中图分类号：R932；R285.5　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2023)23－0053－07
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2023.23.012

基于网络药理学和分子对接技术的金卷升板胶囊治疗血小板减少症作用机制探讨*

杨　琳[1]，于　静[1]，杨继章[2]，刘爱霞[3]，张彦景[1]，刘　琰[1]，王玲娇[1△]

（1. 河北医科大学第一医院，河北 石家庄　050031；2. 清华大学附属北京清华长庚医院·清华大学临床医学院临床药物试验中心，北京　100084；3. 河北省邯郸市第四医院，河北 邯郸　056200）

摘要：目的　运用网络药理学和分子对接技术预测金卷升板胶囊治疗血小板减少症的作用机制。**方法**　通过中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）及 GeneCards 数据库筛选金卷升板胶囊治疗血小板减少症的相关化合物及其靶点。利用 Cytoscape 3.9.1 软件构建活性成分－靶点网络；利用 String 数据库构建蛋白－蛋白互作（PPI）网络；利用 Metascape 平台进行基因本体论（GO）功能富集分析和京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析；利用 Autodock Vina 软件进行分子对接。**结果**　共获得 88 个活性成分及 159 个共有靶点；关键通路包括癌症通路、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物－晚期糖基化终末产物的多配体受体（AGE－RAGE）信号通路及脂质和动脉粥样硬化信号通路等。获得槲皮素、山柰酚、β－谷甾醇 3 个重要化合物，以及 TP53，AKT1，JUN 3 个核心靶点；分子对接最小结合能均小于－5.0 kcal/mol。**结论**　金卷升板胶囊可能通过槲皮素、山柰酚、β－谷甾醇等关键活性成分，作用于 TP53，AKT1，JUN 等潜在核心靶点，调控癌症通路、糖尿病并发症中的 AGE－RAGE 信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路等，从而发挥治疗血小板减少症的作用。

关键词：金卷升板胶囊；血小板减少症；网络药理学；分子对接技术；作用机制

Mechanism of Jinjuan Shengban Capsules in the Treatment of Thrombocytopenia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

YANG Lin[1], *YU Jing*[1], *YANG Jizhang*[2], *LIU Aixia*[3], *ZHANG Yanjing*[1], *LIU Yan*[1], *WANG Lingjiao*[1]

(1. The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, China 050031; 2. Clinical Drug Testing Center, Bejing Tsinghua Changgung Hospital Affiliated to Tsinghua University · School of Clinical Medicine, Tsinghua University, Beijing, China 100084; 3. The Fourth Hospital of Handan, Handan, Hebei, China 056200)

Abstract: Objective　To predict the mechanism of Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombocytopenia based on network pharmacology and molecular docking. **Methods**　The components and their targets of Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombocytopenia were screened from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and the GeneCards database. The component－target network was constructed by Cytoscape 3.9.1 software. The protein－protein interaction (PPI) network was established by the String database. Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were conducted by the Metascape platform. Autodock Vina software was used for molecular docking. **Results**　A total of 88 active ingredients and 159 common targets were obtained. Key pathways included cancer pathway, advanced glycation end products－multiple－ligand receptor－advanced glycation end products (AGE－RAGE) signaling pathway in diabetes complications, lipid and atherosclerosis, etc. Quercetin, kaempferol and β－sitosterol were obtained as three important components, and TP53, AKT1 and JUN were obtained as three key targets. The minimum binding energy of molecular docking was lower than－5.0 kcal/mol. **Conclusion**　Jinjuan Shengban Capsules may act on potential core targets such as TP53, AKT1 and JUN through key active ingredients such as quercetin, kaempferol and β－sitosterol, regulating pathways such as pathways in cancer, AGE－RAGE signaling pathway in diabetic complications and lipid and atherosclerosis, thereby playing a role in treating thrombocytopenia.

Key words: Jinjuan Shengban Capsules; thrombocytopenia; network pharmacology; molecular docking; mechanism

金卷升板胶囊是依据河北医科大学第一医院协定处方制成的院内制剂，拟申报注册，主治原发性免疫性血小板减少症。由黄芩、茜草、白术、紫草、地锦草、卷柏、山药、大黄、金银花等10味中药材组方，具有清热解毒、凉血止血、通经止血、升血小板等功效[1]。中药复方的疗效通过多种有效成分间的共同作用，通过多环节、多靶点、多步骤共同发挥作用，与血小板减少症多因素的致病机制切合，故采用中药治疗血小板减少症越来越受到重视。以往研究集中于金卷升板胶囊的临床前研究[2－6]，本研究中基于网络药理学及分子对接技术探

*基金项目：河北中医药管理局科研计划项目[2021128]。

第一作者：杨琳，女，回族，硕士，药师，研究方向为临床药学，（电话）0311－87156675（电子信箱）429018023@qq.com。

△通信作者：王玲娇，女，硕士，副主任药师，研究方向为临床药学，（电子信箱）327239256@qq.com。

讨其治疗血小板减少症的作用机制，为临床研究提供理论基础。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 活性成分与靶点收集

