

基于网络药理学探讨巴豆制霜的作用机制[△]

尚津锋^{1,2*}, 李倩楠¹, 崔一然², 刘欣^{1#} (1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029; 2. 首都医科大学附属北京中医医院药学部, 北京 100010)

中图分类号 R96;R943.1 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)08-0923-08

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.08.007

摘要 目的:运用网络药理学方法探讨巴豆制霜增效减毒的机制。方法:通过中医药整合药理学研究平台 V2.0 获取并筛选巴豆、巴豆霜的成分和靶点,采用 admetSAR-2.0 获取巴豆主要成分的药动学和毒理学参数。将巴豆、巴豆霜共有靶点和巴豆特有靶点通过 STRING 11.0 数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用网络,采用 DAVID 进行京都基因与基因组百科全书通路富集分析,利用 Cytoscape 3.8.0 构建成成分-靶点-通路网络,并进行网络拓扑分析。结果:经分析得到巴豆、巴豆霜共有成分 6 个和靶点 202 个,巴豆特有成分 31 个和靶点 107 个。巴豆、巴豆霜共有成分均能透过血脑屏障并被人体小肠吸收。巴豆发挥药效涉及尼古丁成瘾、GABA 能突触和 Rap1 信号通路等通路。巴豆表现毒性涉及脂肪酸代谢通路、PPAR 信号通路等。巴豆制霜机制可能与苯丙胺成瘾和长时程增强等神经系统通路相关。结论:巴豆制霜具有增效减毒作用,与多个靶点和通路相关,探讨靶点和通路有助于阐释巴豆制霜机制。

关键词 药效;毒性;网络药理学;巴豆制霜;机制

Mechanism of Processing Semen Crotonis Pulveratum Based on Network Pharmacology[△]

SHANG Jinfeng^{1,2}, LI Qiannan¹, CUI Yiran², LIU Xin¹ (1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Dept. of Pharmacy, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the mechanism of synergistic effect and toxicity reduction of processing semen crotonis pulveratum by using network pharmacology. **METHODS:** The components and targets of croton and semen crotonis pulveratum were obtained and screened by integrative pharmacology-based research platform of traditional Chinese medicine (TCMIP) V2.0. Pharmacokinetic and toxicological parameters of Croton were obtained by admetSAR-2.0. Protein-protein interaction network of common targets of croton and semen crotonis pulveratum, and specific targets of croton was constructed by STRING 11.0. Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analysis were performed by DAVID. Cytoscape 3.8.0 was used to construct the component-target-pathway network and perform network topology analysis. **RESULTS:** There were 6 common components and 202 common targets in croton and semen crotonis pulveratum. There were 31 specific components and 107 specific targets in croton. The common components of croton and semen crotonis pulveratum could pass through the blood brain barrier and be absorbed by human small intestine. The pharmacodynamics of croton involved nicotine addiction, GABAergic synapse and Rap1 signaling pathway. The toxicity of croton involved fatty acid metabolism and PPAR signaling pathway. The mechanism of processing semen crotonis pulveratum may be related to nervous system pathways such as amphetamine addiction and long-term potentiation. **CONCLUSIONS:** Processing semen crotonis pulveratum has synergistic effect and toxicity reduction, which is related to multiple targets and pathways. To explore the predicted targets and pathways is helpful to explain the mechanism of processing semen crotonis pulveratum.

KEYWORDS Pharmacodynamics; Toxicity; Network pharmacology; Processing semen crotonis pulveratum; Mechanism

巴豆为大戟科植物巴豆 *Croton tiglium* L. 的干燥成熟果

△ 基金项目:北京市优秀人才培养资助项目(No. 2018000021469G256)

* 硕士研究生。研究方向:脑缺血作用特点及药物干预。E-mail: sjf01qtdd@163.com

通信作者:副教授,硕士生导师。研究方向:脑缺血作用特点及药物干预。E-mail: xinliu1011@126.com

实,具有泻下冷积、逐水退肿和祛痰利咽等功效,在临床被应用于寒积便秘、腹水膨胀等^[1]。巴豆的主要成分包括有机酸类、二萜类、生物碱类和植物蛋白类,其中巴豆脂肪油和巴豆毒素是巴豆大毒的物质基础^[2-3]。因此,目前常使用取仁蒸煮后去油制霜的炮制方法,以达缓和峻泻、降低毒性的目的^[4]。基于中医药百科全书数据库(ETCM)、中医药整合药理学研究

平台(TCMIP),通过大数据的智能化数据挖掘,分析药物、成分和靶点的网络关联,阐释中药多成分-多靶点-多途径作用机制^[5-6]。本研究以效毒关系为切入点,运用网络药理学方法筛选巴豆和巴豆霜成分和靶标并进行通路分析,预测并探讨巴豆制霜的机制,为临床巴豆霜的应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 化学成分靶点筛选

通过 TCMIP V2.0^[7] 的中药材数据库,检索巴豆、巴豆霜的化学成分和靶点。获得的中药基因靶标由 MedChem Studio 预测,只保留可靠性分值>0.8 的靶标。

1.2 化学成分 ADMET 预测

admetSAR-2.0(<http://lmmd.ecust.edu.cn/admet2/>)从多种数据库收集化合物药理学相关信息,能够预测化合物 ADMET 参数,包括血脑屏障、人体小肠吸收性、Caco-2 细胞透过性和急性口服毒性等定性定量参数^[8]。利用该数据库检索巴豆、巴豆霜成分的 ADMET 参数,分析化学成分的药动学和毒理学性质。

1.3 靶点蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

为明确靶标间的相互关系,利用 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)将巴豆和巴豆霜靶点取交集,并将共有靶点和特有靶点提交至 STRING 11.0 数据库^[9](<https://string-db.org>)构建 PPI 网络,设定生物种类为“Homo sapiens”,最小互作阈值为“highest confidence”(>0.900),其余均为默认设置,得到 PPI 网络,并通过 Cytoscape 3.8.0 对 PPI 网络进一步可视化。

1.4 成分的通路富集分析

利用 DAVID 软件^[10](<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>)将筛选得到的靶点进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,保留 $P<0.01$ 的通路,并根据 P 值筛选出前 20 条通路进行分析。

