

气滞胃痛颗粒中甘草抗炎镇痛作用的构效组学

孟营^{1,2,3}, 郑莹^{1,2,3}, 秦鑫鹏^{1,2,3}, 刘思聪^{1,2,3}, 李天娇^{1,2,3}, 包永睿^{1,2,3},
王帅^{1,2,3}, 王亮⁴, 姜红红^{1,2,3}, 孟宪生^{1,2,3*}

- (1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600;
2. 辽宁省中药多维分析专业技术创新中心, 辽宁 大连 116600;
3. 辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁 大连 116600;
4. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110)

[摘要] 目的:采用构效组学的研究方法,阐释甘草发挥抗炎镇痛作用的药效物质。方法:在课题组前期体外筛选的基础上,开展甘草黄酮体内药效研究,通过中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP)、药效预测靶点数据库(PharmMapper)、Swiss TargetPrediction、疾病相关基因与突变位点数据库(DiGeNET)及在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)等数据库获取甘草黄酮化合物结构及其发挥抗炎镇痛的直接作用靶点;运用检索互作基因(String)数据库及Cytoscape 3.7.2软件构建关键蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络关系;采用分子对接筛选技术对甘草黄酮中度值(degree)高的5个靶点与化学成分分别进行虚拟对接,筛选出关键核心作用靶点,以靶点为桥梁,将甘草中一类或多类化学成分结构与药效紧密关联,根据不同结构类型的甘草黄酮与靶点的亲和力及作用力进一步探讨甘草黄酮化学结构与核心作用靶点的关系。结果:甘草黄酮可降低甲醛致痛大鼠体内前列腺素E₂(PGE₂)含量,有良好的抗炎镇痛效果。获得甘草黄酮发挥抗炎镇痛作用的活性化合物60种,以综合评分为标准,筛选前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)和促分裂原活化蛋白激酶3(MAPK3)为甘草发挥抗炎镇痛作用的关键核心作用靶点,除黄酮类结构表现出更好的MAPK3选择性外,其余各类甘草黄酮结构均与PTGS2和MAPK3呈现较好结合且含糖苷片段的结构表现出更好的结合活性。甘草查耳酮类结构中引入链状烯烃更利于与靶点结合,甘草黄酮醇中异戊烯基片段可能引起结合活性的差异,黄酮类结构中A环融合吡喃环不利于与靶点的结合,异黄酮类化合物B环上取代基的电性、脂溶性和位阻等对结合活性有直接影响。结论:该研究基于甘草黄酮抗炎镇痛药效作用基础上,采用构效组学的研究方法,可以分析甘草黄酮抗炎镇痛的物质基础,同时构效组学为中药药效物质的阐释提供新思路新方法。

[关键词] 甘草; 黄酮; 构效组学; 分子对接; 抗炎镇痛

[中图分类号] R284.2; R285; R289; R287; R22; R2-031; R33; R24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2024)21-0161-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20231519 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20231116.1741.005>

[网络出版日期] 2023-11-17 13:41:49

Structure-activity Omics on Anti-inflammatory and Analgesic Effect of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma in Qizhiweitong Granules

MENG Ying^{1,2,3}, ZHENG Ying^{1,2,3}, QIN Xinpeng^{1,2,3}, LIU Sicong^{1,2,3}, LI Tianjiao^{1,2,3}, BAO Yongrui^{1,2,3},
WANG Shuai^{1,2,3}, WANG Liang⁴, JIANG Honghong^{1,2,3}, MENG Xiansheng^{1,2,3*}

(1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM),
Dalian 116600, China;

2. Liaoning Multi-dimensional Analysis of TCM Technical Innovation Center, Dalian 116600, China;

3. Liaoning Province Modern TCM Research and Engineering Laboratory, Dalian 116600, China;

[收稿日期] 2023-06-26

[基金项目] 中央引导地方科技发展专项(2021JH6/10500012);辽宁省科技创新领军人才项目(XLYC1902116)

[第一作者] 孟营,博士,讲师,从事药效物质组学和作用机制整合研究,E-mail:1169152018@qq.com

[通信作者] * 孟宪生,博士生导师,从事药效物质组学和作用机制整合研究,E-mail:mxsvvv@126.com

4. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co. Ltd. , Shenzhen 518110, China)