利用中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP），https：// old. tcmsp - e. com / tcmsp. php / ）检索金卷升板胶囊中黄芩、茜草、白术、紫草、地锦草、卷柏、山药、大黄、金银花的化学成分，筛选条件为口服生物利用度（OB）≥ 30%且药物相似性（DL）≥ 0. 18。利用TCMSP数据库获得金卷升板胶囊中每个成分对应的靶蛋白，导入UniProt数据库（https：// www. uniprot. org / ），获取每个靶蛋白所对应的靶基因，合并去重。采用Cytoscape 3. 9. 1软件，构建成分 - 靶点网络，即为金卷升板胶囊的潜在作用靶点。

1.2 成分 - 靶点网络构建

以 Thrombopenia 为关键词，在 GeneCards 数据库（https：// www. genecards. org / ）中检索及筛选靶点基因，得到血小板减少症的疾病靶点，利用 Venny 2. 1 平台与金卷升板胶囊的潜在作用靶点取交集，获得金卷升板胶囊治疗血小板减少症的共有靶点，保留对靶点集具有调控作用的化学成分，作为金卷升板胶囊治疗血小板减少症的活性成分。将活性成分和共有靶点导入 Cytoscape 3. 9. 1 软件，构建金卷升板胶囊治疗血小板减少症的成分 - 靶点网络。

1.3 基因本体论（GO）功能分析及京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析

将共有靶点导入Metascape数据库（https：// metascape. org / gp / index. html# / main / step1），对靶点的 GO 功能及 KEGG 通路进行富集分析。以 $P < 0.05$ 为筛选条件，获得金卷升板胶囊治疗血小板减少症的 GO 与 KEGG 富集分析结果。

1.4 蛋白 - 蛋白相互作（PPI）网络构建

将共有靶点上传至 String 数据库（https：// string - db. org / ），选择物种为人类，设置 confidence > 0. 7，获得靶点间的互作关系，得到金卷升板胶囊治疗血小板减少症的 PPI 网络，并确定金卷升板胶囊治疗血小板减少症的前 30 个核心靶点。

1.5 关键靶点的分子对接验证

通过分子对接技术分析金卷升板胶囊关键成分与关键靶点的相互作用。选择网络中筛选出的重要化合物和核心靶点进行后续的分子对接分析。通过 UniProt 数据库查找所选基因对应的蛋白质。对应蛋白的三维结构通过 RCSB PDB 数据库（https：// www. rcsb. org / ）进行下载，配体分子的结构通过 PubChem 数据库（https：// pubchem. ncbi. nlm. nih. gov / ）进行下载，并借助 ChemDrew 3D 软件进行能量最小化处理和输出三维结构[7]。利用 Autodock Vina 软件对蛋白质进行脱水、加氢、电荷计算等。设置小分子配体结合的活性口袋位点为受体蛋白对接位点。利用 Autodock Vina 软件将所选受体蛋白与金卷升板胶囊活性成分的小分子配体进行分子对接，并用 PyMOL 2. 5. 0 软件进行可视化分析。

2 结果

2.1 活性成分及靶点

对 TCMSP 数据库中金卷升板胶囊所有化学成分及其相关靶点进行检索，按 OB ≥ 30% 和 DL ≥ 0. 18 的标准筛选，共获得化学成分 94 个；化学成分对应的药物作用靶点经去重后获得 236 个潜在作用靶点。详见图 1。

2.2 药物活性成分 - 疾病靶点网络的构建

通过 GeneCards 数据库收集到血小板减少症相关靶点 4 356 个，利用 Venny 2. 1 平台将金卷升板胶囊成分的潜在作用靶点与血小板减少症疾病靶点取交集，

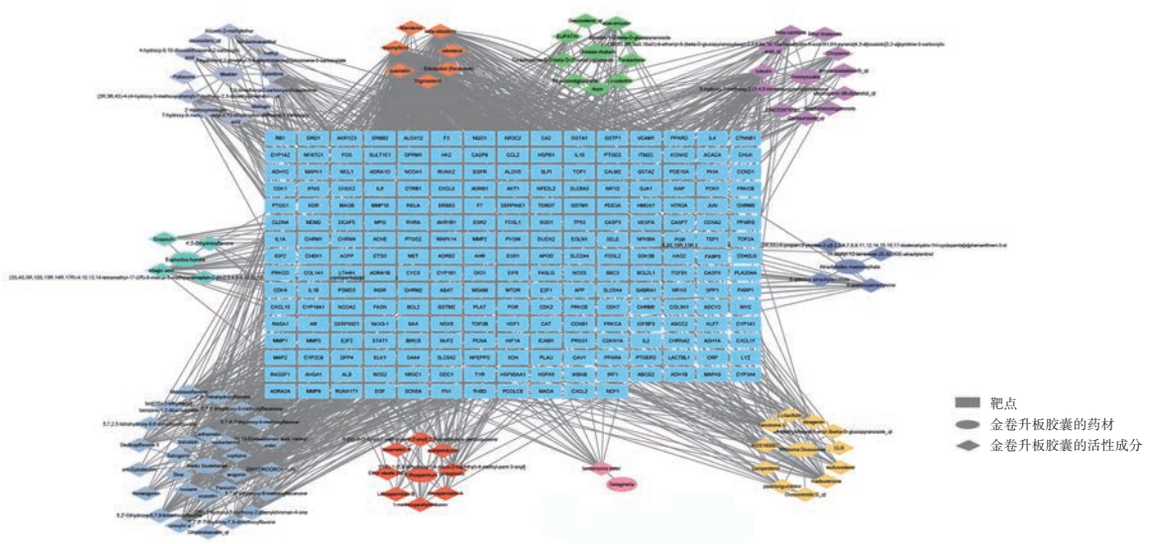


图 1 金卷升板胶囊的成分 - 靶点网络

Fig. 1 Component - target network of Jinjuan Shengban Capsules

共获得159个共有靶点，详见图2。将金卷升板胶囊的化学成分与共有靶点相对应，获得88个对靶点具有潜在作用的活性成分，导入Cytoscape 3.9.1软件中构建成分－靶点网络（图3）。对活性成分进行拓扑分析，度值排名前3位的分别为槲皮素（度值226）、山柰酚（度值72）和β－谷甾醇（度值64）。