1.5 成分-靶点-通路网络图构建和分析

将成分、靶点和通路数据导入 Cytoscape 3.8.0^[11],构建“成分-靶点-通路”网络图。成分、靶点和通路以节点(node)表示,利用 Cytoscape 内置工具 Analyze Network 分析各节点的网络拓扑参数,其中,节点的度值(degree)是与节点相连边的数量,度值越大,说明网络中与该节点直接相关的节点数越多,表明该节点越重要^[12]。根据网络拓扑学参数可判断中药发挥药效、表现毒性的主要成分以及核心靶点。

2 结果

2.1 巴豆、巴豆霜化学成分靶点获取和筛选

根据 TCMIP V2.0 中药材数据库检索巴豆、巴豆霜分别有 47、9 个化学成分,筛选去除无作用靶标的成分,得到巴豆苷(crotonoside)、月桂酸(lauric acid)等巴豆成分 37 个以及巴豆醇(phorbol)等巴豆霜成分 6 个。去重基因靶标,得到巴豆有 309 个靶点,巴豆霜有 202 个靶点。筛选结果表明,巴豆的成分包括巴豆霜的 6 个化学成分。

2.2 化学成分 ADMET 预测结果

将上述筛选的 6 种巴豆-巴豆霜共有成分导入 admetSAR-

2.0 中检索,结果见表 1—3。巴豆苷、 β -谷甾醇等成分均能透过血脑屏障并被人体小肠吸收,分布在细胞核、线粒体和溶酶体,对 CYP 酶的抑制性较低,其中 β -谷甾醇的 Caco-2 细胞通透性和口服生物利用度较高。除 β -谷甾醇、巴豆醇-12-十四烷酸酯-13-乙酸酯、4-脱氧-4-巴豆醇和巴豆醇是 CYP3A4 底物,巴豆醇-12-十四烷酸酯-13-乙酸酯是 CYP2C9 抑制剂外,其余成分均不是 CYP 酶亚型的底物或抑制剂。根据化合物毒性指标,6 种成分均无钾电压门控通道亚家族 H 成员 2(HERG)相关基因抑制性、交链孢酮单甲醚(AME)致畸性、致癌性,且生物降解度较低。值得注意的是,巴豆醇和异鸟嘌呤具有肝毒性, β -谷甾醇的急性口服毒性处于危险等级。

表 1 中以巴豆苷为例,人体小肠吸收性为“+”,说明巴豆苷在小肠吸收性较好;Caco-2 细胞通透性为“-”,说明巴豆苷使 Caco-2 细胞通透性变差;血脑屏障为“+”,说明巴豆苷可以透过血脑屏障;P 糖蛋白底物为“-”,说明巴豆苷不是 P 糖蛋白底物。表 3 中以巴豆苷为例,肝毒性为“+”,说明巴豆苷具有肝毒性;生物降解度为“-”,说明巴豆苷的生物降解度降低。

表 1 巴豆化学成分的吸收、分布和排泄相关指标

Tab 1 Absorption, distribution and excretion of chemical components of croton

化学成分	水溶性 (logS)	人体小肠 吸收性 (HIA)	Caco-2 细 胞通透性	血脑 屏障	P 糖蛋 白底物	亚细胞 定位
巴豆苷	-2.076	+	-	+	-	细胞核
β -谷甾醇	-4.703	+	+	+	+	溶酶体
巴豆醇-12-十四烷酸酯- 13-乙酸酯	-3.533	+	-	+	+	线粒体
4-脱氧-4-巴豆醇	-2.268	+	-	+	-	线粒体
异鸟嘌呤	-3.293	+	-	+	-	溶酶体
巴豆醇	-2.306	+	-	+	-	线粒体

注:“+”代表具有该性质或程度高;“-”代表不具有该性质或程度低

Note:“+” means the property is present or the degree is high;“-” means the property is not present or the degree is low

2.3 靶点的 PPI 网络构建

将筛选的巴豆化学成分靶点与巴豆霜化学成分靶点取交集,并通过 Venny 2.1.0 绘制韦恩图,得到巴豆-巴豆霜共同靶点 202 个,均为巴豆靶标,以及巴豆的特有靶点 107 个,见图 1。将巴豆-巴豆霜共有靶点和巴豆特有靶点分别提交至 STRING 11.0 平台得到 PPI 网络,并导入 Cytoscape 3.8.0 对 PPI 网络进一步可视化,见图 2—3(节点面积越大代表度值越高)。

2.4 KEGG 通路富集分析

为阐明巴豆、巴豆霜成分的效毒关系机制,将巴豆-巴豆霜的共有成分靶点和巴豆的特有成分靶点输入 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析。202 个共有靶点富集得到 77 条通路,筛选 $P<0.01$ 的通路共 38 条,涉及尼古丁成瘾(nicotine addiction)、GABA 能突触(GABAergic synapse)、神经活性配体受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)、嘌呤代谢(purine metabolism)、cAMP 信号通路(cAMP signaling pathway)、Rap1 信号通路(Rap1 signaling pathway)和 Ras 信号通路(Ras signaling pathway)等。选择前 20 条通路使用

表 2 巴豆化学成分的代谢相关指标

Tab 2 Metabolism-related indicators of chemical components of croton									
化学成分	CYP3A4 底物	CYP2C9 底物	CYP2D6 底物	CYP3A4 抑制剂	CYP2C9 抑制剂	CYP2C19 抑制剂	CYP2D6 抑制剂	CYP1A2 抑制剂	CYP 综合 抑制剂
巴豆苷	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-谷甾醇	+	-	-	-	-	-	-	-	-
巴豆醇-12-十四烷酸酯-13-乙酸酯	+	-	-	-	+	-	-	-	-
4-脱氧-4-巴豆醇	+	-	-	-	-	-	-	-	-
异鸟嘌呤	-	-	-	-	-	-	-	-	-
巴豆醇	+	-	-	-	-	-	-	-	-

注：“+”代表是底物或抑制剂；“-”代表不是底物或抑制
Note：“+” means substrate or inhibitor；“-” means not substrate or inhibition

