

# 基于网络药理学和分子对接探讨复羽叶栾树种仁油治疗脂肪肝的作用机制

郑蕾<sup>1,2</sup>, 赵子玥<sup>1</sup>, 杨文涛<sup>1</sup>, 何昊<sup>1,2</sup>, 张存劳<sup>1</sup>, 徐玥<sup>1,2</sup>

(1. 西安医学院药学院, 西安 710021; 2. 陕西省食品药品安全监测重点实验室, 西安 710065)

**摘要:**为了探究复羽叶栾树种仁油活性成分可能作用于脂肪肝治疗的药效物质基础、潜在靶标及作用机制,基于网络药理学手段和分子对接,获得复羽叶栾树种仁油中6种核心有效成分花生一烯酸、棕榈酸、亚油酸、油酸、芥酸、花生酸,筛选出治疗脂肪肝相关靶点69个,预测可能作用于ALB、IGF1、PPAR $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SRC 5个核心靶点蛋白,通过活性成分与靶点相互作用发挥治疗脂肪肝的作用。复羽叶栾树种仁油治疗脂肪肝具有多成分、多靶点、多通路的作用特点。

**关键词:**复羽叶栾树种仁油;脂肪肝;网络药理学;分子对接

中图分类号:R285;TS201.4 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)07-0099-05

## Mechanism of action of *Koelreuteria bipinnata* seed oil in the treatment of fatty liver based on network pharmacology and molecular docking

ZHENG Lei<sup>1,2</sup>, ZHAO Ziyue<sup>1</sup>, YANG Wentao<sup>1</sup>, HE Hao<sup>1,2</sup>, ZHANG Cunlao<sup>1</sup>, XU Yue<sup>1,2</sup>

(1. College of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China; 2. Shaanxi Provincial Key Laboratory of Food and Drug Safety Monitoring, Xi'an 710065, China)

**Abstract:** In order to investigate the possible pharmacological basis, potential targets and mechanism of action of the active ingredients of *Koelreuteria bipinnata* seed oil in the treatment of fatty liver, based on network pharmacology and molecular docking, six core active ingredients in *Koelreuteria bipinnata* seed oil eicosenoic acid, palmitic acid, linoleic acid, oleic acid, erucic acid and arachidic acid were obtained, and 69 targets related to the treatment of fatty liver were screened, predicting the possible action on five core target proteins ALB, IGF1, PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and SRC, and the therapeutic effect of fatty liver was exerted through the interaction between active ingredients and targets. *Koelreuteria bipinnata* seed oil has multi-component, multi-target and multi-pathway action characteristics for the treatment of fatty liver.

**Key words:** *Koelreuteria bipinnata* seed oil; fatty liver; network pharmacology; molecular docking

脂肪肝是由多种原因引起的肝脏脂肪代谢功能障碍<sup>[1-2]</sup>。近年来由于人民生活水平的提高,生活节奏加快,不良生活习惯如嗜酒、缺少锻炼等,使脂肪肝的发病率呈现逐年上升趋势<sup>[3-4]</sup>,且趋于低龄化,脂肪肝已成为继病毒性肝炎后第二大肝病<sup>[5]</sup>。目前,针

对脂肪肝患者的临床治疗,西医以对症治疗为主,改善临床症状,逐渐祛除病因,此法见效快,但治疗时间长,容易产生多种不良反应<sup>[6]</sup>。中医从病根出发,安全性比较高<sup>[7]</sup>,因此从传统中药中寻找并开发相关的药物意义重大。复羽叶栾树(*Koelreuteria bipinnata* Franch.)为无患子科栾树属乔木,又称“灯笼花”“摇钱树”,分布于我国大部分省区,资源丰富<sup>[8]</sup>。栾树是一种具有多种经济价值和园林观赏价值的优良树种<sup>[9]</sup>,复羽叶栾树种仁的粗脂肪含量为11.4%,种仁油中含有15种脂肪酸,主要为花生一烯酸(45.4%)、油酸(23.7%)、亚油酸(9.2%)、棕榈酸(6.1%)、芥酸(5.6%)<sup>[10]</sup>。不饱和脂肪酸具有调控血脂的作

收稿日期:2023-04-07;修回日期:2023-05-04

基金项目:教育部“春晖计划”合作科研项目(14);陕西省教育厅青年创新团队科研计划项目(22JP076)