2.3 PPI网络

将金卷升板胶囊的抗血小板减少症靶点数据导入String数据库，构建基因靶点的PPI网络（图4）。节点度值越高，表明靶点间的相关性越好。选择度值排名前30

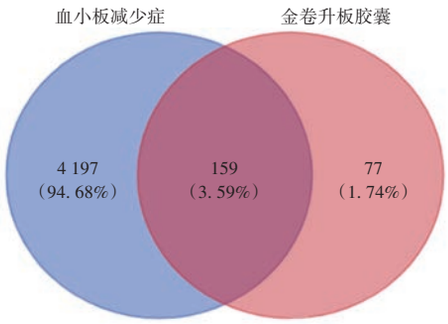


图2 药物活性成分－疾病靶点维恩图

Fig. 2 Venn diagram of active ingredients－disease targets

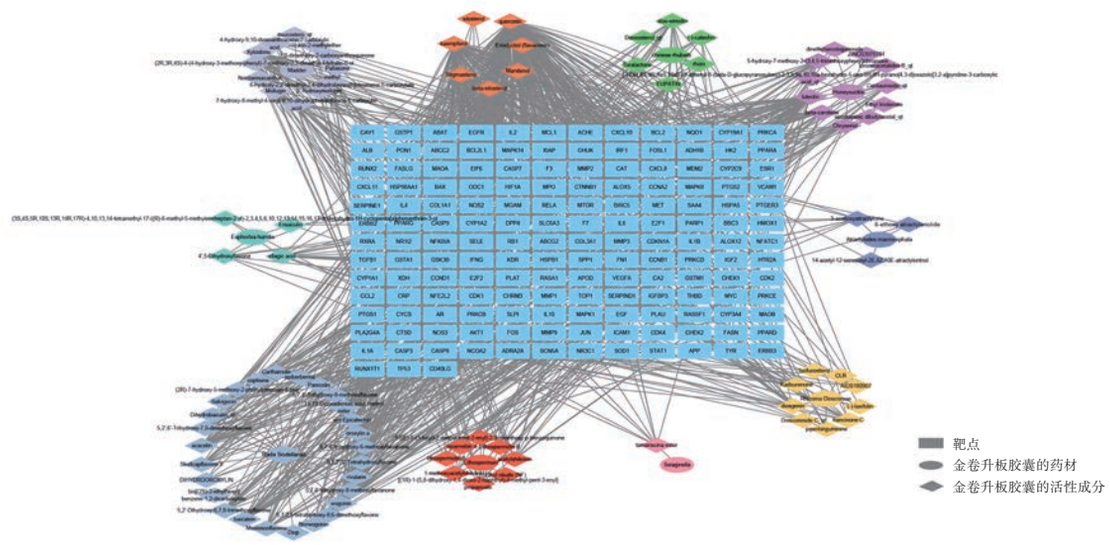


图3 金卷升板胶囊治疗血小板减少症的成分－靶点网络

Fig. 3 Component－target network of Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombopenia

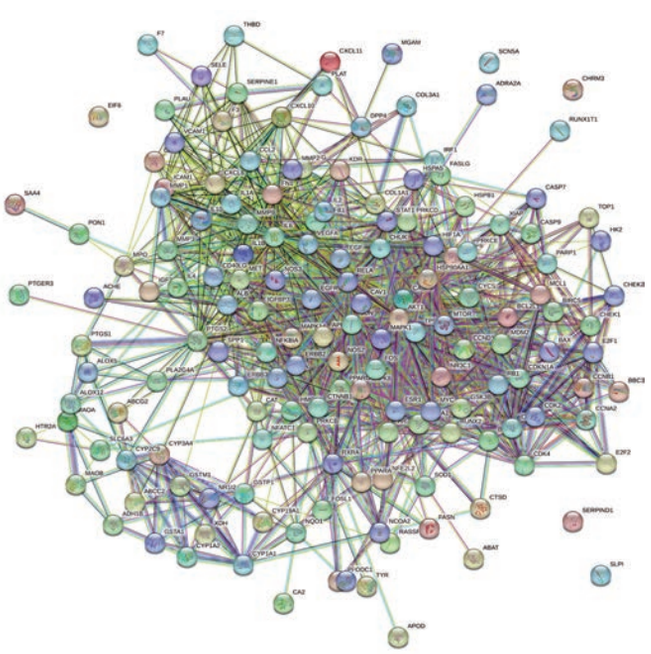


图4 金卷升板胶囊治疗血小板减少症基因靶点的PPI网络

Fig. 4 PPI network of gene targets of Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombopenia

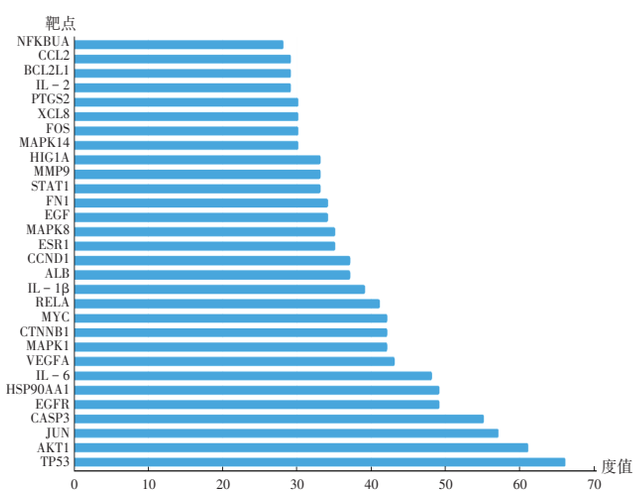


图5 金卷升板胶囊治疗血小板减少症度值排名前30的核心靶点

Fig. 5 Top 30 key targets of Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombocytopenia in terms of degree values

的靶点作为核心靶点，详见图5。

2.4 GO功能富集分析

利用Metascape数据库对159个共有靶点进行GO功能富集分析，以$P < 0.05$为筛选条件，并根据其P值的顺

序列出前20条结果(图6)。结果显示,金卷升板胶囊治疗血小板减少症与对无机物质的反应、对外源性刺激的反应、对激素的反应、对脂多糖的反应、对细胞迁移的正调节等过程有关。

2.5 KEGG通路富集分析

利用Metascape数据库对159个共有靶点进行KEGG通路富集分析,以$P<0.05$为筛选条件,并根据其P值的顺序列出前20条(图7至图9)。结果显示,金卷升板胶

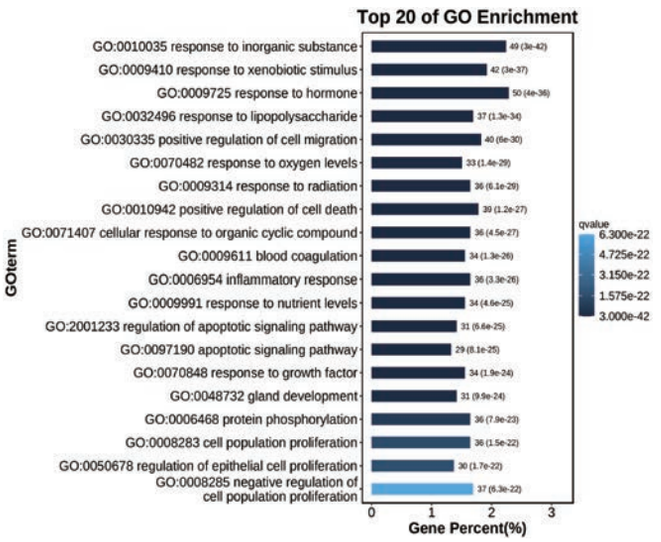


图6 金卷升板胶囊治疗血小板减少症的GO功能富集分析结果

Fig. 6 GO enrichment analysis results of Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombopenia

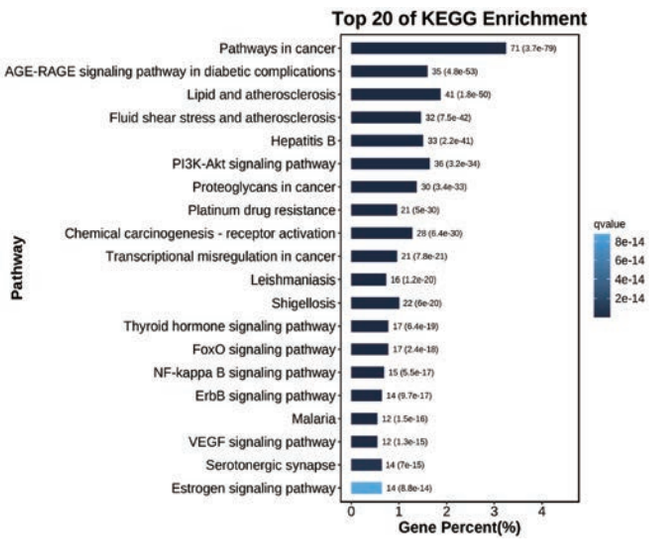
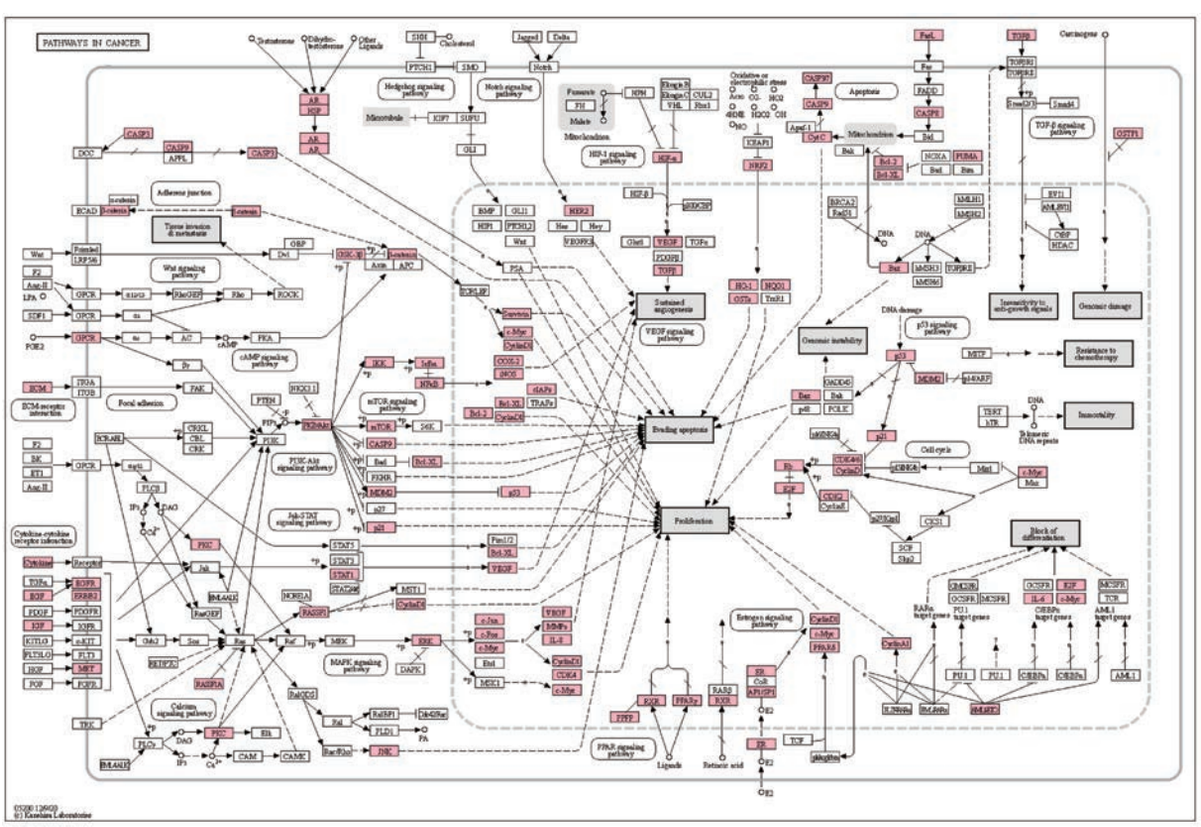


图7 金卷升板胶囊治疗血小板减少症的KEGG通路富集分析结果

Fig. 7 KEGG pathway enrichment analysis results of Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombocytopenia



注:红色的节点代表金卷升板胶囊治疗血小板减少相关的靶点。图9同。

图8 KEGG通路富集分析中癌症通路

Note: the red nodes refers to the targets related to Jinjuan Shengban Capsules in the treatment of thrombocytopenia (for Fig. 8 – 9).

Fig. 8 Cancer pathway in KEGG pathway enrichment analysis

囊治疗血小板减少症主要涉及癌症通路、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物－晚期糖基化终末产物的多配体受体(AGE－RAGE)信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路等。

2.6 活性化合物和关键蛋白的分子对接验证

选择槲皮素、山柰酚和β－谷甾醇3个重要化合物，以及度值排前3位的靶点TP53，AKT1，JUN作为核心靶点进行分子对接分析。分子对接结果表明，槲皮素、山柰酚和β－谷甾醇与TP53，AKT1，JUN的最小结合能均小于－5.0 kcal/mol，结合力良好。详见图10至图11。

