

## · 研究方法学 ·

## 基于网络药理学研究覆盆子活性成分抗肿瘤作用机制

庞敏霞<sup>1,2</sup> 陈丁江<sup>1</sup> 谢雄杰<sup>2</sup> 姚国祥<sup>2</sup>

**摘要** **目的** 采用网络药理学挖掘覆盆子抗肿瘤主要活性成分的作用靶点, 探讨其多成分、多靶点、多通路的作用机制。**方法** 通过 TCMSp 数据库, 结合口服生物利用度 ( $OB \geq 30\%$ ) 和类药性 ( $DL \geq 0.18$ ) 参数, 筛选覆盆子的活性成分; 登录 PharmMapper 服务器反向预测, 利用 Uniprot 数据库进行校正与转化, 获得潜在作用靶点; 比对 CTD 数据库筛选并整合得覆盆子抗肿瘤的潜在靶点; 通过 DAVID v6.8 数据库进行 GO 富集和 KEGG 通路注释分析; 采用 Cytoscape 3.6.1 软件构建“活性成分-靶点”网络图、“核心成分-核心靶点-核心通路”网络图。**结果** 经筛选后得到覆盆子 7 个活性成分, 63 个潜在靶点, 其中 26 条重要信号通路关联 32 个核心靶点, 聚焦在 5 个核心成分, 即谷甾醇、 $\beta$ -谷甾醇、覆盆子酸、鞣花酸、欧前胡素可能是覆盆子抗肿瘤的主要活性成分, 而 PI3K-Akt 信号通路、癌症的途径、癌症中的蛋白多糖、原癌基因蛋白信号通路、胰岛素抵抗、Rap1 信号通路可能是重要的通路。**结论** 覆盆子中富含的甾醇类、酚酸类、香豆素类等活性成分可能作用于 PPP1CC、SHBG、MAP2K1、MAPK14、RXRB、ABL1、FABP7、SULT2B1、HPGDS 等关键靶点, 通过抑制肿瘤细胞增殖和分化、诱导肿瘤细胞凋亡, 调节糖脂代谢、激素水平、炎症反应等发挥多成分-多靶点-多通路的抗肿瘤作用机制。

**关键词** 覆盆子; 网络药理学; 抗肿瘤; 作用机制

**Mechanism of Anti-tumor Effects Exhibited by *Rubi Fructus* Based on Network Pharmacology**

PANG Min-xia<sup>1,2</sup>, CHEN Ding-jiang<sup>1</sup>, XIE Xiong-jie<sup>2</sup>, and YAO Guo-xiang<sup>2</sup> 1 College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou (310012); 2 Zhejiang Yunzhitang Biotechnology Co., Ltd., Ningbo Shunyun Electronic Co., Ltd., Zhejiang (315402)

**ABSTRACT Objective** To excavate the action targets of the anti-tumor active ingredients of *Rubi Fructus*, and to explore the “multi-components-multi-targets-multi-pathways” mechanism by network pharmacology. **Methods** The active ingredients of *Rubi Fructus* were screened by combining the parameters of oral bioavailability ( $OB \geq 30\%$ ) and drug-like properties ( $DL \geq 0.18$ ) through the TCMSp database. The potential targets of the main active ingredients were further screened by the PharmMapper method, which were then corrected and transformed by the UniProt database. The potential targets of anti-tumor qualities from *Rubi Fructus* were screened and integrated by comparing with the CTD database. Gene Ontology enrichment and KEGG path annotation were analyzed by the DAVID database v6.8. The Cytoscape 3.6.1 software was used to construct the active components-targets network and the core compounds-targets-pathways network. **Results** After screening, 7 active ingredients and 63 potential targets were obtained, of which 26 important signal pathways were associated with 32 core targets, focusing on 5 core ingredients, namely sitosterol,  $\beta$ -sitosterol, fupenzic acid, ellagic acid and ammidin may be the main anti-tumor active components of *Rubi Fructus*. PI3K-Akt signaling pathway, pathways in cancer, proteoglycans in cancer, Ras signaling pathway, insulin resistance, and Rap1 signaling pathway might be important pathways. **Conclusion** Active ingredients such as sterols, phenolic acids, and coumarins rich in raspberries may act on key targets such as PPP1CC, SHBG, MAP2K1, MAPK14, RXRB, ABL1, FABP7, SULT2B1, HPGDS, etc., which play a multi-component-multi-target-multi-path