表 3 巴豆化学成分的毒性相关指标

Tab 3 Toxicity related indicators of chemical components of croton						
化学成分	肝毒性	HERG 相关基因抑制性	AME 致畸性	致癌性(或致癌性警戒)	生物降解度	急性口服毒性
巴豆苷	+	-	-	-	-	Ⅲ
β-谷甾醇	-	-	-	-	-	I
巴豆醇-12-十四烷酸酯-13-乙酸酯	-	-	-	-	-	Ⅲ
4-脱氧-4-巴豆醇	-	-	-	-	-	Ⅲ
异鸟嘌呤	+	-	-	-	-	Ⅲ
巴豆醇	-	-	-	-	-	Ⅲ

注：“+”代表具有该性质或程度高；“-”代表不具有该性质或程度低；I、Ⅲ代表毒性分级
Note：“+” means the property is present or the degree is high；“-” means the property is not present or the degree is low；I and Ⅲ represent toxicity grades

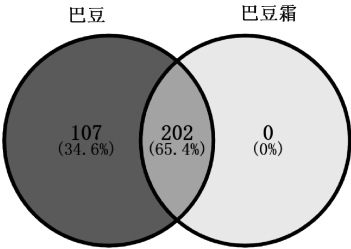


图 1 巴豆-巴豆霜靶点的韦恩图

Fig 1 Venn diagram of targets of croton and semen crotonis pulveratum

Omicshare 平台(<https://www.omicshare.com/tools/>)可视化,见图 4(RichFactor 值越大,表示通路富集程度越高;点的大小表示富集的靶点数量;点的颜色由浅到深表明 P 值由大到小)。

107 个巴豆特有成分靶点富集得到 44 条通路,筛选 $P < 0.01$ 的通路共 21 条,涉及 PPAR 信号通路(PPAR signaling pathway)、非酒精性脂肪肝[non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)]、阿尔茨海默病(Alzheimer’s disease)、帕金森病(Parkinson’s disease)、脂肪酸降解(fatty acid degradation)、α-亚麻酸代谢(alpha-Linolenic acid metabolism)、血管平滑肌收缩(vascular smooth muscle contraction)和甲状腺癌(thyroid cancer)等。其中,长时程增强作用(Long-term potentiation)、苯丙胺成瘾(amphetamine addiction)是共有靶点和特有靶点富集得到的 2 条共有通路。选择前 20 条通路使用 Omicshare 平台可视化,见图 5(RichFactor 值越大,表示通路富集程度越高;点的大小表示富集的靶点数量;点的颜色由浅到深表明 P 值由大到小)。

2.5 成分-靶点-通路网络图的构建及拓扑分析

将巴豆、巴豆霜的化学成分及相关靶点和富集分析得到的通路导入 Cytoscape 3.8.0,绘制“成分-靶点-通路”网络图。

度值是节点的直接相连节点数目,度值越大,该节点在网络中更重要。共有化学成分、相关靶点及富集通路导入该软件,绘制出 130 个节点、417 条边的“成分-靶点-通路”网络图,见图 6(形状代表类型,八边形为成分,矩形为靶点,三角形为通路;节点的面积代表其度值,面积越大说明该节点越重要)。网络分析表示,巴豆苷连接度为 75,介度为 0.642 2,紧密度为 0.581 1,说明巴豆苷是巴豆霜发挥药效的主要成分。腺苷酸环化酶 1(ADCY1)、G 蛋白亚基 α 11(GNAI1)、丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)、CAMP 响应性元素结合蛋白 1(CREB1)、磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α(PIK3CA)、苏氨酸激酶 1(AKT1)、ATP 结合盒 C 亚家族 1(ABCC1)和 ATP 结合盒亚家族 A 成员 1(ABCA1)等靶点在网络中有较高连接度值,说明上述靶点在巴豆发挥药效过程中具有重要作用。

将特有成分、相关靶点及富集通路导入该软件,绘制出 86 个节点、427 条边的“成分-靶点-通路”网络图,见图 7(形状代表类型,八边形为成分,矩形为靶点,三角形为通路;节点的面积代表其度值,面积越大说明该节点越重要)。Cytoscape 网络分析表示,棕榈酸、花生酸、硬脂酸、肉豆蔻酸和亚麻酸的连接度等网络拓扑值均较大,说明这些脂肪油类成分与巴豆产生毒性作用有密切关系。钙调蛋白 1(CALM1)、磷脂酶 A2 组 IB(PLA2G1B)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 3(ACSL3)、磷脂酶 A2 组 IIA(PLA2G2A)、蛋白激酶 CAMP 活化催化亚基 α(PRKACA)、酰基辅酶 A 氧化酶 1(ACOX1)和过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ(PPARG)等靶点连接度较高,是巴豆产生毒性的基础。