作者简介:郑蕾(1985),女,副教授,博士,研究方向为中药物质基础(E-mail)zhenglei@xiyi.edu.cn。

通信作者:徐玥,副教授(E-mail)xuy@xiyi.edu.cn。

用,我们在预实验过程中发现,复羽叶栲树种仁油可以降低肝细胞 LO-2 细胞模型三酰甘油含量,提示其种仁油可以应用于脂肪肝疾病的保健开发。

中药成分复杂,其治疗疾病通常具有多途径、多靶点的特征<sup>[11]</sup>,网络药理学通过计算机技术检索各大数据库信息,收集与有效化合物、疾病有关靶点,筛选并预测出最佳靶点及通路<sup>[12]</sup>,从系统的角度衡量药物的调控作用,其整体性以及注重药物-疾病-靶点相互作用关系的特点与未来中药的发展趋势相吻合。本研究运用网络药理学方法,结合分子对接,初步探讨复羽叶栲树种仁油治疗脂肪肝的作用机制,以期为进一步拓展复羽叶栲树种仁油用于脂肪肝治疗提供依据。

## 1 实验方法

### 1.1 复羽叶栲树种仁油活性成分筛选

通过中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP, <https://tcmsp.com/tcmsp.php>)设定生物利用度(OB,  $\geq 30\%$ )和药物相似性(DL,  $\geq 0.18$ )两个指标,筛选出符合条件的栲树种仁油的有效脂肪酸成分。

### 1.2 复羽叶栲树种仁油对脂肪肝疾病作用靶点的筛选

在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<https://omim.org/>)中输入关键词“fatty liver”进行检索,搜集脂肪肝的相关靶点,去重后即得脂肪肝疾病相关靶点基因。利用工具绘制韦恩图,获得复羽叶栲树种仁油活性成分与脂肪肝的交集靶点,得到的交集靶点即为复羽叶栲树种仁油活性成分治疗脂肪肝的潜在作用靶点。

### 1.3 活性成分与作用靶点网络的构建

在 Excel 表格中整理复羽叶栲树种仁油活性成分与预测靶点基因,建立对应关系,将数据导入 Cytoscape 3.7.0 软件,绘制活性成分和作用靶点之间的网络图,借助 CytoHubba 插件,获得活性成分 Degree 值排名。

### 1.4 蛋白质相互作用网络(Protein-Protein Interaction Networks, PPI)的构建和关键核心靶点的筛选

通过蛋白质分子之间的连线确定基因表达间的关联性,从而达到挖掘核心调控基因的目的。将所得交集靶点用 STRING 平台(<https://stringdb.org>)构建 PPI 网络模型,设定 Organism 选项为“Homo sapiens”,其他参数设为默认值,构建 PPI 网络模型。用 Cytoscape 3.7.0 软件绘制“成分-疾病-靶点”网络图,借助 CytoHubba 插件,采用 Degree 拓扑算法,分析关键核心靶点,构建复羽叶栲树种仁油活性成分治疗脂肪肝的靶点核心子网络图。

### 1.5 GO 富集分析

通过 DAVID 数据库(<https://david.ncicrf.gov/summary.jsp>)在线分析功能,对获得的交集靶点数据进行 GO 富集分析。按  $p$  值均小于 0.01 的标准进行筛选,按  $p$  值由小到大排序,分别选取 GO 富集分析前 15 位结果进行绘图。使用 R 语言调用 GO plot 2,通过 R Studio 对富集分析的结果进行可视化绘图。

### 1.6 分子对接

利用分子对接模拟软件 Discovery Studio 对活性成分与潜在基因靶点进行受体-配体对接模拟计算。对活性成分-疾病-靶点网络中 Degree 值前 4 位核心靶点进行分子对接,预测复羽叶栲树种仁油活性成分的关键靶点。在 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中得到相关成分的 2D 结构,在 PDB (<https://www.rcsb.org/>)数据库下载靶点的蛋白结构,之后将活性成分和靶点进行预处理,用 Discovery Studio 软件进行活性成分和潜在靶点的分子对接。

