

基于网络药理学与分子对接探究罗布麻叶抗乳腺癌的作用机制

李家豪² 王婷¹ 李倩² 郭楚燕¹ 赵伟伟^{1*}

1. 塔里木大学生命科学与技术学院；塔里木盆地生物资源保护利用兵团重点实验室 - 省部共建国家重点实验室培育基地
新疆阿拉尔 843300

2. 塔里木大学化学化工学院 新疆阿拉尔 843300

摘要：目的：采用网络药理学结合分子对接技术，深入探讨新疆特色民族药罗布麻叶治疗乳腺癌的潜在机制，旨在为其临床治疗及药物应用提供坚实的科学理论基础。方法：利用 TCMSp 数据库和文献资料，筛选出罗布麻叶中的有效成分，SwissTargetPrediction 数据库进行相关的靶点预测和分析。利用 GeneCards、OMIM 和 GEO 数据库筛选乳腺癌的关键靶点，Venn 网计算与绘制维恩图，STRING 数据库中构建蛋白之间的相互作用网络，再将关键交集靶点导入 DAVID 数据库进行 GO 动态富集研究，采用 Cytoscape 3.7.0 软件开展 KEGG 通路富集分析和构建“罗布麻叶活性成分 - 靶点 - 乳腺癌 - KEGG 通路”网络，最后通过 lipstick dock 分子对接技术进行分子对接验证。结果：筛选出罗布麻叶中的 10 种活性成分可以通过 MAPK3、PTGS2、CDK2 等这些预测性生物靶标和 VEGF、PI3K-AKT、MAPK 等富集通路控制信号传导发挥重要的抗乳腺癌的作用。分子对接结果表明潜在活性成分木犀草素、山柰酚等与 PTGS2、PIK3R1 和 CDK2 关键靶蛋白均能稳定结合。结论：本研究筛选出罗布麻叶的抗乳腺癌的关键成分，初步验证其抗癌作用靶点及机制，为抗乳腺癌作用机制研究提供一定的参考。

关键词：罗布麻；网络药理学；分子对接；乳腺癌；靶点

乳腺癌已作为女性中最常见的恶性肿瘤类型之一，对女性身心健康构成了极大的挑战。根据世界卫生组织国际癌症研究机构最新发布的 2022 年全球最新癌症负担数据，全球新发乳腺癌病例达 230 万例，同时约有 67 万女性死于乳腺癌^[1]。中国是乳腺癌大国，根据国家癌症中心最新发布数据，2022 年新发乳腺癌约 36 万例，近 8 万人死亡^[2]。罗布麻广泛分布于辽宁、新疆等地，其中以新疆塔里木河边缘地区的罗布麻资源最为丰富。罗布麻富含黄酮、苷类等物质，具有抗炎、增强免疫功能、保肝等作用 [3-4]。但罗布麻抗癌的主要物质基础与抗乳腺癌的效应机理尚未明确。因此，本研究在网络药理学与分子对接技术基础上，系统地揭示罗布麻叶抗乳腺癌的主要的活性成分与靶点机制，从而为罗布麻叶在抗癌领域的临床应用及后续研究奠定了坚实的理论基础。

1. 材料与方法

1.1 罗布麻叶活性成分筛选

以“罗布麻叶”为检索词，利用中药系统药理学分析平台 (TCMSp, <https://tcmspw.com/tcmsp.php>) 数据库筛选

罗布麻叶的所有的化学成分，共查询到罗布麻叶中的 56 个化学成分。依据研究方法设定，以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (DL) ≥ 0.1 ^[5] 条件下筛选出罗布麻叶抗乳腺癌活性成分。

1.2 活性成分与乳腺癌疾病作用靶点的收集

依据筛选出的化合物成分，在 PubChem (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) 数据库中确定化合物的结构，将化学式导入 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/index.php>)，对潜在作用靶点预测分析。以“Breast Cancer”作为检索词，在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 与 OMIM 数据库 (<https://omim.org>) 中进行筛选，和基因表达数据库 (GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)，以寻找与乳腺癌疾病相关的特定靶点。筛选出罗布麻叶活性成分 - 乳腺癌 - GEO 数据库共有的作用靶点基因，绘制 Venn 图。