3 讨论

3.1 巴豆(霜)药效机制分析

巴豆霜在临床上可用于治疗寒积便秘、水肿腹胀、乳食停

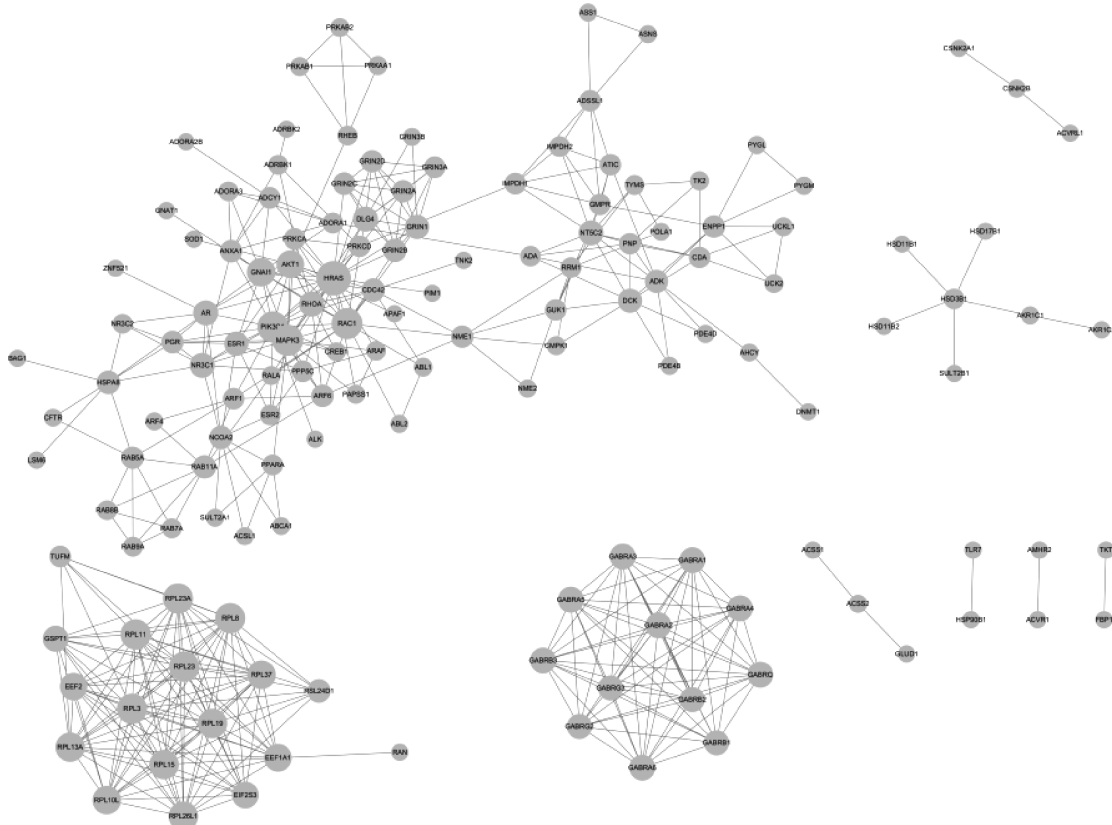


图2 巴豆-巴豆霜共有成分靶点 PPI 网络

Fig 2 PPI network of common component targets of croton and semen crotonis pulveratum

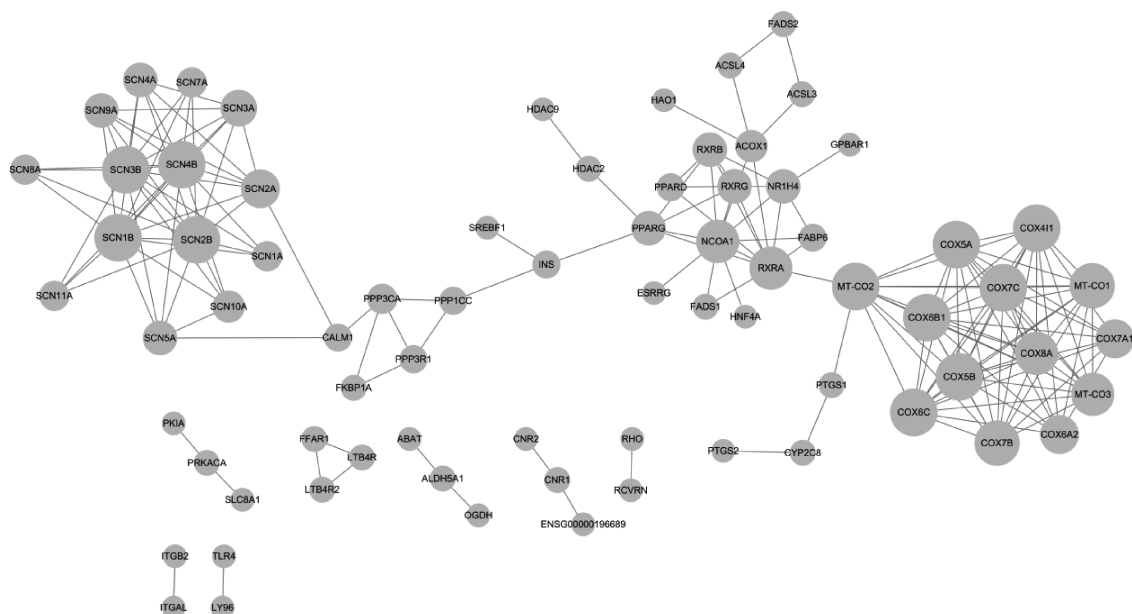


图3 巴豆特有成分靶点 PPI 网络

Fig 3 PPI network of specific component targets of croton

滞和喉风喉痹等,也用于恶性肿瘤的治疗^[13-14]。本研究通过网络药理学方法初步筛选出巴豆霜发挥药效的主要成分为巴豆苷、异鸟嘌呤等生物碱和二萜类成分。相关研究结果表明,巴豆提取物具有明显的抗肿瘤活性,能抑制多种肿瘤细胞,其

作用机制与诱导肿瘤细胞凋亡、影响膜系统分子动力学、抑制肿瘤转移和诱导肿瘤细胞分化等有关^[15]。此外,巴豆生物碱促使细胞 G₂/M 期阻滞和抑制细胞的有丝分裂,诱导骨肉瘤细胞凋亡^[16]。药理研究结果表明,巴豆属植物中的二萜类成分

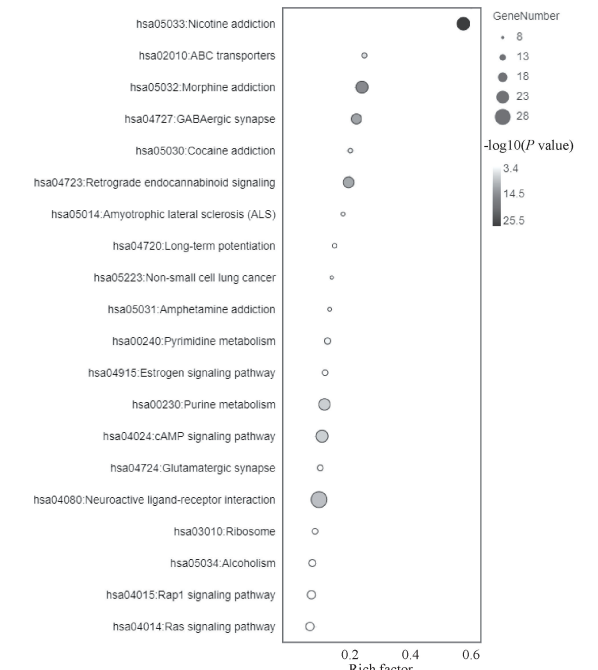


图 4 巴豆-巴豆霜共有靶点 KEGG 通路富集分析气泡图
Fig 4 Bubbles of KEGG pathway enrichment analysis of common targets of croton and semen crotonis pulveratum