[Abstract] **Objective:** To reveal the pharmacodynamic substances for the anti-inflammatory and analgesic effects of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by structure-activity omics. **Method:** On the basis of the previous study about the screening of active components *in vitro*, this study explored the effects of flavonoids in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma *in vivo*. The flavonoids in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and their direct targets for the anti-inflammatory and analgesic effects were obtained from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), PharmMapper, Swiss TargetPrediction, DisGeNET, and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). STRING and Cytoscape 3.7.2 were employed to establish the protein-protein interaction (PPI) network of key targets. Molecular docking was performed to simulate the binding of five targets with high degrees to flavonoids in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, on the basis of which the key core targets were selected. The targets were used as a bridge to correlate the structures and effects of one or more classes of chemical components in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. According to the binding affinity between flavonoids with different structures in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and targets, the relationships between compound structures and core targets were discussed. **Result:** The flavonoids in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma reduced the content of prostaglandin E₂ (PGE₂) in the rat model of pain induced by formalin, demonstrating definite anti-inflammatory and analgesic effects. Sixty active compounds (flavonoids) with anti-inflammatory and analgesic effects of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma were obtained. With the total score as the standard, prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) and mitogen-activated protein kinase 3 (MAPK3) were selected as the key core targets of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma for the anti-inflammatory and analgesic effects. Except that flavones showed selectivity of binding to MAPK3, the other flavonoids of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma showed strong binding to PTGS2 and MAPK3, and the structures containing glycoside fragments showed stronger binding affinity to the targets. The introduction of chain olefins in the ring of chalcones facilitated the binding to the targets. The isopentenyl fragment in flavonols may cause the difference in binding affinity. The parallel combination of a ring into pyran ring in flavanes was not conducive to the binding to the target. The electric charge, liposolubility, and steric hindrance of the substituent group on the B ring of isoflavones directly affected the binding affinity. **Conclusion:** This study adopts structure-activity omics to analyze the material basis for the anti-inflammatory and analgesic effects of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. Structure-activity omics provides new ideas and methods for predicting the pharmacodynamic substances of traditional Chinese medicine.

[Keywords] Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; flavonoids; structure-activity omics; molecular docking; anti-inflammatory and analgesic effects

甘草为豆科属多年生草本植物,有国老、甜草、乌拉尔甘草之称^[1]。甘草性味甘平,具有益气补虚、镇咳祛痰、清热解毒、润燥止痛、调和诸药之功^[2-4],国内外学者对甘草成分进行了大量的研究,其主要药效成分为黄酮类、萜类、多糖类、氨基酸类、生物碱类、木质素类及香豆素类等^[5-6]。现代药理研究表明,甘草具有抗炎、抗过敏、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤等多种生物活性^[7-10]。

慢性炎症引发的各脏腑组织的相关病变,虽然各有不同,但均具有邪毒互结的特点,治疗宜以清热解毒为要^[11]。气滞胃痛颗粒具有疏肝理气,和胃

止痛的作用,其中甘草为此方中的使药,发挥缓急止痛,清热解毒、调和诸药之效^[12-13]。课题组前期围绕气滞胃痛颗粒抗炎镇痛有效组分开展体外药效学实验,建立了小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 体外细胞模型,以细胞增殖率为考察指标,证明甘草黄酮对小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 有较强的保护作用^[14]。本研究从甘草主要功效出发,以甘草黄酮化学结构为基础,采用构效组学的方法构建“有效组分化合物结构-核心靶点-抗炎镇痛作用”三位一体的深层关系,在分子水平上探讨不同类型甘草黄酮化合物结构与靶点作用的规律和特点,进一步验证

前期实验有效组分筛选的科学性和准确性,也为阐明甘草发挥抗炎镇痛的药效物质组成及核心靶点的筛选提供新方法。

1 材料

1.1 动物 SPF级昆明种小鼠,雌雄各半,体质量18~22 g,由辽宁长生生物技术有限公司提供,合格证号SCXK(辽)2013-0009。本研究经辽宁中医药大学伦理委员会批准(20150702),所有程序均严格按照动物使用和护理的伦理原则进行。

1.2 药材与试剂 甘草药材(辽宁华润本溪三药有限公司,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎,批号20140930)、聚酰胺树脂(上海沧州宝恩有限公司);芦丁(中国食品药品检定研究所,批号080-9002);阿司匹林(拜耳医药保健有限公司,国药准字HJ20160685,规格100 mg/片,批号81285595);甲醛(丹东市龙海试剂厂,批号20081108);甲醇(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司,批号20100808);氢氧化钾(KOH,分析纯,天津凯信化学工业有限公司,批号20100824);生理盐水(吉林省都邦药业股份有限公司,批号1004280104)。

1.3 仪器与设备 HSS型电子恒温水浴锅(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);LS6150型紫外-可见光分光光度计(日本TengaOT&D公司);P1000型微量移液器(法国吉尔森公司);HC-2517型高速离心机(科大创新股份有限公司);Milli-Q系列超纯水处理装置(美国Millipore公司);SUNRISE型酶标仪(瑞士Tecan公司)。

2 方法

2.1 药物制备 根据课题组对甘草黄酮提取纯化工艺的考察^[14],取甘草药材适量,粉碎(过60目筛),加12倍量90%乙醇,加热回流提取1次,时间1 h,回收乙醇至无醇味,提取物得率29.7%。将甘草黄酮提取物加水稀释成0.15 g·mL⁻¹(生药)的药液,采用聚酰胺树脂,6倍柱体积70%乙醇进行洗脱,收集洗脱液,水浴挥干,即得甘草黄酮提取物,以芦丁为对照品,于420 nm波长下测定吸光度A,计算出总黄酮质量分数为90.12%。

2.2 动物造模、分组与给药 根据文献^[15-18]报道方法,小鼠适应性饲养1周后随机分为4组,空白组、模型组、阿司匹林组(0.04 g·kg⁻¹)及甘草黄酮组(4.05 g·kg⁻¹),每组10只。各组按给药剂量连续灌胃3 d,2次/d,在第3天给药1 h后,先用自制足体积测量器测量每只小鼠右后肢体积(以右后足关节为