1.3 靶蛋白相互作用的构建

为了系统地研究罗布麻叶抗乳腺癌靶蛋白间的相互作用，将获得的 78 共同的作用靶点导入到蛋白质之间相互作

用的数据库平台 (String, <https://string-db.org/>)，物种设置为“Homo sapiens (人类)”，取得罗布麻叶抗乳腺癌靶蛋白的相互作用的网络图。

1.4 GO 功能富集分析与 KEGG 通路富集分析

将 78 个交集靶点蛋白基因导入基因注释、可视化和集成发现的数据库 (DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/>) 进行 GO 动态富集分析^[6]，得到 GO 动态富集结果，使用 Cytoscape 3.7.0 软件中 ClueGO 功能对其交集关键靶点进行 KEGG 通路富集分析，绘制“通路”网络图。

1.5 构建罗布麻叶活性成分 - 靶点 - 乳腺癌 - KEGG 通路网络

采用 Cytoscape 3.7.0 工具构建“罗布麻叶活性成分 - 靶点 - 乳腺癌 - KEGG 通路”之间的网络，并进行可视化分析。在网络中，各个节点代表活性化合物、靶点、乳腺癌和 KEGG 通路，而边则用来展现活性成分 - 靶点 - 乳腺癌 - 通路之间的相互作用关系。

1.6 分子对接

选择 PPI 网络中的靶蛋白，利用 PDB 蛋白质数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载 3D 结构，通过 PubChem 数据库获取罗布麻叶活性成分的化学结构。利用 lipstick dock 分子对接技术进行分子对接，进行可视化处理。

2. 结果

2.1 罗布麻叶中有效成分筛选情况

通过 TCMSP 数据库筛选，以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.1$ 作为标准，筛选出具有显著药理作用的成分，分别为谷甾醇、山柰酚等 10 个成分被认为是具备抗乳腺癌潜力的活性成分 (表 1)。

表 1 罗布麻叶活性成分

Mol ID	Molecule Name	OB (%)	DL
MOL000359	Sitosterol	36.91	0.75
MOL000004	Procyanidin B1	67.87	0.66
MOL000422	Kaempferol	41.88	0.24
MOL004746	(E,7S,11R)-3,7,11,15-Tetramethylhexadec-2-en-1-ol	33.82	0.13
MOL000492	(+)-Catechin	54.83	0.24
MOL002003	(-)-Caryophyllene oxide	32.67	0.13
MOL005723	Phytodolor	52.32	0.1
MOL000006	Luteolin	36.16	0.25
MOL006469	Morkit	56.1	0.14
MOL000073	ent-Epicatechin	48.96	0.24