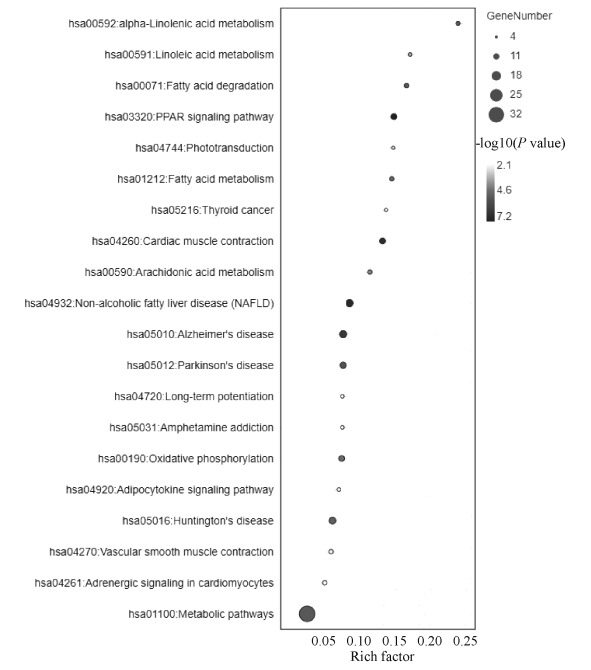


图 5 巴豆特有靶点 KEGG 通路富集分析气泡图
Fig 5 Bubbles of KEGG pathway enrichment analysis of specific targets of croton

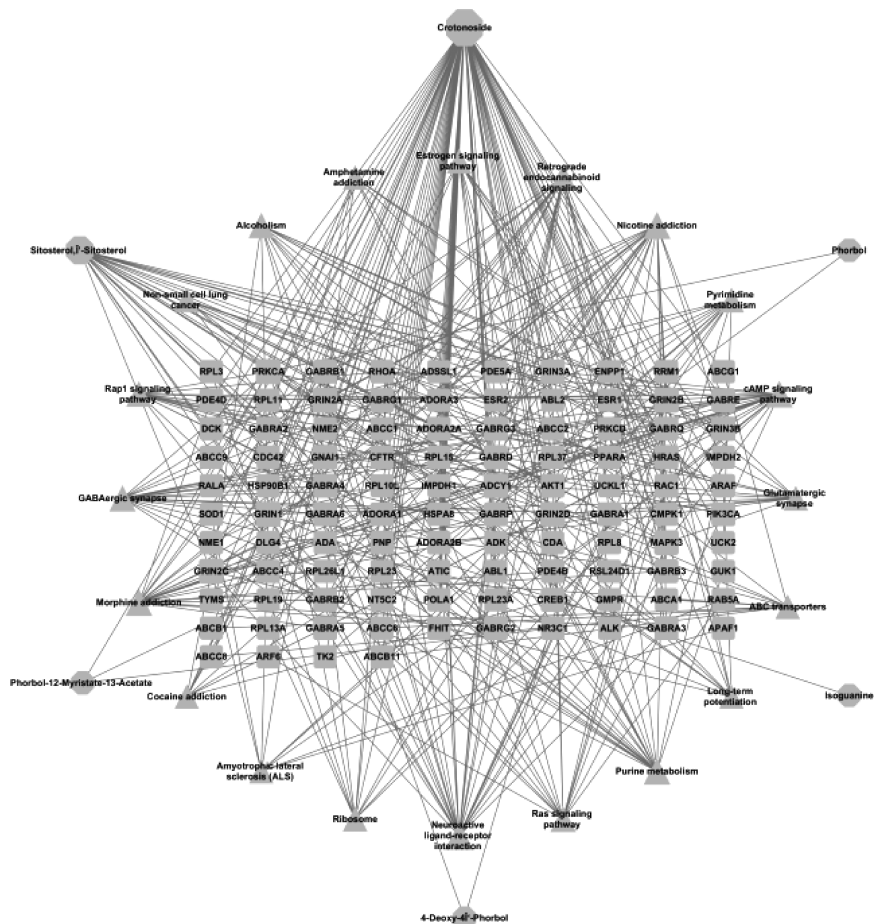


图 6 巴豆-巴豆霜共有成分-靶点-通路网络图
Fig 6 Common component-target-pathway network diagram of croton and semen crotonis pulveratum