基金项目: 国家重点研发计划项目 (No. 2017YFC1702203); 浙江省博士后科研择优资助项目 (No. 219639)

作者单位: 1. 浙江大学环境与资源学院 (杭州 310012); 2. 宁波舜韵电子有限公司-浙江韵芝堂生物科技有限公司 (浙江 315402)

通讯作者: 陈丁江, Tel: 0571-88982071, E-mail: chendj@zju.edu.cn

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20210123. 004

anti-tumor mechanism by inhibiting tumor cell proliferation and differentiation, inducing tumor cell apoptosis, regulating glucose and lipid metabolism, hormone levels, inflammation, etc.

**KEYWORDS** *Rubi Fructus*; network pharmacology; anti-tumor; mechanism of action

覆盆子 (*Rubi Fructus*) 为蔷薇科植物华东覆盆子 (*Rubus chingii* Hu) 的干燥果实, 属药食同源品种、“新浙八味”之一, 其味甘、酸, 性温, 归肝、肾、膀胱经, 具益肾固精缩尿, 养肝明目功效, 主要用于遗精、滑精, 遗尿、尿频, 阳痿、早泄, 目暗昏花等<sup>[1]</sup>。覆盆子药用历史悠久, 始载于《名医别录》, 其作为传统的补肾中药, 在临床上应用广泛, 是五子衍宗丸等经典名方的主要组成<sup>[2]</sup>, 能改善肿瘤相关性疲劳<sup>[3]</sup>。现代研究表明, 覆盆子中含有萜类、黄酮类、酚酸类、有机酸类等多种化学成分, 药理学研究表明, 覆盆子具有补肾<sup>[4,5]</sup>、抗肿瘤<sup>[6]</sup>、降血压<sup>[7]</sup>、降血糖<sup>[8,9]</sup>、降血脂<sup>[10]</sup>、抗氧化<sup>[11]</sup>、抗衰老<sup>[12,13]</sup>、保肝<sup>[14]</sup>、抗炎<sup>[15]</sup>等作用。

我国对覆盆子的研究主要集中在补肾方面, 其活性成分、作用机制方面的研究刚刚起步, 由于其活性成分复杂、尚未完全明晰, 有待进一步深入研究以促进覆盆子资源的开发利用。当前癌症 (肿瘤) 已成为严重威胁人类健康和生命的一大类疾病, 中医学认为机体正气亏虚是癌症发生发展的根本原因, 肾为先天之本, 肾虚则一身正气亏虚, 虚则癌症易生; 癌症发生后也会加重肾虚, 肾虚与癌症发生发展密切相关, 随着从肾论治癌症理论逐步完善<sup>[16]</sup>, 将补肾要药的覆盆子用于防治癌症具有可行性, 然而覆盆子发挥抗肿瘤的活性成分和作用机制尚不明确。鉴于近年来网络药理学的快速发展, 越来越多的研究通过对“药物-疾病-靶点-通路”等复杂生物信息网络关系的分析与利用, 结合计算机网络分析算法对药物的作用机制进行模拟分析和预测探讨, 以系统表征药物对疾病的干预和影响, 这种分析方法具有整体性、动态性和系统性的特点, 与中药防病治病的理论一致, 给中药现代化研究提供新的思路和方法<sup>[17]</sup>。因此, 本文将借助网络药理学挖掘覆盆子的主要活性成分及其抗肿瘤的作用靶点, 从系统生物整体水平阐述覆盆子的活性成分及其抗肿瘤的作用机制, 为深入开展覆盆子的基础研究及指导临床合理用药提供理论基础。

## 材料与amp;方法

1 数据库网站和分析软件 TCMSP 数据库 (中药系统药理数据库和分析平台, <http://lsp.nwu.edu.cn/index.php>); PubChem 数据库 (有机小分子生物