## 2 结果与讨论

### 2.1 复羽叶栲树种仁油活性成分的筛选

通过 TCMSP 数据库,共筛选得到复羽叶栲树种仁油 6 种核心活性成分,分别为花生一烯酸、棕榈酸、亚油酸、油酸、芥酸、花生酸。棕榈酸与血清中低密度脂蛋白胆固醇水平升高和脂肪酸诱导的胰岛素抵抗有关,还可通过促进肝细胞中的白细胞介素 8(IL-8)合成,导致肝炎。亚油酸是必需脂肪酸,有“血管清道夫”之称,具有降低血液胆固醇和血脂,预防动脉粥样硬化,促进血液循环,降低血压,调节内分泌和减缓衰老等作用。油酸能调节血脂水平,降低胆固醇,有效减少高胆固醇血症及心血管疾病的发生,增强人体对各种矿物质的吸收,改善消化系统,此外,油酸还能刺激胆汁的分泌,预防胆结石和胆囊炎。花生酸一般具有降低胆固醇、延缓脑功能减退、滋润皮肤、止血等作用<sup>[13]</sup>。复羽叶栲树种仁油中其他的脂肪酸,虽然也报道了一定的功效,但考虑化合物的药动学参数口服生物利用度,未通过数据库筛选获得,在此不进行分析。以上揭示了复羽叶栲树种仁油可能参与脂肪肝治疗的物质基础。

### 2.2 复羽叶栲树种仁油活性成分靶点与脂肪肝疾病靶点的筛选分析结果

通过 TCMSP 数据库,分别获得 6 种复羽叶栲树种仁油核心活性成分所对应人类的相关靶点蛋白。通过 UniPort 数据库将靶点蛋白校正为对应的人物种靶标基因,去除无效的基因结果,再筛选重复的

基因靶点后,得到 92 个复羽叶栲树种仁油活性成分的作用靶点;通过 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库,检索出 2 282 个脂肪肝相关靶点基因。对二者取交集后,获得复羽叶栲树种仁油活性成分靶点与脂肪肝交集靶点基因 69 个,如图 1 所示。

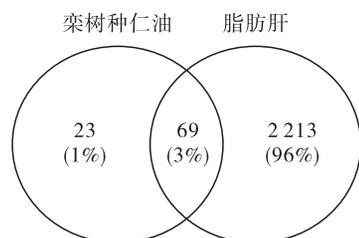


图 1 复羽叶栲树种仁油活性成分与脂肪肝的共同靶点

### 2.3 复羽叶栲树种仁油活性成分-作用靶点网络的构建

运用 Cytoscape 3.7.0 软件构建复羽叶栲树种仁油活性成分-作用靶点网络图,如图 2 所示。图 2 中菱形图形代表靶基因,小圆圈形节点代表复羽叶栲树种仁油有效活性成分,边线代表有效活性成分与靶标间的相互联系。图 2 中共有 75 个节点,自由度最大为 40,最小为 1,平均自由度为 2.162。大于平均自由度的主要活性成分有花生一烯酸(4)、棕榈酸(6)、亚油酸(7)、油酸(8)、花生酸(35)、芥酸(40)。图 2 中花生酸连接的边线最多,对应的靶点最多,相关联较多,因此在网络中处于重要地位,花生酸或许可以成为复羽叶栲树种仁油治疗脂肪肝的关键成分。复羽叶栲树种仁油的活性成分作用于多个靶点,且多个活性成分存在共同作用靶点,体现了其多成分、多靶点的作用特点。

近年来,多种基因和其编码蛋白被鉴定出可以调控脂肪肝的进程。例如:白蛋白(ALB)作为维持机体营养和渗透压、储备氨基酸的重要物质,是肝功能检查中的重要指标。胰岛素样生长因子 1(IGF1)是一种肝脏分泌的激素,是一类促进细胞生长、具有胰岛素样代谢效应的因子,在心血管疾病、内分泌代谢病及肿瘤等的病理生理过程中均发挥重要作用。过氧化物酶体增殖物激活受体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) 基因与糖尿病、动脉粥样硬化、肥胖症等疾病的形成相关,在维持机体能量代谢稳态方面发挥着重要作用。过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 编码基因,属于核受体过氧化物酶体增殖物激活受体亚家族,主要负责脂类的分解代谢等,在肝脏、骨骼肌、肾脏、胰腺等组织中有不同程度的表达,参与脂肪细胞的分化、炎症反应、凋亡、肥胖、动脉粥样硬化及癌症等。Src 蛋白是细胞质中的一种专一性酪氨酸蛋白激酶,与