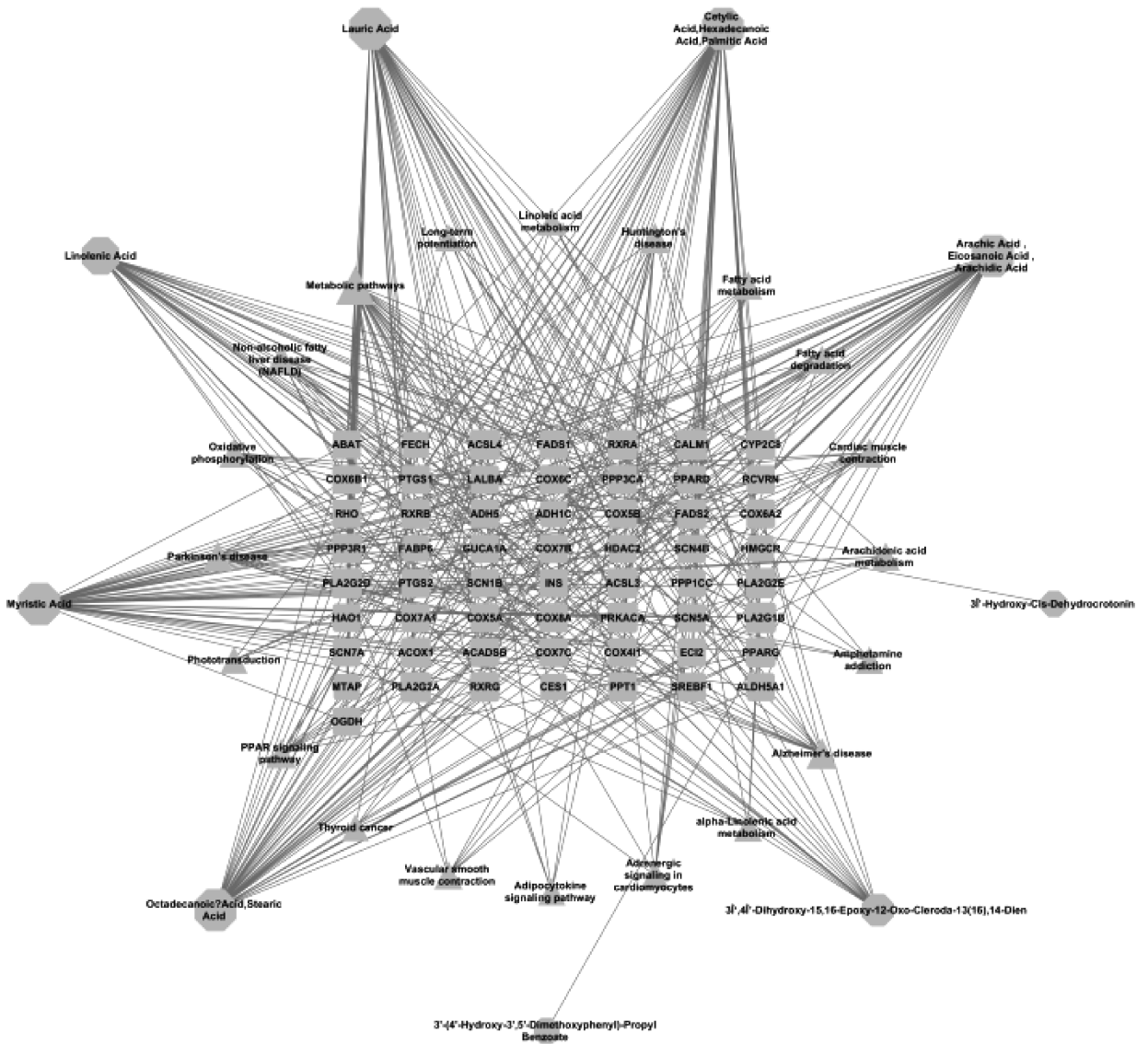


图7 巴豆特有成分-靶点-通路网络图

Fig 7 Specific component-target-pathway network diagram of croton

有抗炎的药理活性^[17]。巴豆苷也具有抗炎作用,表现为抑制毛细血管通透性和耳肿胀^[18]。同时,巴豆霜给小鼠灌服,可抑制小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬活性,还可降低小鼠碳廓清率及胸腺重量^[19]。

网络拓扑分析和富集结果显示,巴豆霜成分作用的核心靶点包括 ABCA1、PIK3CA、CREB1 和 AKT1 等,主要作用于 2 类通路:一是神经系统相关通路,包括尼古丁成瘾、GABA 能突触、ABC 转运蛋白、Rap1 信号通路和 Ras 信号通路等;二是癌症通路,包括非小细胞肺癌、胰腺癌、肾细胞癌和前列腺癌等。此外,巴豆霜还通过嘌呤代谢、嘧啶代谢等通路参与机体的物质代谢,通过 Fcγ 受体 (FcγR) 介导的吞噬作用通路在免疫系统调节和免疫应答过程中发挥作用^[20]。药理学研究结果表明,尼古丁加剧胃溃疡和恶性肿瘤侵袭性因素的有害作用,并减弱胃肠防御因素的保护作用,在胃十二指肠溃疡中发挥重要作用,同时通过调节细胞增殖凋亡和血管生成促进恶性肿瘤进

展,导致胃肠道癌变^[21]。γ-氨基丁酸 (GABA) 是重要的抑制性神经递质,在中枢神经系统生理学和免疫细胞免疫调节中的作用至关重要,与胃肠动力密切相关^[22-23]。肠道中广泛的 GABA 表明,GABA 可能被应用于运动性胃肠道疾病,如胃轻瘫和肠梗阻,从而恢复生理性胃肠动力^[24]。ABC 转运蛋白家族,如 ABCA1、ABCB1、ABCC1 和 ABCC9 等,能够利用 ATP 水解产生的能量,协助各种物质进行跨膜转运^[25]。研究结果表明,ABC 转运蛋白可将疏水亲脂的化疗药主动排出肿瘤细胞外,降低细胞内药物蓄积,从而使肿瘤细胞产生多药耐药^[26]。Ras 和 Rap1 对细胞的增殖、分化等基本生命活动起重要的调控作用,与肿瘤密切相关^[27-28]。研究结果显示,Rap1b 通过参与多条信号调节过程,在肿瘤发生发展中起着重要作用^[29]。同时,随着 Ras 蛋白表达升高,肿瘤组织更易进展、浸润和转移^[30]。巴豆霜可能通过 Rap1 和 Ras 相关通路抑制恶性肿瘤细胞的增殖和转移。PIK3CA 是磷脂酰肌醇 3 激酶催化亚单位的基因,能够

调控磷酸化的苏氨酸激酶(p-Akt)蛋白的表达,从而降低非小细胞肺癌的侵袭及迁移能力^[31];临床上,非小细胞肺癌患者的PIK3CA 突变则预后不良^[32]。CREB 基因和食管癌、膀胱癌等多种恶性肿瘤关系密切,抑制该基因表达能够抑制恶性肿瘤细胞增殖^[33-34];此外,CREB 表达上调的食管鳞癌患者预后不良^[35]。由此可知,CREB 为肿瘤的关键靶点。研究结果表明,Akt 是靶向抗肿瘤药研发的重要靶标,抑制 Akt 可有效抑制肿瘤生长^[36]。总体而言,巴豆(霜)的多个成分通过多种靶点、多条途径在抗肿瘤中取得了显著效果,同时调节胃肠动力,抑菌抗炎,预测其药效机制涉及 GABA 能突触受体、ABC 转运蛋白和 Rap1 信号通路等通路。