界),后向小鼠右后肢足跖部皮下注射2.5%甲醛溶液20 μL。24 h后测量每只小鼠右后肢体积,记录小鼠足肿胀度并计算右后足肿胀率及镇痛抑制率。

2.3 甲醛致小鼠疼痛对小鼠体内前列腺素E₂(PGE₂)含量的影响 根据文献报道方法^[15,19],将小鼠右踝关节处剪下炎足,称重,剥皮后浸于4℃预冷的生理盐水中1 h,取出炎足,浸出液离心,取上清液2 mL,加0.15 mol·L⁻¹ KOH-甲醇溶液2 mL,混匀,50℃水浴20 min稍冷后,于紫外分光光度计278 nm下测定PGE₂含量,比较各组间差异。

2.4 统计分析 统计分析采用SPSS 23.0软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。*t*检验用于检测组间差异的统计学意义,*P*<0.05表示组间差异有统计学意义。

3 构效组学分析

3.1 数据库及软件 中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP, <http://tcmsp.w.com/index.php>), PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), PharmMapper数据库(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>), Swiss TargetPrediction(<http://swisstargetprediction.ch/>), DisGeNET数据库(<http://www.disgenet.org/>), 在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <https://omim.org/>), STRING数据库(<https://string-db.org/>), UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>), RCSB PDB数据库(<https://www.rcsb.org/structure/1DOL>); Cytoscape 3.7.2; ChemDraw; SYBYL-X 2.1.1; PyMOL; Discovery Studio 4.5 visualizer。

3.2 活性成分及潜在靶点获取 根据文献报道结构确证的甘草黄酮类成分^[20-23],通过TCMSP、PubChem、PharmMapper和Swiss TargetPrediction等数据库获得甘草黄酮的活性成分结构及相关靶点。

3.3 活性成分核心靶点筛选 运用DisGeNET和OMIM数据库去重汇总获得抗炎镇痛的疾病靶点。将活性成分靶点与抗炎镇痛所有作用靶点取交集,筛选出直接作用靶点;为便于分析,将所有的靶点均转化为gene symbol格式。运用STRING数据库构建直接作用靶点的蛋白互作蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,将结果运用Cytoscape 3.7.2软件进行可视化分析,根据degree值依次进行筛选,最终构建蛋白互作PPI网络图。

3.4 结构靶标关系分析 运用ChemDraw软件对甘草黄酮的60个化学成分开展结构优化并按照母

核进行结构归类,采用SYBYL-X 2.1.1及PyMOL软件将蛋白互作PPI结果中degree排名前5的高活性靶点(蛋白PDB文件)与甘草中的黄酮成分(最低能量3D mol2文件)开展分子对接,以综合评分为标准进行预测打分^[24],综合评分值越大,配体与受体结合越稳定,越有可能存在相互作用。当综合评分>5分认为具有较好对接活性,当综合评分>7分,说明存在较强的结合^[24-26]。同时运用Discovery Studio 4.5 visualizer软件确定有效成分与靶点的成键类型及结合形式。根据预测打分结果,进一步筛选出甘草黄酮发挥抗炎作用的关键核心作用靶点。通过结构特点,建立甘草黄酮不同结构类型成分与直接作用靶点的关系。

3.5 甘草黄酮药效

3.5.1 甲醛小鼠致痛实验 实验结果表明,甘草黄酮组小鼠24 h后右后足的平均肿胀度明显低于模型组,且足肿胀度抑制率达到56%,接近阿司匹林组,说明甘草黄酮有抑制甲醛刺激引发足肿胀的作用。见表1。

表1 各组小鼠致痛足肿胀率及抑制率 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 1 Swelling rate and Swelling inhibition rate of painful foot in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	24 h后右后足 肿胀率/%	24 h后右后足平 均肿胀度	肿胀度抑 制率/%
模型组		62.93±7.02	0.075±0.008	
阿司匹林组	0.04	13.30±3.04 ¹⁾	0.032±0.004 ¹⁾	57.33
甘草黄酮组	4.05	26.57±2.91 ¹⁾	0.033±0.004 ¹⁾	56.00

注:与模型组比较¹⁾P<0.05

3.5.2 甲醛法致痛对小鼠体内PGE₂含量影响 与空白组比较,模型组PGE₂含量明显升高,说明本模型可诱发体内PGE₂含量的升高,甘草黄酮组小鼠的PGE₂含量与模型组有显著性差异,表明甘草黄酮可明显抑制PGE₂含量升高,对PGE₂所引发的炎性疼痛有显著的抑制作用,见表2。

表2 甲醛致小鼠疼痛对体内PGE₂含量的影响 (n=10)
Table 2 Effect of pain induced by formalin on PGE₂ content in mice (n=10)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PGE ₂ 含量($\bar{x}\pm s$) /μg·g ⁻¹	PGE ₂ 抑制 率/%
空白组		82.34±5.29 ¹⁾	-
模型组		101.12±4.35	-
阿司匹林组	0.04	70.82±6.29 ^{1,2)}	29.96
甘草黄酮组	4.05	87.74±3.81 ^{1,2)}	13.23