质膜的细胞质面相结合。本研究通过数据库挖掘分析出多个与脂肪肝可能相关的信号靶点,这些通路在复羽叶栲树种仁油活性成分逆转脂肪肝的作用机制中发挥着重要作用。

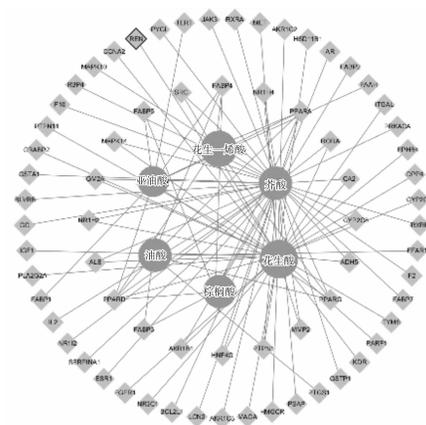


图 2 复羽叶栲树种仁油活性成分-作用靶点网络图

### 2.4 复羽叶栲树种仁油活性成分治疗脂肪肝交集靶点 PPI 图构建

PPI 是由蛋白质通过彼此之间的相互作用来参与生物信号传递、基因表达调节、能量和物质代谢及细胞周期调控等生命过程的各个环节。PPI 图中节点代表蛋白质,节点与节点间的连线代表关联性,利用 STRING 平台,选择人源物种,获得靶标相互作用关系,其余参数设定为系统默认,并隐藏断开节点的靶点,绘制出复羽叶栲树种仁油活性成分治疗脂肪肝交集靶点 PPI 图,如图 3 所示。该 PPI 图中共包含 69 个节点,代表了所有的预测靶点,共 714 条边线,代表了各个靶点之间的相互联系。

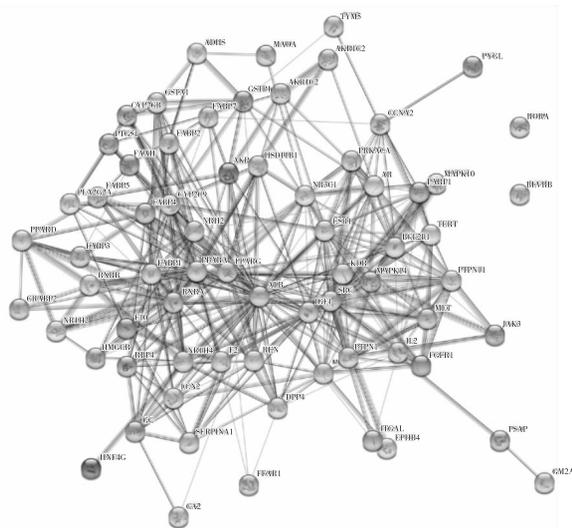


图 3 复羽叶栲树种仁油活性成分治疗脂肪肝交集靶点 PPI 图

### 2.5 交集靶点 GO 富集分析

利用 DAVID 数据库,对复羽叶栲树种仁油活性

成分与脂肪肝交集靶点数据进行 GO 富集,共获得生物过程(BP)830 个,细胞组分(CC)4 个,分子功能(MF)95 个,依据  $p$  值大小,分别列举每个模块前 15 的条目,如图 4 所示。由图 4 可知:这些基因生物过程(BP)主要涉及细胞内受体信号传导途径、脂肪酸代谢过程、脂质运输、激素介导的信号传导途径、脂质定位、甾体代谢过程、不饱和脂肪酸代谢过程、细胞酮体代谢过程、细胞酮体代谢过程、二十烷酸代谢过程、细胞对类固醇荷尔蒙刺激的反应、脂质代谢过程的调节、烯炔类化合物代谢过程、小分子代谢过程的调节、对类固醇激素的反应、对外界刺激反应的负向调节等;细

胞组分(CC)主要涉及分泌颗粒腔体、细胞质囊泡腔体、囊泡腔、富含纤维胶凝蛋白的颗粒内腔;分子功能(MF)主要涉及单羧酸结合、羧酸结合、核受体活性、配体激活的转录因子活性、脂肪酸结合、甾体激素受体活性、胆汁酸结合、RNA 聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合、长链脂肪酸结合、转录辅助因子结合、DNA 结合的转录因子结合、有机酸结合、核受体结合、类固醇结合、长链脂肪酸转运体活性。结果表明复羽叶栲树种仁油可能通过以上过程逆转脂肪肝。