2.2 罗布麻叶抗乳腺癌靶点的筛选结果

我们得到 10 个罗布麻叶中的化合物，预测得到 543 个潜在作用靶点。在 GeneCards 与 OMIM 数据库中筛选出 2621

个与 GEO 数据库筛选出 4479 个乳腺癌相关的潜在靶点。通过对筛选的潜在靶点对比，得到 78 个靶点对乳腺癌有直接或间接的关系 (图 1)。

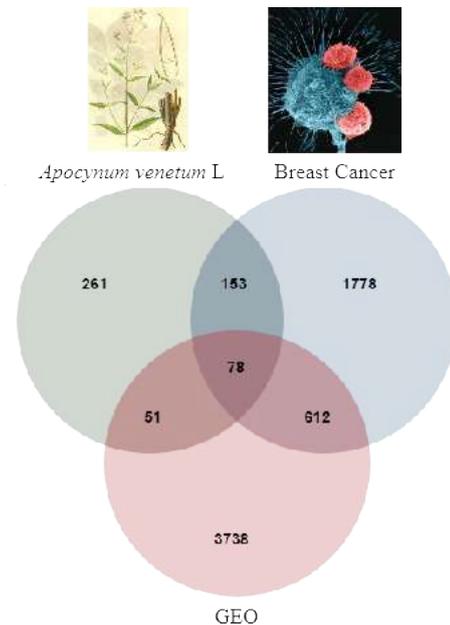


图 1 罗布麻 - 乳腺癌 - GEO 靶点韦恩分析图

2.3 靶点蛋白互作网络的构建情况

将 78 个交集的关键作用靶点输入 STRING 蛋白质相互作用数据库，探索其与靶基因的交互作用，建立蛋白质 - 蛋白质互作网络图 (如图 2)。

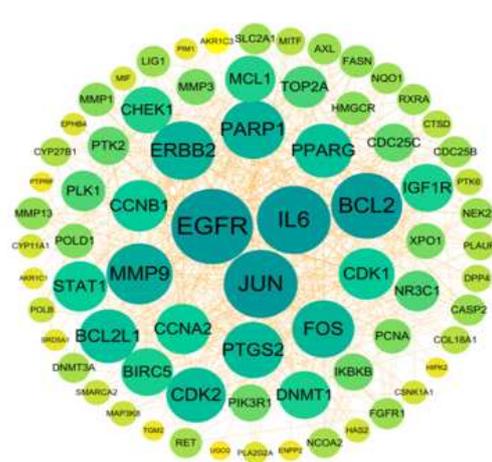


图 2 PPI 网络图

2.4 罗布麻叶抗乳腺癌的 GO 富集分析

利用 DAVID 数据库对 78 个交集靶点执行 GO 富集分析，共得到 362 项 GO 条目，包含 237 项生物过程 (BP) 条目，

52项细胞组成 (CC) 条目, 以及 73项分子功能 (MF) 条目。按照 P 值小于 0.01 的标准筛选出富集条目 (图 3)。

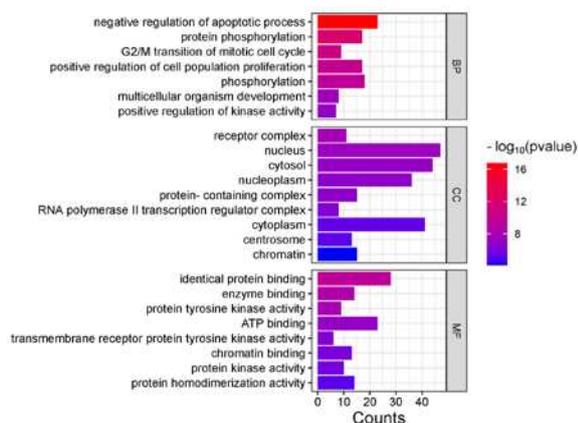


图 3 GO 分析

2.5 罗布麻叶抗乳腺癌的 KEGG 动态富集分析结果

通过对 KEGG 通路注释分析, 罗布麻叶抗乳腺癌的潜在靶点涉及 125 条相关信号通路 ($P < 0.05$), 主要涉及癌症通路、乳腺癌等信号通路, 各通路之间的联系密切, 每条通路涉及多个靶点的富集 (图 4)。

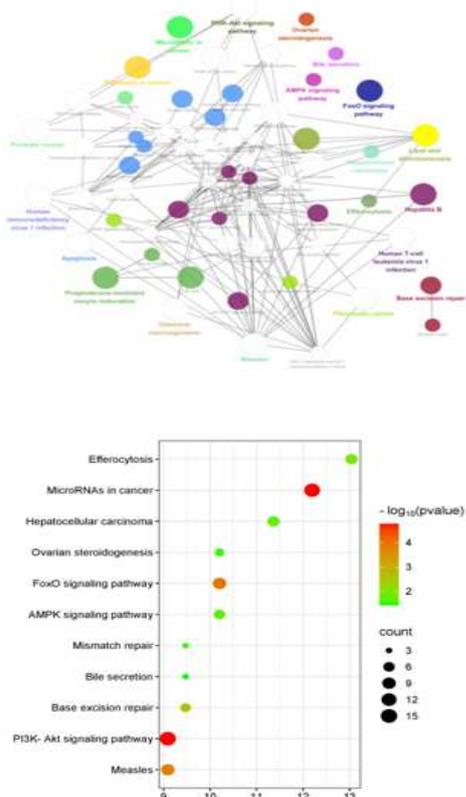


图 4 KEGG 信号通路富集分析

2.6 罗布麻叶抗乳腺癌的“罗布麻叶药效成分-靶点-乳腺癌-KEGG 通路”网络

利用 Cytoscape 3.7.0 工具, 我们成功构建“罗布麻叶活性成分-靶点-乳腺癌-KEGG 通路”网络图。该网络图由罗布麻叶中提取的 10 种活性成分、48 个靶点、乳腺癌与 KEGG 的前 20 的相关通路, 共同交织成一个密集的相互作用网络 (图 5)。