注:与模型组比较¹⁾P<0.05;与空白组比较²⁾P<0.05

3.6 构效组学分析

3.6.1 甘草黄酮化学活性成分 课题组前期针对气滞胃痛颗粒抗炎镇痛药作用,开展了基于体内外药效的有效组分筛选研究,筛选出甘草黄酮具有明显的抗炎镇痛作用^[13]。近年来也有研究表明甘草黄酮类化合物有明显的抗炎作用^[27-28]。主要表现在对炎症细胞因子和致炎因子作用方面,甘草黄酮可以抑制肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)mRNA和TNF-α蛋白表达水平,保护炎症组织^[29]。基于前期基础及文献报道,本研究通过TCMSP和PubChem共获得结构确证、靶点明确的甘草黄酮60个,成分信息见增强出版附加材料。

3.6.2 甘草黄酮抗炎镇痛核心靶点分析 将60个甘草黄酮成分对应的直接作用靶点导入STRING数据库构建蛋白互作PPI网络,结果依据Cytoscape 3.7.2软件内置Network Analyzer进行分析,共计66个节点,560条边。其中degree值较高的高活性靶点为前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2,50)和促分裂原活化蛋白激酶3(MAPK3,40)、原癌基因转录因子(JUN,38)、蛋白激酶B1(Akt1,36)和信号传导及转录激活因子3(STAT3,35),从结果中可以发现,甘草发挥抗炎镇痛作用的药效机制与这些蛋白密切相关。

3.6.3 甘草黄酮化合物结构分类 甘草中黄酮类结构包含多种类别,60个甘草黄酮类根据A环和B环中间三碳链是否成环、氧化程度、3位是否有取代基以及B环连接位置将其分为甘草查耳酮、甘草二氢黄酮、甘草二氢异黄酮、甘草黄酮醇、甘草黄酮、甘草黄烷及甘草异黄酮。

3.6.4 关键核心靶点筛选 以综合评分为筛选标准,通过SYBYL-X 2.1.1软件对5个靶点开展分子对接,PTGS2(5F19,2.04Å)、MAPK3(4QTB,1.40Å)、JUN(5FV8,1.99Å)、Akt1(1UNQ,0.98Å)、STAT3(5AX3,2.98Å)。其中靶点PTGS2的对接中得到>5分的高活性对接54个(5~6分13个,6~7分15个,7~8分12个,8~9分8个,9分以上6个)。靶点MAPK3的对接中60个甘草黄酮结构均>5分(其中5~6分6个,6~7分29个,7~8分14个,8~9分7个,9分以上4个)。靶点JUN的对接中得到>5分的高活性对接40个(其中5~6分26个,6~7分10个,7~8分2个,8~9分2个)。靶点Akt1的对接中得到>5分的高活性对接28个(其中5~6分14个,6~7分10个,7~8分4个)。靶点STAT3的对接中得到>5分的高活性对接20个,其中5~6分14个,6~7分5个,

9~10分1个。从对接的综合评分情况来看,甘草黄酮大部分成分与5个靶点都呈现一定结合,其中MAPK3和PTGS2无论从大于5分的高活性对接数量还是高分的分布都优于其他3个靶点,最终筛选MAPK3和PTGS2为甘草发挥抗炎镇痛作用的核心靶点。见增强出版附加材料。

3.6.5 甘草黄酮化合物结构与靶点结合关系 从综合评分来看,甘草黄酮各类结构整体与靶点PTGS2和MAPK3对接较好,这也从分子水平证实了甘草黄酮组分为甘草发挥抗炎镇痛作用的有效组分。总体来讲,几类结构中糖苷类结构带来较好的靶点结合活性。见增强出版附加材料。

查耳酮类结构是甘草中一类比较重要的结构,从综合评分来看,整体与靶点PTGS2和MAPK3结合活性较好(综合评分均>5),其中查尔酮糖苷类结构(异甘草素4'-O-芹糖基-(1→2)葡萄糖苷、芹糖异甘草苷、异甘草苷)在两个靶点中均表现出最佳结合活性。明显优于查耳酮类苷元结构(刺甘草查尔酮、新异甘草苷、甘草查尔酮D、紫柳花素、异甘草素、甘草查尔酮B、甘草查耳酮A和甘草查尔酮C),双糖苷类(异甘草素4'-O-芹糖基-(1→2)葡萄糖苷和芹糖异甘草苷)结构则表现出明显的结合活性。另外,除糖苷类结构与两个靶点的结合活性最佳外,查耳酮苷元也表现出一定的结合规律,在靶点PTGS2中,环上引入链状烯烃(甘草查耳酮C、甘草查耳酮D及甘草查耳酮A),也带来较好结合。

二氢黄酮类结构也表现出较高的PTGS2和MAPK3结合活性,与MAPK3结合更佳。其中(甘草素-7,4'-二葡萄糖苷、南酸枣苷和芹糖基甘草苷)等糖类苷类结构相比其二氢黄酮苷元(4',7-二氢黄酮、乔松素和甘草素)表现出更高的靶点结合活性,表明糖基的引入利于与靶点的结合。见增强出版附加材料。