活性数据库, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>); Chemical Book 数据库 (<http://www.chemicalbook.com/>); PharmMapper 服务器 (药效团匹配与潜在识别靶标平台, <http://59.78.96.61/pharmmapper>); Uniprot 数据库 (蛋白质数据库, <https://www.uniprot.org>); CTD 数据库 (比较基因组数据库, <https://ctdbase.org/>); DAVID Bioinformatics Resources 6.8 数据库 (生物学信息注释数据库, <http://david.ncifcrf.gov/>); KEGG 数据库 (信号通路数据库, <https://www.kegg.jp/>); ChemDraw 18.0、Cytoscape 3.6.1 软件等。

2 覆盆子化学成分收集与活性成分筛选 基于 TCMSP 数据库对覆盆子化学成分进行检索汇总, 然后结合口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) 和类药性 (drug-like, DL) 参数, 以  $OB \geq 30\%$  且  $DL \geq 0.18$  作为活性成分筛选条件, 筛选出 TCMSP 中具有较高活性的化合物。利用 PubChem 数据库和 Chemical Book 数据库等平台对其分子结构进行确证并采用 ChemDraw 18.0 软件绘制分子结构, 结果统一保存为 “sdf” 格式文件<sup>[18]</sup>。

3 覆盆子活性成分潜在作用靶点反向预测 登录 PharmMapper 服务器, 上传筛选后的覆盆子高活性成分的 “sdf” 格式文件, 以上传的活性小分子为探针进行靶点匹配与预测, 进而预测化合物生物活性<sup>[19,20]</sup>。本文选择预测结果中  $Fit\ Score \geq 3.5$  的靶点作为药物靶点, 再采用 Uniprot 数据库进行校正与转化操作, 输入蛋白名称并限定物种为 “Homo sapiens (Human)”, 并校正为官方名称 (Official Symbol), 获取与活性成分作用的相关蛋白靶点 (人源)。

4 覆盆子活性成分抗肿瘤靶点的筛选与网络构建分析 将反向预测获得的靶点信息与 CTD 数据库中已报道的与抗肿瘤相关的靶点进行对比分析, 筛选其中明确与抗肿瘤作用相关的靶点。采用 Cytoscape 3.6.1 软件, 根据抗肿瘤靶点的筛选结果, 构建 “活性成分-靶点” 网络图, 并通过插件 Network Analyzer 对网络特征进行相关分析, 以网络度 (degree) 和中心度 (betweenness centrality, BC) 为参数。

5 GO 富集和 KEGG 通路注释分析 采用 DAVID v6.8 数据库对上述筛选出的抗肿瘤靶点进行 GO

(gene ontology) 富集分析和 KEGG 通路注释分析, 将所得结果设置  $P < 0.05$  作为显著性强的临界值进行筛选, 将主要参数 count 值降序、次要参数  $P$  值升序排列得到结果。并通过 Cytoscape 3.6.1 软件的 Merge 功能构建覆盆子抗肿瘤的“核心成分-核心靶点-核心通路”网络图, 研究覆盆子抗肿瘤多成分、多靶点、多通路的作用。

## 结 果

1 覆盆子活性成分筛选 (表 1) 基于 TCMSP 数据库检索覆盆子中的化合物, 共收集到 110 个; 进一步以  $OB \geq 30\%$  且  $DL \geq 0.18$  作为筛选条件, 得到 7 个活性成分: 覆盆子酸 (fupenzic acid)、槲皮素 (quercetin)、鞣花酸 (ellagic acid)、山柰酚 (kaempferol)、 $\beta$ -谷甾醇 (Beta-sitosterol)、谷甾醇 (sitosterol)、欧前胡素 (ammidin)。