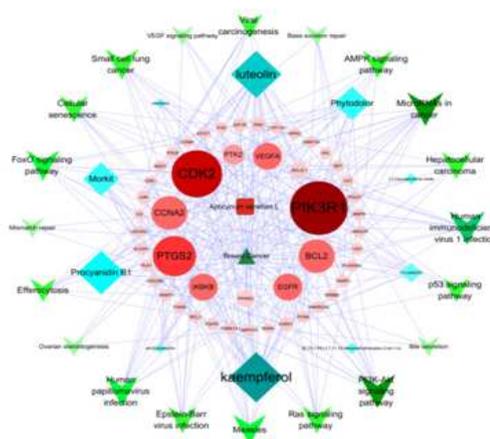


图 5 罗布麻叶药效成分-靶点-乳腺癌-KEGG 通路网络

注: 深绿色代表乳腺癌; 蓝色代表罗布麻叶活性成分; 浅绿色代表通路; 红色代表靶点; 线段代表四者之间的关系。

2.7 罗布麻叶抗乳腺癌的分子对接结果

Lipstick dock 分子对接是通过 LibDockScore 评分评价配体与受体之间的亲和力。对罗布麻叶中重要活性成分、小分子抑制剂与关键蛋白靶点进行分子对接结果 (图 6, 表 2)。

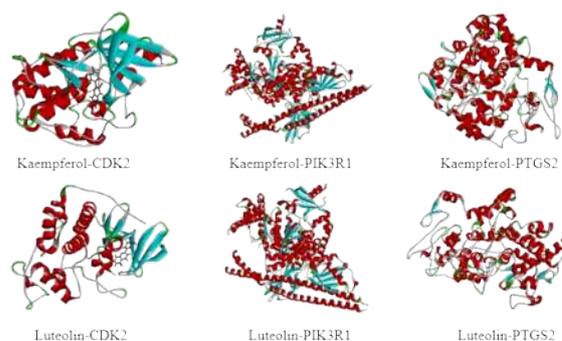


图 6 罗布麻叶活性化合物与关键靶点的分子对接模式图

表 2 罗布麻叶活性化合物与关键靶点的分子对接结果

Biological Activity	Target	PBD ID	LibDockScore
Kaempferol	CDK2	1gz8	91.1123
Kaempferol	PIK3R1	6pyu	93.8765
Kaempferol	PTGS2	5kir	102.91
luteolin	CDK2	1gz8	98.1798
luteolin	PIK3R1	6pyu	101.472
luteolin	PTGS2	5kir	124.935
PHA-793887 (small molecule CDK2 inhibitors)	CDK2	1gz8	105.351
Leniolisib (small molecule PIK3R1 inhibitors)	PIK3R1	6pyu	107.847
Celecoxib (small molecule PTGS2 inhibitors)	PTGS2	5kir	112.839

3. 讨论

网络药理学在药物发现与开发、作用机制阐释、疾病靶点预测等多个领域展现出巨大的应用潜力和价值。中医药在提升治疗效果、减少副作用方面对乳腺癌的治疗起到积极作用^[7]。相关临床研究表明,罗布麻叶具有抗癌的潜力^[4]。然而,罗布麻叶抗乳腺癌的机制还未得到充分的解释。本研究筛选出的主要活性成分中,有报道,山柰酚通过引发乳腺癌、肺癌等癌细胞凋亡与抑制癌细胞的生长和迁移有效抑制和治疗多种癌症^[8],木犀草素通过降低诱导 AKT/mTOR 的 H3K27Ac 和 H3K56Ac 的水平来调节 MMP9 的表达,从而抑制雄激素受体阳性三阴性乳腺癌的增殖和转移^[9]。本研究中,通过融合多项药理学与生物学的生物信息分析技术,成功获得了罗布麻叶在对抗乳腺癌过程中可能涉及 VEGFA、MAPK3、EGFR、PTGS2、CDK2、PIK3R1 等潜在生物靶标。在机制方面,罗布麻叶通过 NF- κ B 通路对人类 U87 胶质瘤细胞的凋亡有诱导作用^[10];罗布麻叶中的类黄酮化合物可以通过抑制 COX2 活性发挥保肝作用^[11]。