3.2 巴豆毒性机制分析

本研究通过网络拓扑参数筛选出棕榈酸、花生酸等脂肪酸为巴豆产生毒性的主要化学成分。ADMET 结果显示,巴豆、巴豆霜对肝药酶抑制较低,进入体内后会保持较高的血药浓度。巴豆苷和异鸟嘌呤不是 CYP3A4 底物,可能与巴豆损伤肝脏,导致肝毒性有关。网络拓扑参数和基因富集结果显示,巴豆毒性的核心靶点 ACOX1 等主要作用于脂肪酸代谢相关通路,如脂肪酸代谢通路、脂肪酸降解、脂肪细胞因子信号通路、非酒精性脂肪肝、PPAR 信号通路、 α -亚麻酸代谢和亚油酸代谢通路。过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 是肝脏中高表达的代谢性核受体,主要功能是参与脂肪酸氧化,包括激活脂肪酸摄取、加速脂肪酸氧化、抑制糖异生、抑制炎症和纤维化,这些过程都与非酒精性脂肪肝的发病机制密切相关^[37]。有研究结果发现,共轭亚油酸与 PPAR α 联系紧密。共轭亚油酸可能通过 PPAR α 激活,介导抗神经炎症^[38];PPAR α 在共轭亚油酸诱导的肝脂肪变性中调节脂肪生成和脂肪酸氧化,对维持脂质稳态发挥双重作用^[39]。由此可见,巴豆毒性作用的产生与体内产生亚油酸及其代谢过程紧密相关。同时,巴豆特有靶点的富集通路涉及神经系统退行性疾病,包括阿尔茨海默病、帕金森病和亨廷顿病。说明巴豆毒性可能造成神经系统损伤。此外,巴豆油有弱致癌作用,可诱导大鼠癌基因的增^[40]。巴豆油对小鼠耳有致炎作用,导致其水肿和中性粒细胞浸润^[41]。因此,巴豆的毒性机制可能与脂肪酸代谢通路、PPAR 信号通路等脂肪酸代谢类通路相关。

3.3 巴豆制霜机制分析

巴豆大毒,在传统炮制工艺中,通常采用去油制霜的方法降低毒性,缓和峻下,即取巴豆仁碾碎蒸煮,压榨去油至松散成粉状^[42]。在这一过程中,巴豆毒蛋白因加热变性而除去,巴豆油大部分去除,以此达到降低毒性的目的。根据本研究富集分析,巴豆发挥“效”“毒”作用有 2 个共同通路,即苯丙胺成瘾和长时程增强。有研究结果显示,GABA 对长时程增强的影响是通过受体介导的突触前、后抑制效应而实现的^[43]。GABA 受体拮抗剂不影响神经病理性痛大鼠海马突触长时程增强诱出及维持^[44];而 GABA 激动剂降低依赖药物引起的加强作用,可缓解苯丙胺类药物依赖^[45]。说明巴豆与巴豆霜因成分变化或成分含量不同,对神经系统的作用不同。综合以上分析,巴豆制霜去除或减少巴豆油等致炎、弱致癌成分,增强了巴豆的抗

肿瘤、抗菌和抗病毒的功效,同时降低了巴豆毒性,减少了临床不良反应,并可能对神经系统产生影响,通过网络药理学方法预测巴豆制霜机制可能与苯丙胺成瘾和长时程增强等神经系统通路有关。

综上所述,本研究通过 TCMIP V2.0 等数据库,采用网络药理学方法,以巴豆的效毒关系为切入点,对巴豆和巴豆霜的成分进行筛选、靶点进行预测、通路进行分析。结合现代药理学、毒理学研究以及传统炮制方法,分析巴豆发挥“效”“毒”作用机制,探讨巴豆制霜的分子机制。巴豆(霜)调控 Rap1 信号通路、非小细胞肺癌等通路,对肿瘤具有明显的治疗作用。巴豆苷等导致肝毒性,影响脂肪酸代谢通路,是巴豆的主要毒性机制。巴豆制霜不仅能降低巴豆的不良反应和毒性效应,而且能更好地发挥巴豆霜的抗肿瘤抑菌治疗作用。然而,本研究缺乏实验验证,今后可基于体内外模型分别给予巴豆和巴豆霜,检测各组神经系统相关通路的蛋白表达变化,进而验证预测结果。总之,本研究探讨了巴豆制霜的分子机制,发现这种巴豆炮制方法与苯丙胺成瘾、长时程增强等神经系统相关通路有关。

参考文献

[1] 王建,张冰. 临床中药学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 101.

[2] 胡静,秦贝贝,马琳,等. 巴豆化学成分、药理作用及其质量标志物预测分析[J]. 中草药, 2021, 52(21): 6743-6754.

[3] 吴晓峰. 发酵对中药巴豆“降毒保效”效应的物质基础研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.

[4] 刘敬,赵斌,曹晖,等. 巴豆霜炮制工艺研究及脂肪油 GC 测定[J]. 中药材, 2020, 43(5): 1111-1114.

[5] XU H Y, ZHANG Y Q, LIU Z M, et al. ETCM: an encyclopaedia of traditional Chinese medicine[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D976-D982.

[6] XU H Y, ZHANG Y Q, WANG P, et al. A comprehensive review of integrative pharmacology-based investigation: a paradigm shift in traditional Chinese medicine[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(6): 1379-1399.

[7] 许海玉,刘振明,付岩,等. 中药整合药理学计算平台的开发与应用[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18): 3633-3638.

[8] YANG H B, LOU C F, SUN L X, et al. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties[J]. Bioinformatics, 2019, 35(6): 1067-1069.

[9] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D607-D613.

[10] JIAO X L, SHERMAN B T, HUANG D W, et al. DAVID-WS: a stateful web service to facilitate gene/protein list analysis[J]. Bioinformatics, 2012, 28(13): 1805-1806.

[11] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Res, 2003, 13(11): 2498-2504.