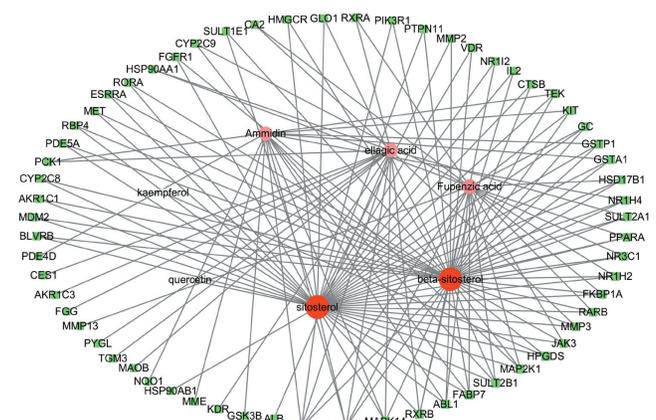
表 1 覆盆子主要活性成分参数

序号	MOL ID	活性成分	分子量	OB (%)	DL
1	MOL008433	覆盆子酸 (fupenzic acid)	484.74	51.16	0.72
2	MOL000098	槲皮素 (quercetin)	302.25	46.43	0.28
3	MOL001002	鞣花酸 (ellagic acid)	302.20	43.06	0.43
4	MOL000422	山柰酚 (kaempferol)	286.25	41.88	0.24
5	MOL000358	$\beta$ -谷甾醇 (Beta-sitosterol)	414.79	36.91	0.75
6	MOL000359	谷甾醇 (sitosterol)	414.79	36.91	0.75
7	MOL001941	欧前胡素 (ammidin)	270.30	34.55	0.22

2 覆盆子活性成分潜在抗肿瘤作用靶点筛选与网络构建分析 (表 2~4, 图 1) 根据匹配度, 将从 PharmMapper 得到的潜在作用靶点由高到低进行排序, 选择 Fit Score > 3.5 分的靶点作为药物靶点, 将得到的靶点信息与 CTD 数据库中抗肿瘤药物的靶点对比分析, 得到 63 个潜在作用靶点, 总频率为 149 次, 其中丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶 PP1- $\gamma$  催化亚基 (serine/threonine-protein phosphatase PP1- $\gamma$  catalytic, PPP1CC)、性激素结合球蛋白 (sex hormone-binding globulin, SHBG)、促分裂原活化蛋白激酶激酶 1 (sex hormone-binding globulin, MAP2K1)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (mitogen activated protein kinase, MAPK14)、类视黄醇 X 受体  $\beta$  (rxrb polyclonal antibody, RXRB)、原癌基因非受体酪氨酸激酶 (ABL1)、脂肪酸结合蛋白 7 (fatty acid-binding protein 7, FABP7)、SULT2B1、

造血前列腺素 D 合成酶 (prostaglandin D synthase, HPGDS) 等频率较高, 可能是覆盆子主要活性成分潜在靶点。

运用 Cytoscape 3.6.1 软件将筛选出的 7 个活性成分和上述靶点相连构建“活性成分-靶点”网络图, 共包含 70 个节点 (7 个活性成分和 63 个潜在靶点) 和 147 条边。通过网络分析, 多数活性成分能与多个靶点之间发生相互作用, 活性成分中以谷甾醇和  $\beta$ -谷甾醇的网络度最大, 能同时作用于 40 多个靶点发挥生物学活性, 其次为覆盆子酸、鞣花酸和欧前胡素, 这些靶点较多的成分可能在覆盆子抗肿瘤中起关键作用。在预测的靶点中, PPP1CC 和 SHBG 的网络度最大, 能同时与上述 5 种活性成分发生作用, 其次是 HPGDS、MAPK14、RXRB、ABL1 等。其中, PPP1CC、MAPK14、ABL1 等靶点与细胞凋亡有关, SHBG、HPGDS 等靶点与性激素调节有关, RXRB 靶点与脂质代谢、炎症反应有关, 这些可能是覆盆子发挥整体药效作用的关键靶点。



注: ●为活性成分; ●为靶点; —为活性成分与靶点的相互作用

图 1 活性成分-靶点网络图

3 GO 富集分析 (图 2~4) 将 63 个潜在靶点导入 DAVID 数据库进行 GO 富集分析, 包括生物过程 (biological process)、分子功能 (molecular function) 和细胞组分 (cellular component) 3 个部分。通过 GO 富集分析发现, 预测靶点在生物过程中, 主要与 DNA 转录 (transcription, DNA-templated), 凋亡过程的负调控 (negative regulation of apoptotic process)、蛋白质自磷酸化 (protein autophosphorylation) 等有关; 在分子功能中, 主要与锌离子结合 (zinc ion binding) 作用, ATP 结合 (ATP binding) 作用等有关; 在细胞组分中, 主要集中在细胞外来体 (extracellular exosome)、细胞外