综上所述,本项研究通过网络药理学和分子对接技术,对罗布麻叶抗乳腺癌的作用靶点及其机制进行了深入分析,详细探讨了其有效成分与靶点之间的相互作用,为系统性研究罗布麻叶在乳腺癌治疗中的临床应用提供了坚实的科学基础。尽管如此,研究中还存在一些缺陷,比如未能精确确定有效成分的具体含量以及产生药效的实际剂量,此外,初步筛选出的有效成分、相关通路以及靶点的生物信息学分析存在一定的限制,亟待通过体内外的实验进一步确认。后期工作中,研究团队计划通过体外细胞实验和体内动物实验,进一步验证罗布麻叶抗乳腺癌方面的靶点和作用机理,为实现罗布麻叶在乳腺癌乃至癌症治疗药物的研发中提供可靠的实验数据和新的研究方向^[12]。

参考文献:

[1]Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality

worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74 (3): 229–263.

[2]Han BF, Zhen RS, Zeng HM, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022 [J]. *J Natl Cancer Cent*, 2024, 4(1): 47–53.

[3]Li C, Huang GB, Tan F, et al. In Vitro Analysis of Antioxidant, Anticancer, and Bioactive Components of Apocynum venetum Tea Extracts [J]. *J. Food Qual.*, 2019, 10 (56): 34289.

[4]陈小露,刘起棠,张洁帅,等.罗布麻叶的化学成分及药理作用研究进展 [J]. *时珍国医国药*, 2022, 33 (11): 2739–2742.

[5]裴媛,王瑞,周贺伟.罗布麻治疗高血压作用机制的网络药理学研究 [J]. *中南药学*, 2019, 17 (11): 1997–2001

[6]Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat. Protoc.*, 2009, 4 (1): 44–57.

[7]郑晓骏,张蕾,张晓君,等.中医药治疗乳腺癌的机制和临床研究进展 [J]. *中医药信息*, 2024, 41 (6): 76–81.

[8]Shahbaz M, Imran M, Alsagaby SA, et al. Anticancer, antioxidant, ameliorative and therapeutic properties of kaempferol [J]. *Int J Food Prop*, 2023, 26: 1140–1166.

[9]Wu HT, Lin J, Liu YE, et al. Luteolin suppresses androgen receptor-positive triplenegative breast cancer cell proliferation and metastasis by epigenetic regulation of MMP9 expression via the AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2021, 81: 153437.

[10]Zeng S, Zhao X, Xu LS, et al. Apocynum venetum apoptosis induction effect of polyphenol on human U87 glioma cells via NF- κ B pathway [J]. *Future Oncol*, 2019, 15 (8): 3723–3738.

[11]Chen CH, Chen FY, Gu L, et al. Discovery and validation of COX2 as a target of flavonoids in Apocyni Veneti Folium: Implications for the treatment of liver injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 326: 117919.

[12]Zhang Y, Liu S, Ma JL, et al. Apocynum venetum leaf

extract alleviated doxorubicin-induced cardiotoxicity through the AKT/Bcl-2 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2022, 94: 153815.

作者简介:

李家豪 (2001—), 男, 汉族, 本科在读。

通信作者简介: 赵伟伟, 男, 讲师, 天然产物与药理活性、

特殊制剂研究。

基金项目:

新疆维吾尔自治区“天池英才”-急需紧缺专业人才项目; 塔里木大学校长基金自然科学基金项目 (项目编号: TDZKSS202221)。