二氢异黄酮类整体与靶点PTGS2和MAPK3结合也较好,与PTGS2结合更佳。无论是C环和B环稠合的异佛来心苷还是B环连有不同结构的粗毛甘草素B、甘草异黄烷酮和粗毛甘草素F均表现出较好结合活性,且连有异戊烯基的结构与靶点的结合活性更好。见增强出版附加材料。

甘草黄酮醇类整体与靶点PTGS2和MAPK3具有较好的结合,综合评分均>6分,这类结构A环部分主要为间苯二酚,在靶点PTGS2中,以山柰酚为中心,其A环和C环2个羟基甲基化后的熊竹素活性没有明显改变。当山柰酚A环和B环上分别引入

异戊烯基(甘草黄酮醇、异甘草黄酮醇)活性未见明显改变。当山柰酚A环和B环同时引入异戊烯基(粗毛甘草素A),活性略有提高。当山柰酚C环羟基甲基化,同时B环为邻苯二酚且引入一个异戊烯基(乌拉尔醇-3甲醚),活性略有提高。而在其基础上C环醇羟基形成糖苷得到的芦丁,则表现出显著的PTGS2结合活性。表明糖苷的形成利于与靶点的结合。与靶点PTGS2不同的是靶点MAPK3中,异戊烯基的引入及糖苷的形成并未带来结合活性的改变,但是当山柰酚A环和C环2个羟基同时甲基化后的熊竹素表现出最佳的结合活性。见增强出版附加材料。

黄酮类结构总体与PTGS2结合不佳,除佛来心苷以外,糖苷类结构导致了结合活性的降低。而在靶点MAPK3中则相反,化合物的总体结合强于靶点PTGS2,特别是糖苷类结构表现出明显优势,推测黄酮糖苷类结构的抗炎镇痛活性可能与靶点MAPK3关系更为密切。具体体现在PTGS2中,黄酮糖苷类结构(佛来心苷、夏佛塔苷、异夏佛托苷、vicenin-2)均为A环6位和8位同时形成糖苷的结构。佛来心苷活性最佳,夏佛塔苷、异夏佛托苷、维采宁-2活性明显下降,特别是异夏佛托苷、维采宁-2活性最低。从具体结构可以看出佛来心苷为6R、8R构型,夏佛塔苷为6R、8S构型,而异夏佛托苷和维采宁-2均为6S、8S构型。可见6、8位糖环碳原子构型可能是主要影响因素,s构型不利于与靶点PTGS2的结合。见增强出版附加材料。

黄烷类结构中A环多为酚羟基或酚醚类结构,或带有异戊烯基的酚或酚醚类结构,此类结构总体与靶点PTGS2和MAPK3结合较好。对接的6个黄烷类结构中,连有异戊烯基的结构(甘草异黄烷甲、粗毛甘草素C和甘草西定)表现出与靶点最好的对接活性,A环骈合入吡喃环(光甘草定)与靶点的结合活性下降。见增强出版附加材料。

异黄酮类化合物总体与靶点PTGS2和MAPK3结合较好,其中异黄酮糖苷类结构(印度黄檀苷、黄甘草苷)表现出最佳结合活性。说明A环上引入糖苷键对活性有显著影响。以黄豆苷元出发,B环上引入取代基的甘草利酮活性明显增加。当黄豆苷元A环引入羟基形成的间苯二酚结构(染料木素),活性略有下降,但是当染料木素B环上连入异戊烯基后(甘草异黄酮甲、甘草宁A、黄羽扇豆魏特酮、甘草宁B、甘草宁C、甘草宁G和甘草宁D)活性增加。当黄豆苷元和染料木素的B环骈合入1个吡喃环

(光甘草酮、甘草异黄酮乙和半甘草异黄酮B)则活性增加。当黄豆苷元B环羟基醚化(芒柄花素和毛蕊异黄酮)活性稍有增加,连接有异戊烯基(甘草利酮和甘草瑞酮)。说明异黄酮类化合物B环上取代基的改变对对接活性有影响。见增强出版附加材料。

从甘草查尔酮A和芒柄花素与靶点PTGS2和MAPK3的结合形式中可以发现甘草查尔酮A与PTGS2的多种氨基酸残基表现出相互作用,结构中A环和B环上的羟基与EDO611、HIS226、ASN375及GLY225以氢键形式相结合,B环烯炔侧链部分与LEU145和PHE142存在疏水作用,另外与氨基酸残基TYR373、PHE142、GLY225、PRO128等以范德华力相结合。甘草查尔酮A与MAPK3也存在多种结合形式,其中A环和B环上的羟基分别与GLU98和GLU343形成氢键,A环和B环的苯环与ARG96存在疏水作用,B环上的烯炔侧链与HIS197存在烷基疏水作用,此外与多种氨基酸还存在范德华力作用。见增强出版附加材料。

芒柄花素与PTGS₂活性中心周围的氨基酸残基发生相互作用,主要包括A环上的羟基与氨基酸残基ARG333和GLY235存在氢键作用,1位的氧原子与氨基酸残基TRP139以氢键形式相结合,B环的苯基部分与氨基酸残基LEU224中的氨基存在p- π 共轭作用,与LEU145存在烷基疏水作用,结构中其余部分与氨基酸残基HIS226、LEU145、ASN144等存在范德华力。芒柄花素与MAPK3活性中心周围的氨基酸残基发生相互作用,主要包括A环中7-位的羟基与氨基酸残基GLU194、HIS197存在氢键作用,C环的氧原子与氨基酸残基LYS220以氢键形式相结合,C环的羰基与TYR156和ARG96存在氢键作用等,结构中其余部分与多种氨基酸残基存在范德华力。见增强出版附加材料。