[12] 周珮珮,周霖,师莹莹,等. 基于网络药理学探究妇可靖胶囊治

- 疗慢性盆腔炎的作用[J]. 中成药, 2021, 43(3): 803-808.
- [13] 唐晓龙, 金庆江, 金庆雷, 等. 浅析李中梓对巴豆霜的临床运用[J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(10): 120-122.
 - [14] 赵翠云, 李杰, 吴童, 等. 基于数据挖掘探究中药古方治疗肺癌用药规律[J]. 天津中医药大学学报, 2020, 39(5): 513-519.
 - [15] 张雪, 武晓, 刘凤娟, 等. 巴豆提取物抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 癌症进展, 2020, 18(11): 1092-1106.
 - [16] 朱均, 吴智南, 徐卫东, 等. 巴豆生物碱对人骨肉瘤细胞细胞周期凋亡及对 Bcl-2 基因表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(7): 1450-1452.
 - [17] 杨舜伊, 袁纯红. 巴豆属二萜化学成分和药理活性研究新进展[J]. 中国野生植物资源, 2021, 40(8): 32-40, 47.
 - [18] 王安琪, 李艳楠, 左文博, 等. 巴豆苷药理作用及其机制的研究[J]. 农业灾害研究, 2021, 11(3): 1-2.
 - [19] 孙颂三, 赵燕洁, 袁士琴. 巴豆霜对抗炎、免疫、镇痛及致突变的影响[J]. 中药药理与临床, 1993(3): 36-38.
 - [20] XING K F, LIU Y J, YAN C C, et al. Transcriptome analysis of *Neocaridina denticulate sinensis* under copper exposure[J]. Gene, 2021, 764: 145098.
 - [21] WU W K K, CHO C H. The pharmacological actions of nicotine on the gastrointestinal tract[J]. J Pharmacol Sci, 2004, 94(4): 348-358.
 - [22] ZHENG Z F, ZHANG X M, LIU J Q, et al. GABAergic synapses suppress intestinal innate immunity via insulin signaling in *Caenorhabditis elegans*[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(20): e2021063118.
 - [23] 李勇. 谷氨酸脱羧酶在术后肠梗阻模型大鼠小肠上的表达变化[D]. 新乡: 新乡医学院, 2020.
 - [24] AUTERI M, ZIZZO M G, SERIO R. GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation [J]. Pharmacol Res, 2015, 93: 11-21.
 - [25] 曲俊泽, 陈天华, 姚明东, 等. ABC 转运蛋白及其在合成生物学中的应用[J]. 生物工程学报, 2020, 36(9): 1754-1766.
 - [26] KATHAWALA R J, GUPTA P, ASHBY C R Jr, et al. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: a review of the past decade[J]. Drug Resist Updat, 2015, 18: 1-17.
 - [27] 宋硕. Rap1 及 Ras 在细胞粘附连接中的功能研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2011.
 - [28] LOOI C K, HUI L W, NGAI S C, et al. The role of ras-associated protein 1 (Rap1) in cancer: bad actor or good player? [J]. Biomedicine, 2020, 8(9): 334.
 - [29] 张昊晗, 赵亚琪, 武杰, 等. RAS 相关蛋白 1b 在肿瘤中调控机制的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2021, 27(8): 661-666.
 - [30] 熊秋迎, 熊欣, 胡秀华, 等. K-ras 基因状态及 ras 蛋白表达在胃印戒细胞癌免疫表型分类中的意义[J]. 重庆医学, 2017, 46(15): 2027-2029, 2033.
 - [31] 宋忠花, 张金庆, 王言森. PIK3CA 基因对人非小细胞肺癌 A549 细胞侵袭及迁移能力的影响[J]. 解剖科学进展, 2018, 24(3): 293-295.
 - [32] 何燕, 麻文菁, 李进辉, 等. 非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体和 PIK3CA 基因突变与临床病理特征和预后的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(6): 576-579.
 - [33] 陈劲康, 何荣琦, 张万飞, 等. miR-122-5p 通过靶向 CREB1 抑制食管癌细胞及移植瘤的生长[J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(1): 35-44.
 - [34] 王艺璇, 郭立华. miR-122 靶向调控 CREB1 对膀胱癌细胞增殖、侵袭能力的影响及其分子机制[J]. 山东医药, 2020, 60(35): 26-29.
 - [35] 郭秀娟, 杜彦艳, 颜晰, 等. CREB 在食管鳞癌组织中的表达及其临床意义[J]. 癌变·畸变·突变, 2020, 32(5): 387-390, 394.
 - [36] 朱墨, 郭长彬. Akt 抑制剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2021, 31(11): 921-928.
 - [37] LISS K H H, FINCK B N. PPARs and nonalcoholic fatty liver disease[J]. Biochimie, 2017, 136: 65-74.
 - [38] MURRU E, CARTA G, MANCA C, et al. Conjugated linoleic acid and brain metabolism: a possible anti-neuroinflammatory role mediated by PPAR α activation[J]. Front Pharmacol, 2021, 11: 587140.
 - [39] CAI D M, LI Y W, ZHANG K X, et al. Co-option of PPAR α in the regulation of lipogenesis and fatty acid oxidation in CLA-induced hepatic steatosis[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(6): 4387-4402.
 - [40] 高学敏. 中药学[M]. 2 版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 168-169.
 - [41] 刘彬, 吴宏娟, 吴升华, 等. 脂氧素 A4 抑制巴豆油所致小鼠外耳炎症[J]. 基础医学与临床, 2006, 26(2): 205-206.
 - [42] 陈远彬. 中药制霜法浅谈[J]. 基层中药杂志, 1993(4): 22-23.
 - [43] FUJII S, JIA Y, YANG A, et al. Nicotine reverses GABAergic inhibition of long-term potentiation induction in the hippocampal CA1 region[J]. Brain Res, 2000, 863(1-2): 259-265.
 - [44] 魏辉明, 麻伟青, 杨云丽, 等. GABA $_A$ 受体对神经病理性痛大鼠海马长时程增强维持的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(11): 1267-1270.
 - [45] 崔巍, 沈雯雯, 周文华, 等. 苯丙胺类依赖的药物治疗现状和展望[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(3): 383-388.

(收稿日期:2021-10-20 修回日期:2022-01-19)

(上接第 922 页)

- [16] 邢星, 王建斌. 左乙拉西坦治疗儿童难治性癫痫的效果及影响因素[J]. 河北医药, 2021, 43(12): 1834-1836, 1840.
- [17] 杜真真, 郭武玲, 张莉, 等. 左乙拉西坦与拉莫三嗪治疗伴中央颞区棘波的儿童良性癫痫的疗效比较[J]. 癫痫与神经电生理学杂志, 2021, 30(2): 98-101.
- [18] 翟琼香, 桂娟, 张宇昕. 左乙拉西坦治疗儿童癫痫(癇) 51 例自身对照研究[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(9): 698-699.
- [19] 高静云, 王颖慧, 杨莉, 等. 中国新诊断癫痫儿童首选丙戊酸钠或左乙拉西坦治疗方案的成本效果分析[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(1): 42-47.
- [20] WANG Y H, WANG L, LU W, et al. Population pharmacokinetics modeling of levetiracetam in Chinese children with epilepsy[J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(6): 845-851.

(收稿日期:2021-03-18 修回日期:2022-02-25)