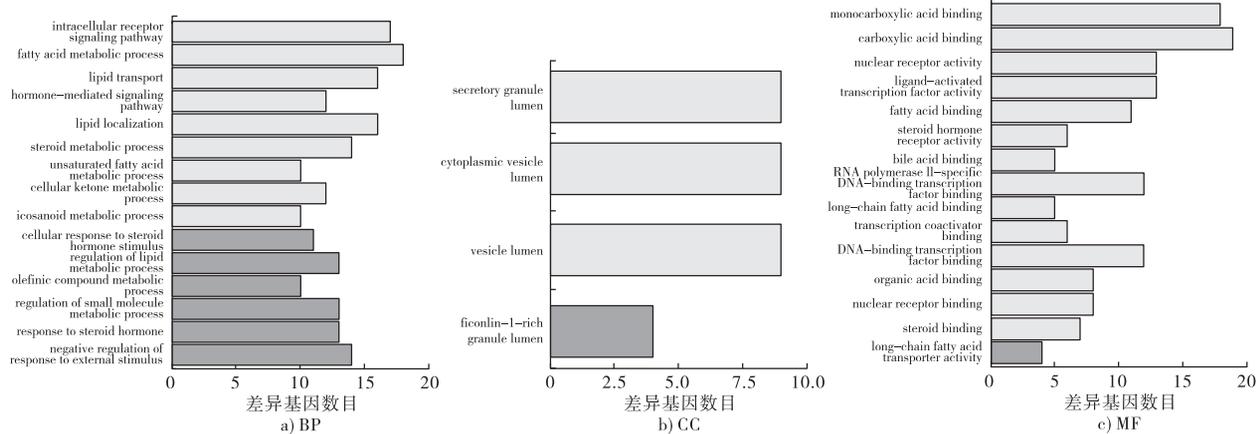


图 4 GO 富集分析

## 2.6 核心靶点分子对接结果

选取核心基因靶点前五位的靶点蛋白与其对应的药物活性分子进行分子对接,利用 Discovery Studio 软件进行验证,结果见表 1。分子对接结果越高,小分子与受体结合的活性越高,越方便其发生相互作用。反之,越低相互作用越差。

表 1 核心靶点分子对接结果

| 靶点蛋白          | 蛋白结构 | 成分    | 对接结果分值  |
|---------------|------|-------|---------|
| ALB           | 6A7P | 花生酸   | 106.830 |
| ALB           | 6A7P | 芥酸    | 126.776 |
| IGF1          | 3D94 | 花生酸   | 125.259 |
| PPAR $\alpha$ | 3V18 | 花生一烯酸 | 130.355 |
| PPAR $\alpha$ | 3V18 | 芥酸    | 139.117 |
| PPAR $\alpha$ | 3V18 | 亚油酸   | 117.960 |
| PPAR $\alpha$ | 3V18 | 油酸    | 119.702 |
| PPAR $\alpha$ | 3V18 | 棕榈酸   | 110.080 |
| PPAR $\gamma$ | 6D94 | 花生一烯酸 | 138.105 |
| PPAR $\gamma$ | 6D94 | 芥酸    | 149.081 |
| PPAR $\gamma$ | 6D94 | 亚油酸   | 133.641 |
| PPAR $\gamma$ | 6D94 | 油酸    | 129.469 |
| SRC           | 5LMA | 花生酸   | 113.458 |
| SRC           | 5LMA | 芥酸    | 121.087 |

由表 1 可看出,分子对接结果较高,显示复羽叶

栲树种仁油活性成分与核心靶点结合性能较好,验证了复羽叶栲树种仁油活性成分治疗脂肪肝的重要性,同时证明了该网络预测的可靠性。

## 3 结论

本研究通过网络药理筛选出了复羽叶栲树种仁油活性有效成分的作用靶点,复羽叶栲树种仁油与脂肪肝相关靶点相交集,得到复羽叶栲树种仁油活性成分治疗脂肪肝的“活性成分-靶点-疾病”作用网络,并对其中的作用过程进行分析。结果表明,复羽叶栲树种仁油的主要活性成分有花生一烯酸、棕榈酸、亚油酸、油酸、芥酸、花生酸,共得到 69 个作用靶标。对脂肪肝靶点进行筛选,并与复羽叶栲树种仁油活性成分的 69 个交集靶点进行分析,得到 ALB、IGF1、PPAR $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、SRC 5 个靶点蛋白为核心的作用靶标,推测复羽叶栲树种仁油活性成分通过以上相关靶点作用于脂肪肝治疗。分子对接结果显示,复羽叶栲树种仁油活性成分与靶点结合效果较好,表明对该网络预测具有可靠性。

## 参考文献:

- [1] 郭绮妮,徐珊.疏肝、柔肝、镇肝、平肝法治疗脂肪肝[J].中国中医药现代远程教育,2008(8):101-102.

(下转第 119 页)