4 讨论

构效组学是在中药成分化学结构的基础上,运用计算机虚拟筛选技术,研究中药中不同种类化合物结构与药效之间关系的一门学科。其具有高通量、系统性及高效性的特点。目前,中药多成分与多靶点之间相互作用不明确是制约其现代化进程的因素,也增加了中药治病机制研究的复杂性。为了更好地揭示气滞胃痛颗粒中甘草发挥抗炎镇痛的活性成分及成分与靶点的相互作用关系,本研究采用构效组学的方法,构建“甘草有效组分化合物结构-核心靶点-抗炎镇痛作用”的深层关系,从有效组分甘草黄酮结构出发,运用网络药理学预测得出

PTGS2、MAPK3、Akt1、JUN、STAT3等核心靶点与甘草黄酮发挥抗炎镇痛作用最为密切,对核心靶点与活性成分结构的虚拟对接结果可知,5个靶点均与甘草黄酮有密切关系,从综合评分在5分以上的结构数量和评分高低可明显发现甘草黄酮与靶点PTGS2和MAPK3联系更为紧密。有研究表明靶点PTGS2和MAPK3广泛参与炎症、免疫反应及细胞增殖等^[22],在机体免疫过程中发挥保护作用,这也体现了甘草增强免疫、调和诸药的作用。在结构靶点关系的探讨中发现除黄酮类成分表现为对MAPK3更好的选择性外,其余结构类型成分总体表现为PTGS2和MAPK3的一致结合性,一些黄酮糖苷类结构还表现出对5个靶点的较好结合活性。证明甘草黄酮苷元类结构可能主要通过PTGS2、MAPK3发挥抗炎镇痛作用,黄酮类形成的糖苷结构主要结合靶点可能是MAPK3,而黄酮糖苷类结构则通过PTGS2、MAPK3、Akt1、JUN及STAT3协同发挥作用,这可能是甘草具有较好抗炎镇痛药效的分子机制。另外,在构效组学分析中还观察到部分连有异戊烯基黄酮类结构表现出更好的靶点结合活性,这可能与该类结构脂溶性增加、对靶点的亲和力增强有关。

为了保证计算机分子对接筛选的准确性,采用SYBYL-X 2.1.1及Discovery Studio 4.5 visualizer两种软件从综合评分及结合方式两种角度考察活性成分与靶点的结合程度,更利于揭示甘草黄酮中不同种类结构与靶点的关系。从构效组学的分析结果不难发现甘草黄酮中取代基的位置、构型及糖基的数量是影响成分与靶点结合能力的主要因素。

60个甘草黄酮类成分中以查耳酮和异黄酮数量最为丰富,其中甘草查耳酮A为甘草查耳酮类结构,芒柄花素为甘草异黄酮类结构,两者与靶点PTGS2和MAPK3综合评分均在5分以上,与靶点呈现高活性对接。有研究表明甘草查耳酮A可以下调脂多糖诱导的RAW264.7细胞诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和环氧化酶-2(COX-2)的表达,从而抑制一氧化氮(NO)和PGE₂的产生^[30-31]。甘草查尔酮A还可以强烈抑制TNF- α 所诱导的核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,抑制I κ B激酶(IKK)激活,从而阻止NF- κ B的转录从而发挥抗炎作用^[31-32]。而芒柄花素则可以减少炎性细胞浸润,对变应性接触性皮炎(ACD)模型小鼠的耳肿胀度有显著的抑制作用^[33]。由两者与靶点PTGS2的对接模式可以发现其主要通过氢键、范德华力及疏水作用与靶点紧密

结合,而PTGS2正是COX-2的编码基因,环氧化酶与致炎物质-前列腺素的产生密切相关,其可以催化花生四烯酸转变为前列腺素,从而介导急性炎症,参与转变和维持慢性炎症^[34]。一般认为在炎症的发病过程中,PGE₂起着更为重要的作用,其能使局部毛细血管扩张,导致血管通透性增加,引起组织充血及血浆渗出^[35]。目前已知的COX有3种不同的亚型,分别称为环氧化酶-1(COX-1)、COX-2和环氧化酶-3(COX-3)。COX-2在致炎因子的诱导下激活,其产物导致炎症介质释放,诱发疼痛和炎症,如果将这一异构体的活性加以抑制后,则可以使组织的炎症明显减轻。目前选择性的COX-2抑制剂备受关注,成为治疗炎症的新途径。