表 2 覆盆子活性成分抗肿瘤靶点信息

序号	靶点	频率	序号	靶点	频率	序号	靶点	频率	序号	靶点	频率
1	PPP1CC	5	17	CA2	3	33	MMP2	2	49	RXRA	2
2	SHBG	5	18	NR1H4	3	34	PTPN11	2	50	GLO1	2
3	MAP2K1	4	19	HSD17B1	3	35	HMGCR	2	51	KDR	1
4	MAPK14	4	20	GSTA1	3	36	SULT1E1	2	52	GSK3B	1
5	RXRB	4	21	GSTP1	3	37	CYP2C9	2	53	PYGL	1
6	ABL1	4	22	GC	3	38	RORA	2	54	MAOB	1
7	FABP7	4	23	MMP3	3	39	ESRRA	2	55	NQO1	1
8	SULT2B1	4	24	FKBP1A	3	40	RBP4	2	56	MME	1
9	HPGDS	4	25	NR3C1	3	41	PDE5A	2	57	ALB	1
10	KIT	3	26	HSP90AB1	2	42	CYP2C8	2	58	PDE4D	1
11	TEK	3	27	FGFR1	2	43	AKR1C1	2	59	CES1	1
12	JAK3	3	28	HSP90AA1	2	44	BLVRB	2	60	AKR1C3	1
13	RARB	3	29	MET	2	45	CTSB	2	61	FGG	1
14	NR1H2	3	30	PCK1	2	46	NR1I2	2	62	MMP13	1
15	PPARA	3	31	MDM2	2	47	VDR	2	63	TGM3	1
16	SULT2A1	3	32	IL2	2	48	PIK3R1	2			

表 3 覆盆子抗肿瘤主要活性成分的网络度和中心度

活性成分	Degree	BC
谷甾醇	45	0.37703383
β-谷甾醇	44	0.34804832
覆盆子酸	20	0.12839178
鞣花酸	18	0.25195595
欧前胡素	18	0.15757097

表 4 覆盆子抗肿瘤主要作用靶点的网络度和中心度

靶点	Degree	BC
PPP1CC	5	0.05234209
SHBG	5	0.05234209
HPGDS	4	0.05756413
MAPK14	4	0.04176542
RXRB	4	0.03481034
ABL1	4	0.01365150
FABP7	4	0.01365150
MAP2K1	4	0.01365150
SULT2B1	4	0.01365150

基质 (extracellular matrix) 等区域。

4 KEGG 通路注释分析 (图 5) 对 KEGG 通路分析得到的结果进行筛选分析, 共获得 26 条重要信号通路, 其中与癌症直接相关的通路有 8 条: 癌症的途径 (pathways in cancer)、癌症中的蛋白多糖 (proteoglycans in cancer)、前列腺癌 (prostate cancer)、癌症中的中心碳代谢 (central carbon metabolism in cancer)、黑色素瘤 (melanoma)、慢

