Hook. f.[J]. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1979, 52 (4) : 1182–1186.
- [20] Lin G, Zhou KY, Zhao XG, et al. Determination of Hepatotoxic Pyrrolizidine Alkaloids by On-line High-performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry with an Electrospray Interface[J]. *Rapid Communication Mass Spectrometry*, 1998, 12 (20) : 1445–1456.
- [21] Zhou ZH, Tang J, Song XP. Chemical Composition of the Essential Oil of *Ligularia hodgsonii* and Free Radical Scavenging Activity of the Oil and Crude Extracts[J]. *Natural Product Communications*, 2014, 9 (10) : 1511.
- [22] 李志猛, 赵显国, 王峥涛, 等. 中药山紫菀类研究 IV. 一七种山紫菀挥发油含量测定及其成分分析[J]. *中国野生植物资源*, 1997 (1) : 14–16.
- [23] 陈万红. 箭叶橐吾中艾里莫芬烷型倍半萜的定向发现及其抗炎活性研究[D]. 兰州理工大学, 2023.
- [24] Liu SJ, Tang ZS, Liao ZX, et al. The Chemistry and Pharmacology of *Ligularia przewalskii*: A Review[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 219: 32–49.
- [25] 盛梦柯, 刘星, 廖玉瑶, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨三拗汤治疗慢性咳嗽的活性成分和作用机制(英文)[J]. *中国数字医学*, 2021, 4 (3) : 191–201.
- [26] Jin X, Su R, Li R, et al. Amelioration of Particulate Matter-induced Oxidative Damage by Vitamin C and Quercetin in Human Bronchial Epithelial cells[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 459–466.
- [27] 古丽再帕尔·托合尼亚孜, 陈伟, 王楠, 等. 基于网络药理学探讨巴蜀颗粒防治新型冠状病毒肺炎的潜在物质基础初探[J]. *新疆医科大学学报*, 2023, 46 (9) : 1221–1229.
- [28] 金鑫, 李春楠, 张辉. 贝母属药材中生物碱类化学成分及其药理活性研究进展[J]. *中药材*, 2022, 45 (9) : 2273–2279.
- [29] 胡莉, 白辰, 龙超君, 等. 基于TNF- α /NF- κ B信号通路探讨银菜汤治疗肺炎的作用机制[J]. *环球中医药*, 2022, 15 (3) : 363–369.
- [30] 李星, 刘琪, 张潇予, 等. 复方百部止咳糖浆对百日咳小鼠免疫功能、TLR4/NF- κ B信号通路的影响[J]. *中成药*, 2023, 45 (10) : 3228–3233.
- [31] 吴文娟, 曾妮, 王硕莹, 等. 黄芩苷对支原体肺炎小鼠TLR4/NF- κ B信号通路的抗炎及肺功能保护作用[J]. *中华医院感染学杂志*, 2023, 33 (23) : 3521–3526.
- [32] Zhong R, Xia T, Wang Y, et al. Physalin B Ameliorates Inflammatory Responses in Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury Mice by Inhibiting NF- κ B and NLRP3 via the Activation of the PI3K/Akt Pathway[J]. *Journal of*

- Ethnopharmacology, 2022, 284: 114777.
- [33] Wang K, Zhang Y, Cao Y, et al. Glycyrrhetic Acid Alleviates Acute Lung Injury by PI3K/AKT Suppressing Macrophagic NLRP3 Inflammasome Activation[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 532 (4): 555-562.
- [34] 罗慧英, 吴步梅, 马天玥, 等. 基于网络药理学与分子对接探讨兰州软儿梨止咳化痰作用机制[J]. 食品工业科技, 2023, 44 (23): 1-10.
- [35] 王涛, 刘宏祥, 王颖, 等. 清热化痰解毒方对卒中相关性肺炎大鼠Akt/JNK3/Caspase-3和NF- κ B信号通路的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28 (10): 42-48.
- [36] 曹旭阳. 基于网络药理学探究百咳汤治疗过敏性咳嗽的机制研究及临床疗效观察[D]. 天津中医药大学, 2022.
- [37] 李成刚. 儿童湿热哮喘临床指标相关性及加味茵陈蒿汤对湿热哮喘模型鼠Th17细胞影响的研究[D]. 山东中医药大学, 2022.
- [38] 高冉冉, 李雯莉, 王莹, 等. 网络药理学联合分子对接探索五灵胶囊治疗慢性乙型肝炎的机制[J]. 现代药物与临床, 2023, 38 (9): 2155-2162.
- [39] 郭杏华, 苏慧琴, 蔡燕, 等. 糖皮质激素联合丙球蛋白治疗儿童麻疹合并细菌性肺炎疗效[J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31 (19): 3036-3040.
- [40] 田新磊, 朱珊, 赵文锦, 等. 基于AMPK/SIRT1通路介导的自噬途径研究清肺止咳方治疗急性支气管炎小鼠模型的作用机制[J]. 中药材, 2022, 45 (8): 1975-1980.
- [41] 索婷姣, 蒋丽娜, 赵自刚. TRPM2通道与炎症反应[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38 (12): 1523-1527.
- [42] 郑晓燕, 王宇琛, 张丽美, 等. 广藜香酮通过JNK/c-Jun信号通路调控肺癌A549细胞凋亡及自噬[J]. 临床肿瘤学杂志, 2023, 28 (5): 392-398.
- [43] 蒋雨晴, 苏程果, 周海燕, 等. 电针对佐剂性关节炎大鼠踝关节炎症的HIF-1 α /MDM2/p53信号通路的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化. <https://link.cnki.net/urlid/11.5699.r.20231101.0930.002>.

(收稿日期 2023年10月22日 编辑 郑丽娥)