本研究在药效筛选的基础上,对甘草黄酮不同类型的化合物结构与关键核心靶点关系开展深入分析,结构中的糖苷键、各类黄酮苷元母核上的取代基是影响其与靶点结合活性的主要因素。甘草黄酮主要通过靶点PTGS2和MAPK3发挥抗炎镇痛作用。本研究为阐明中药复杂物质体系的药效物质组成及核心靶点的筛选提供新方法,也为后续分子机制的深入探讨奠定基础。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:88-89.
- [2] 罗芬芳,胡善辉,王冷眉,等. 甘草的药理作用及其在养殖业中的应用前景[J]. 四川畜牧兽医,2020,47(3):32-34.
- [3] 王敏. 甘草研究综述[J]. 齐鲁药事,2005,24(10):614.
- [4] 李泽宇,郝二伟,李卉,等. 甘草配伍应用的药理作用及机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(14):270-282.
- [5] 王巧娥,任虹,曹学丽. 甘草研究开发与利用现状[J]. 中国农学通报,2011,27(4):290-295.
- [6] LI F, LIU B, LI T, et al. Review of constituents and biological activities of triterpene saponins from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and its solubilization characteristics[J]. Molecules,2020,25(17):3904.
- [7] ZHU Z, TAO W, LI J, et al. Rapid determination of flavonoids in licorice and comparison of three licorice species[J]. J Sep Sci,2016,39(3):473-482.
- [8] 包芳,李羽涵,杨志刚. 甘草代谢组学的研究进展[J]. 中草药,2018,49(19):4662-4669.
- [9] 赵凡凡,李肖,高丽,等. 甘草水提物干预D-半乳糖致衰老大鼠的肝脏代谢组学研究[J]. 中草药,2017,48

(17):3545-3553.

- [10] 杨兴嫒,史锁芳,周奎龙,等. 甘草及其组分治疗支气管哮喘作用机理研究[J]. 长春中医药大学学报,2013,29(5):933-935.
- [11] 沈瑾秋. 运用清热解毒法治疗慢性炎症相关病变的研究[D]. 南京:南京中医药大学,2009.
- [12] 裴静波. 气滞胃痛颗粒治疗气滞型胃痛32例[J]. 江西中医药,2007,38(1):40.
- [13] 杨晓娟,胡黄婉茵,张海珠,等. 基于网络药理学的气滞胃痛颗粒抗炎镇痛活性作用分析[J]. 中草药,2019,50(13):3094-3106.
- [14] 孟宪生. 气滞胃痛颗粒现代研究与实践[M]. 大连:人民卫生出版社,2018:344-367.
- [15] 关业枝,袁征,张首亚,等. 复方风湿宁注射液镇痛作用的实验研究[J]. 黑龙江医药,2011,24(4):534-537.
- [16] 王晓玲,乐健,洪战英,等. 中药镇痛实验的研究进展[J]. 药学服务与研究,2011,11(3):213-217.
- [17] DE CAMPOS R O, PAULINO N, DA SILVA C H, et al. Anti-hyperalgesic effect of an ethanolic extract of propolis in mice and rats [J]. J Pharm Pharmacol, 1998,50(10):1187-1193.
- [18] ZHANG Y, WANG J Z, WU Y J, et al. Anti-inflammatory effect of recombinant human superoxide dismutase in rats and mice and its mechanism[J]. Acta Pharmacol Sin,2002,23(5):439-444.
- [19] HUNSKAAR S, HOLE K. The formalin test in mice: Dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain[J]. Pain,1987,30(1):103-114.
- [20] 王苗苗. 甘草的化学成分及生物活性研究[D]. 济南:山东大学,2020.
- [21] 崔园园,周永峰,马艳芹,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS法分析生、炙甘草中化学成分的差异性[J]. 中国药房,2020,31(9):1049-1053.
- [22] 胡耿,黄绮韵,张甜,等. 甘草黄酮类化学成分研究[J]. 中草药,2019,50(21):5187-5192.
- [23] 黄雨婷,迟宗良,王姝梅,等. 甘草中的黄酮类成分及其抗肿瘤活性研究进展[J]. 中国新药杂志,2017,26(13):1532-1537.
- [24] JAI N, AJAY N. Surflex: Fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine[J]. J Med Chem,2003,46(4):499.
- [25] 钟倩雯,朱安,王旗. 甘草黄酮及其代谢产物潜在靶点蛋白预测和部分验证[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2018,32(2):105-111.
- [26] LUO L, WANG H, HUANG G, et al. Pharmacological mechanisms of tinglizi against chronic heart failure determined by network pharmacology and molecular docking[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022,2022:2152399.

- [27] 陈敬予,陈禹含. 甘草的作用及禁忌症的研究进展[J]. 名医,2020(3):217.
- [28] XIE Y C, DONG X W, WU X M, et al. Inhibitory effects of flavonoids extracted from licorice on lipopolysaccharide-induced acute pulmonary inflammation in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2009,9(2):194-200.
- [29] GU J, LI L, WANG D, et al. Deciphering metabonomics biomarkers-targets interactions for psoriasis vulgaris by network pharmacology [J]. Ann Med,2018,50(4):323-332.
- [30] KOLBE L, IMMEYER J, BATZER J, et al. Anti-inflammatory efficacy of licochalcone A: Correlation of clinical potency and *in vitro* effects [J]. Arch Dermatol Res,2006,298(1):23-30.
- [31] 戴应和,龙小琴,张娟,等. 甘草黄酮的抗炎作用及其机制的研究进展[J]. 江西中医药,2017,48(2):68-71.
- [32] 于鲁志. 中药甘草抗炎作用药理和临床研究进展[J]. 光明中医,2017,32(19):2895-2898.
- [33] 王燕. 基于TLRs对E-Cadherin的调控探讨芒柄花素抗过敏性疾病作用机制研究[D]. 南京:南京中医药大学,2016.
- [34] AOKI T, NARUMIYA S. Prostaglandins and chronic inflammation[J]. Trends Pharmacol Sci,2012,33(6):304-311.
- [35] 寇毅英,李永芳,杨梅,等. 十五味乳鹏散对尿酸钠致大鼠急性痛风性关节炎COX-2,PGE₂水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(1):117-120.