3 讨论

金卷升板胶囊方中，金银花为君药，具有凉血化

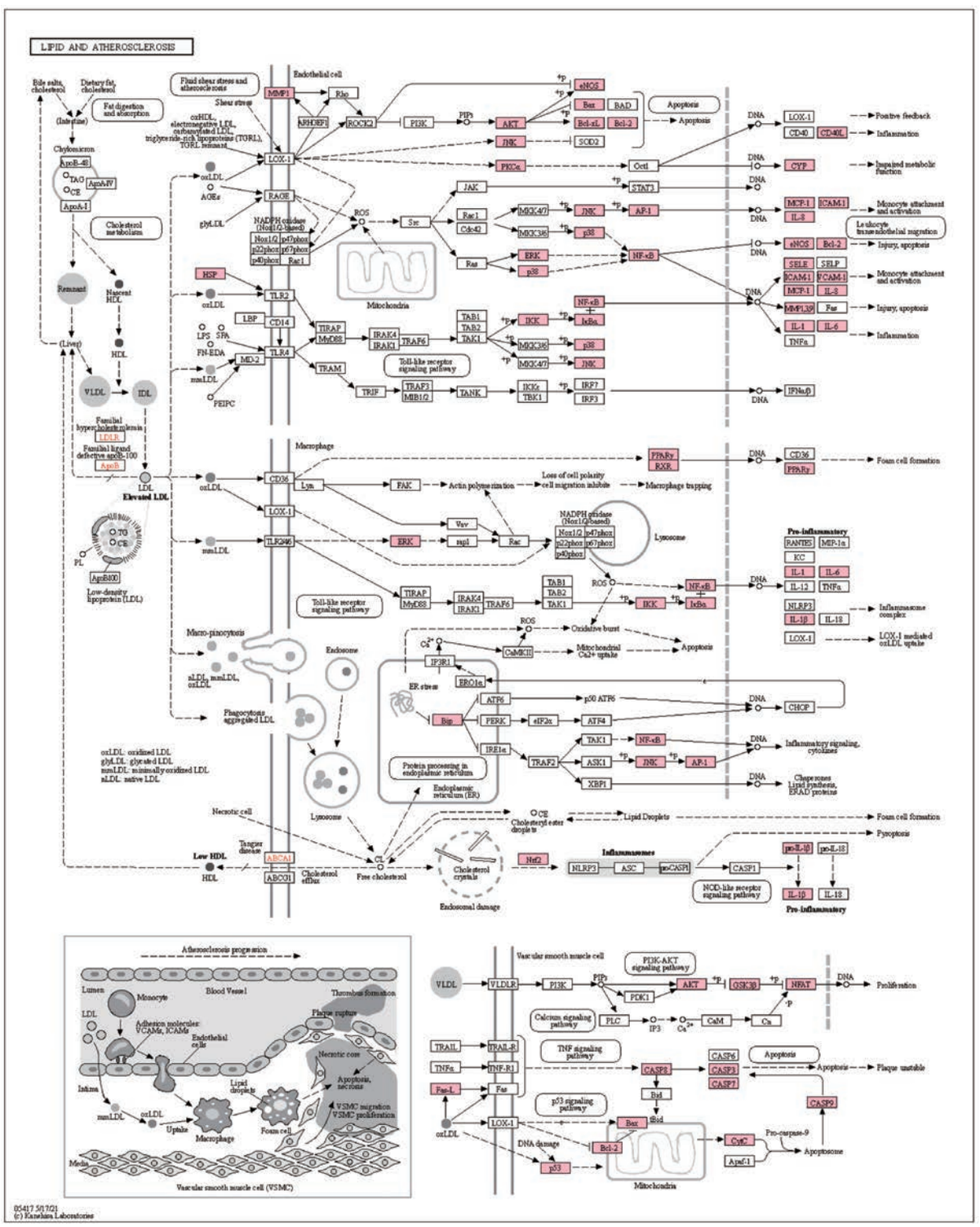


图9 KEGG通路富集分析中脂质和动脉粥样硬化信号通路

Fig. 9 Lipids and atherosclerosis signaling pathways in KEGG pathway enrichment analysis

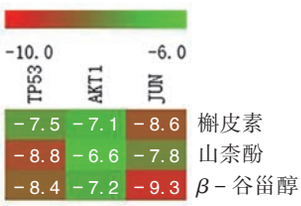
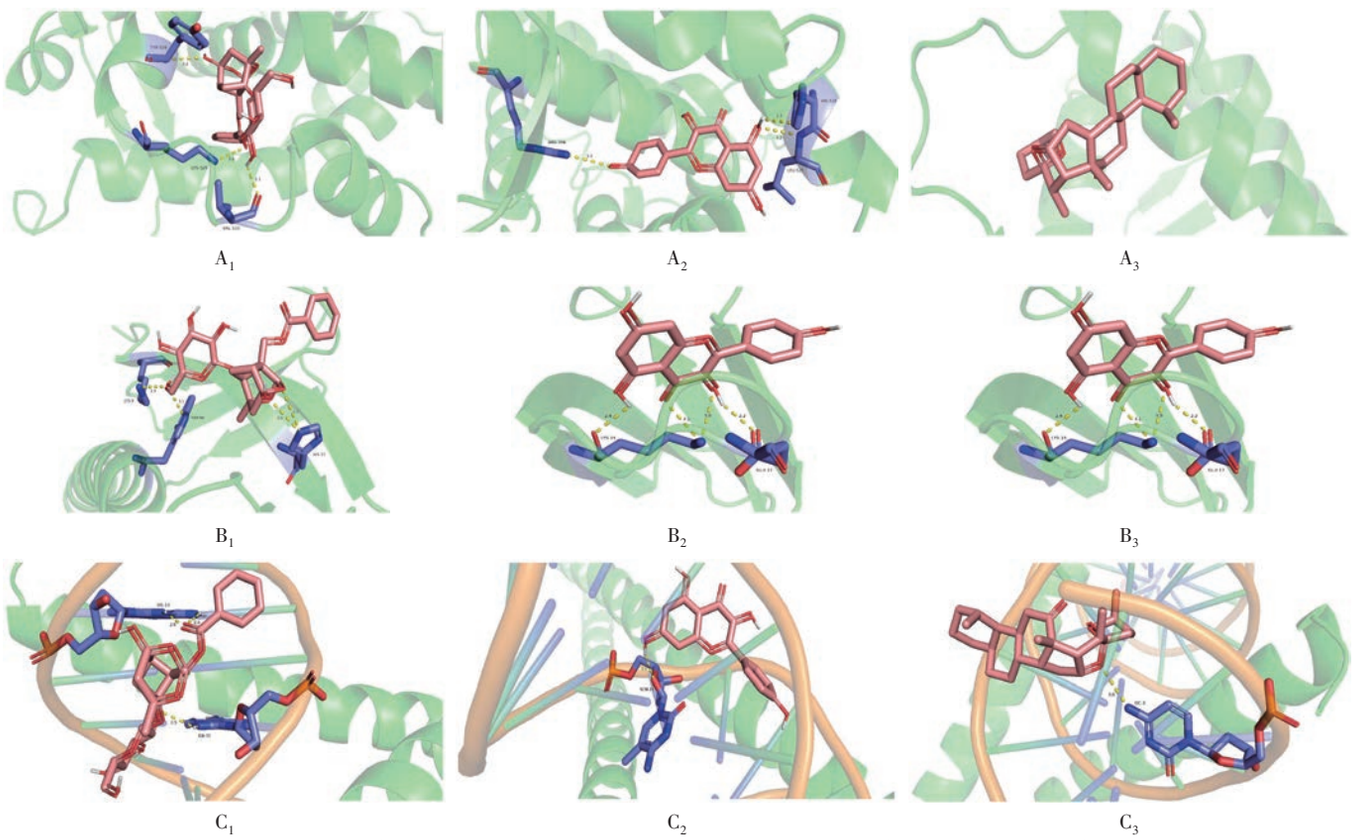


图10 药物活性成分与核心靶点分子对接结果热图

Fig. 10 Heat map of molecular docking results of active ingredients and key targets

痰、解热止血、调节免疫等功效；黄芩为臣药，具有凝血排毒、调节免疫等功效；地锦草为佐药，具有凉血散血、解毒止痢等功效。金卷升板胶囊能解毒散瘀、清热凉血、止血通络，主治各种血小板减少症[8-10]。

本研究中采用网络药理学和分子对接技术探讨了金卷升板胶囊治疗血小板减少症的有效活性成分、核心作用靶点与潜在作用机制。共获得88个金卷升板胶囊治疗血小板减少症的活性成分，其中度值排序



A_1. TP53 - 槲皮素 A_2. TP53 - 山柰酚 A_3. TP53 - β - 谷甾醇 B_1. AKT1 - 槲皮素 B_2. AKT1 - 山柰酚 B_3. AKT1 - β - 谷甾醇 C_1. JUN - 槲皮素 C_2. JUN - 山柰酚 C_3. JUN - β - 谷甾醇

图11 药物活性成分与核心靶点分子对接构象图

A_1. TP53 - quercetin A_2. TP53 - kaempferol A_3. TP53 - β - sitosterol B_1. AKT1 - quercetin B_2. AKT1 - kaempferol B_3. AKT1 - β - sitosterol C_1. JUN - quercetin C_2. JUN - kaempferol C_3. JUN - β - sitosterol

Fig. 11 Conformational map of molecular docking of active ingredients and key targets

前3位的为槲皮素、山柰酚和β-谷甾醇。梁明露[11]研究认为，槲皮素可能通过抑制磷脂酰肌醇-3-激酶-丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶B-糖原合成酶激酶3β（PI3K-AKT-GSK3β）、丝裂原激活蛋白激酶-细胞外信号调节激酶1/2（MAPK-ERK1/2）、脾酪氨酸激酶-磷脂酶Cγ2（Syk-PLCγ2）通路，抑制血小板的聚集、释放、黏附和扩展，从而发挥抗血小板作用。山柰酚具有抗炎、调节免疫等作用。β-谷甾醇能调节免疫失衡，降低炎性因子水平[12]。为明确共有靶点间的相互作用，构建PPI网络，并对构建的网络进行拓扑分析，筛选出了前30个基因靶点。其中，AKT1在血小板激活通路中发挥重要作用，可对血小板活化产生影响[13]。JUN是异二聚体转录因子AP-1的主要组成部分，也是细胞增殖和凋亡的关键驱动因素。各种生长因子、细胞因子和应激刺激c-JUN的激活，进而调节生物过程。任晓梅等[14]研究发现，JUN基因对血小板减少症的病情进展具有预测能力，可能通过调节肿瘤坏死因子（TNF）信号通路而发挥生物学作用。黄伟等[15]研究认为，TP53可能是治疗血小板减少症的关键基因。因此，选择这3个基因作为关键靶点与活性成分进行分子对接。

通过GO功能富集分析发现，金卷升板胶囊对血小

板减少症的治疗作用与对无机物质的反应、对外源性刺激的反应、对激素的反应、对脂多糖的反应、对细胞迁移的正调节等过程有关。通过 KEGG 通路富集分析发现，金卷升板胶囊治疗血小板减少症的靶点显著富集于癌症通路、糖尿病并发症中的 AGE－RAGE 信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路，显示金卷升板胶囊通过以上多个通路来发挥治疗血小板减少症的作用。其中，抗癌通路中的 PI3K / AKT 信号通路可抑制细胞增殖和促进细胞凋亡，进一步推测其通过此通路来调控 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞的增殖、凋亡、分化，促进 T 淋巴细胞亚群数量与功能的平衡，影响相关细胞因子白细胞介素 2、白细胞介素 10、转化生长因子－β_1 的分泌，以减少抗血小板自身抗体的产生。研究显示，PI3K－AKT 通路通过调节血小板自噬能力而发挥血小板保护作用[16]。前列腺素可能通过调节 PI3K / AKT 磷酸化来抑制血小板的活化和聚集，从而改善血小板减少症患者出现的前列腺素水平升高和血小板活化聚集度降低[17]。AGE－RAGE 信号通路与血管损伤和炎性反应有关，该信号通路中的炎性因子 TNF 和白细胞介素 18 与血管损伤有关。而炎性因子可被认为是血小板减少症中血小板活化和免疫失衡的诱导剂[18－19]。分子对接结果表明，金卷升板胶囊中槲皮素、山柰酚和 β－谷甾醇与 TP53，AKT1，JUN 这 3 个靶蛋白的亲和力较强，可认为其构象稳定，并具有结合活性，但其结果的可靠性还需深入研究，并佐以生物实验回证。