[责任编辑 顾雪竹]

·书讯·

无线电遥控装置在C臂机中的应用 ——评《放射科管理规范与操作常规》

《放射科管理规范与操作常规》由张俊仁,郭力主编,北京中国协和医科大学出版社出版。《放射科管理规范与操作常规》作为一本权威性的专业指导书籍,从放射科管理者及诊断医师的专业视角出发,旨在为放射科工作人员提供一本规范性强、指导意义突出的专业参考书。该书旨在通过系统介绍放射科管理规范与操作常规,提升医技科室工作人员的专业素养和操作技能,进而保障医疗质量的持续提升。无论是实习医师、进修医师,还是经验丰富的临床医生,均可从中获得实质性的帮助和启示。同时,本书内容不仅适用于设备先进的医疗机构,也适用于设备条件相对有限的基层医疗单位,因此具有广泛的适用性和推广价值。

C型臂手术X光机(C臂机)作为一种集光学、机械与图像处理技术于一体的可移动式X光机,其构成主要包括高压发生器、X射线管、操作控制系统以及显示器等核心组件。C臂机所生成的图像为二维影像,具有直观且清晰的特性,能够清晰展现患者体内结构。因其高度的移动灵活性和操作便捷性,C臂机在手术室中为骨科、外科等手术患者提供了关键的X射线诊断检查支持,成为医疗领域不可或缺的重要设备。鉴于X射线对人体潜在的放射性危害,在实际设备应用中,操作人员因曝光距离过短而担忧辐射过量,频繁用力拉扯手闸线导致故障频发。此外,手闸线的连线问题使得手术间大门难以紧闭,长期为患者手术的医护人员面临接触漏射线的风险。为此,针对C臂机设计一款适配的无线电遥控装置,旨在克服有线曝光开关的弊端,降低医护人员不必要的辐射暴露,是设备科人员肩负的重要职责。无线电遥控技术基于无线电信号实现对被控目标的非接触远程控制,由发射器和接收器两大核心组件构成。发射器将操作指令编码并调制至射频信号上,通过无线传输至接收器。接收器接收信号后,进行解码处理,转化为相应的控制信号,进而驱动C臂机执行相应操作。这一技术原理确保了操作的便捷性和安全性,可将医护人员置于安全距离之外,有效避免直接辐射。在设计无线电遥控装置时,需充分考虑信号传输的稳定性、抗干扰能力及操作安全性等因素。通过选用高性能的射频元件和先进的编码解码技术,提升信号传输质量和抗干扰能力,确保遥控操作的稳定可靠。同时,设置必要的安全保护机制,如防止误操作、信号干扰等,以全面保障医护人员的人身安全。经过深入的临床使用跟踪和用户反馈收集,获取了关于接收器使用的关键信息。为确保接收器的稳定运行,用户反馈指出需每月对锂电池进行定期充电,并表达了解决充电问题的迫切需求。在设备原厂质保期结束后,对设备内部供电机制进行了详细研究。鉴于C臂机部分采用AC110V进电,并通过电池组为内部回路供电,提出了一个优化方案:直接从AC110V进电部分提取电源,为接收器供电,从而取消锂电池的使用。经过初步分析,此方案理论上不会对C臂机的正常使用造成影响。在实地勘察中,注意到接收器固定于脚踏上的安装方式。若直接通过AC110V电源线为接收器供电,将需要配置与脚踏连线相同长度的电源线,并进行捆绑。此举不仅影响设备的美观性,还可能对使用安全性造成潜在影响。因此,决定将改进方向转向手闸部分,以实现更为优雅和安全的电源供应。对手闸进行了拆解,并成功找出了闭合电路,解决了压敏电阻触发问题。此步骤的完成,为后续电源供应方案实施奠定了基础。在选择遥控装置开关模块时,充分考量了用户对于先前品牌的认可度和实际使用效果。鉴于C臂机进电电压为AC110V,选择了工作电压在AC85~220V范围内的点动型四路控制模块,以确保其满足使用需求。最终,按照既定方案进行了拆机、取电等操作,成功完成了进阶版远程无线电遥控装置的安装并投入使用。此次改进显著提高了接收器的实用性和便捷性,用户无需再进行定期充电,有效提升了用户体验。

综上,《放射科管理规范与操作常规》是一本具有重要指导意义的专业书籍,对于提升放射科工作人员的专业素养和操作技能、保障医疗质量的持续提升具有重要意义。

(作者葛俊芳,汤振华,横店文荣医院,浙江 东阳 322118)