本研究中初步探讨了金卷升板胶囊治疗血小板减少症的作用机制，并为其临床研究提供了理论依据。但存在一定局限性，研究使用的数据库内容及软件功能还不全面，有待补充及完善。利用计算机模拟分子间的相互结合来验证药物活性成分作用的可靠性也需与动物实验或细胞实验结合来作进一步验证。

综上所述，金卷升板胶囊可能是通过槲皮素、山柰酚、β－谷甾醇等关键活性成分，作用于 TP53，AKT1，JUN 等潜在核心靶点，调控癌症通路、糖尿病并发症中的 AGE－RAGE 信号通路、脂质和动脉粥样硬化信号通路等，从而发挥治疗血小板减少症的作用。

参考文献

[1] 黄　琪，李丽丽，程春松，等．黄芩炭对早孕流产大鼠子宫出血保护作用及机制研究[J]．中国中药杂志，2019，44(21)：4691－4697.

[2] 王玲娇，高　先，刘清池，等．多指标综合评分结合响应面法优选金卷升板胶囊的超声提取工艺[J]．中国药房，2019，30(13)：1781－1786.

[3] 王玲娇，杨　亮，张振杰，等．四波长融合指纹图谱评价金卷升板胶囊质量[J]．中国药业，2019，29(18)：29－31.

[4] 李雅廉，于　静，郭智敏，等．金卷升板胶囊挥发性成分气相色谱－质谱联用指纹图谱研究[J]．中国药业，2022，31(7)：64－67.

[5] 韩艳丛，杨　琳，韩利平，等．HPLC－MS / MS 测定大鼠血浆中金卷升板胶囊 8 种有效成分及药动学研究[J]．中国药师，2022，25(12)：2087－2093.

[6] 韩艳丛，杨　琳，郑玉玲，等．金卷升板胶囊对模型大鼠血小板减少的改善作用[J]．中国药业，2023，32(6)：39－42.

[7] KIM S，CHEN J，CHENG T，et al. PubChem in 2021：new data content and improved web interfaces[J]. Nucleic Acids Res，2021，49(D1)：D1388－D1395.

[8] 刘清池，高习华，王淑珍，等．凉血解毒法对免疫性血小板减少症患者 T 淋巴细胞亚群的调节作用[J]．河北中医，2013，35(5)：652－658.

[9] 刘清池，王淑珍，冯寿歧，等．凉血解毒法治疗紫癜病崩漏 30 例疗效观察[J]．河北中医，2014，36(11)：1633－1634.

[10] 刘清池，王淑珍，冯寿歧，等．凉血解毒方药对原发免疫性血小板减少症患者外周血 $CD_4^+CD_{25}^+$ 调节性 T 细胞水平的影响[J]．河北医药，2015，37(7)：977－980.

[11] 梁明露．五甲基槲皮素抗血小板及抗血栓作用研究[D]．武汉：华中科技大学，2016.

[12] 贾菊芳，曾梦楠，张贝贝，等．β－谷甾醇对 OVA 诱导的过敏性哮喘大鼠模型中 Th17 / Treg 免疫失衡的调节[J / OL]．中国免疫学杂志：1－15[2023－02－10]. http：//kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.r.20221208.1504.001.html.

[13] WANG MJ，SUN Y，SONG Y，et al. Mechanism and Molecular Targets of Ejiao Siwu Decoction for Treating Primary Immune Thrombocytopenia Based on High－Performance Liquid Chromatograph，Network Pharmacology，Molecular Docking and Cytokines Validation[J]. Front Med（Lausanne），2022，9：891230.

[14] 任晓梅，刘启玲，辛　宝，等．急慢性特发性血小板减少性紫癜患儿的差异表达基因特征及交互作用网络分析[J]．中国医学科学院学报，2018，40(2)：225－232.

[15] 黄　伟，罗雅琴，王　晓．维血宁颗粒治疗免疫性血小板减少症的网络药理作用机制研究[J]．中国药物警戒，2021，18(11)：1048－1054.

[16] 郭新新，白　辰，王玺玺，等．基于网络药理学分析扶正解毒经验方治疗儿童原发免疫性血小板减少症作用机制[J]．国际中医中药杂志，2022，44(7)：801－806.

[17] 余庆乐，李　嘉，刘晓燕，等．糖皮质激素在儿童原发性免疫性血小板减少症治疗中的应用及对 miR－15a 表达的影响[J]．中国优生与遗传杂志，2021，29(1)：80－83.

[18] 李　健，许　华，王　兵，等．白细胞介素－18 在脓毒症血小板减少症中的表达及临床意义[J]．实用医学杂志，2018，34(2)：205－208.

[19] WANG CY，MA S，BI SJ，et al. Enhancing autophagy protects platelets in immune thrombocytopenia patients[J]. Ann Transl Med，2019，7(7)：134.

（收稿日期：2023－04－25；修回日期：2023－08－01）