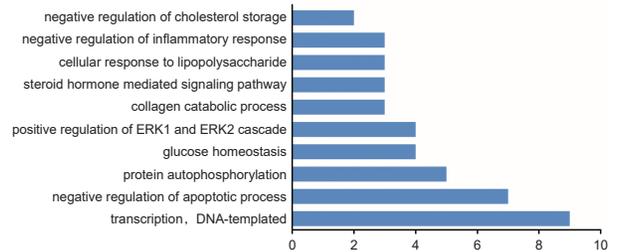


图 2 覆盆子抗肿瘤靶点的生物过程富集分析

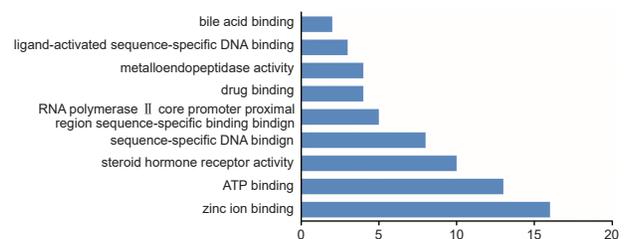


图 3 覆盆子抗肿瘤靶点的分子功能富集分析

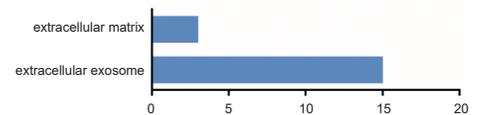


图 4 覆盆子抗肿瘤靶点的细胞组分富集分析

性粒细胞白血病 (chronic myeloid leukemia)、膀胱癌 (bladder cancer)、非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer); 与细胞增殖、分化和凋亡相关的通路有 5 条: 磷脂酰肌醇-3 激酶-丝氨酸苏氨酸蛋白激酶信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway)、原癌基因蛋白信号通路 (Ras signaling pathway)、Rap1 信号通路 (Rap1 signaling pathway)、神经营养素信号

通路 (neurotrophin signaling pathway)、调控干细胞多能性的信号通路 (signaling pathways regulating pluripotency of stem cells); 与糖脂代谢相关的通路有 5 条: 胰岛素抵抗 (insulin resistance)、胰岛素信号通路 (insulin signaling pathway)、过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路 (PPAR signaling pathway)、胆汁分泌 (bile secretion)、脂肪细胞因子信号通路 (adipocytokine signaling pathway); 与激素调节相关的通路有 4 条: 孕酮介导的卵母细胞成熟 (progesterone-mediated oocyte maturation)、雌激素信号通路 (estrogen signaling pathway)、甲状腺激素信号通路 (thyroid hormone signaling pathway)、甾体激素生物合成 (steroid hormone biosynthesis); 与炎症反应相关的通路有 3 条: 黏着斑 (focal adhesion)、T 细胞受体信号通路 (T cell receptor signaling pathway)、NOD 样受体信号通路 (NOD-like receptor signaling pathway); 还有与神经系统途径相关的通路 1 条: 多巴胺能突触 (dopaminergic synapse)。而 PI3K-Akt 信号通路、癌症的途径、癌症中的蛋白多糖、原癌基因蛋白信号通路、胰岛素抵抗、Rap1 信号通路可能是重要的通路枢纽。

5 核心成分-核心靶点-核心通路网络的构建 (图 6) 将与靶点关联性最高的 5 个核心成分, -lg (P value) 值较高的 26 条通路 32 个靶点, 采用 Cytoscape3.6.1 软件的 Merge 功能构建覆盆子抗肿瘤的“核心成分-核心靶点-核心通路”网络模型。覆盆子抗肿瘤主要活性成分的作用靶点分布于不同的代谢通路, 相互协调、共同调节覆盆子抗肿瘤的作用机制。

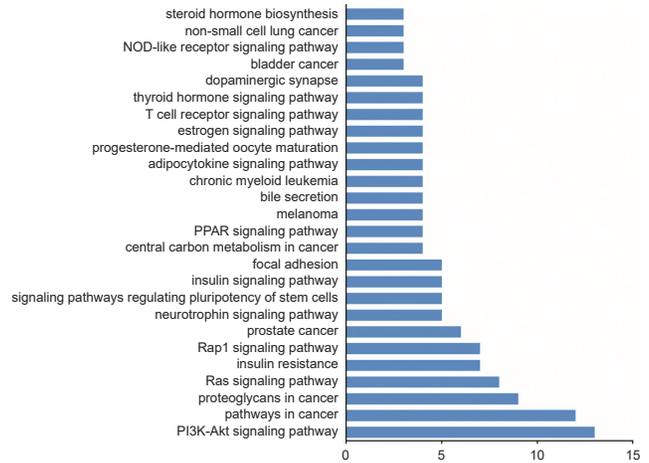


图 5 覆盆子抗肿瘤靶点的 KEGG 通路注释分析

### 讨论

现代研究表明, 癌症主要由原癌基因的异常激活或抑癌基因的异常失活导致<sup>[21]</sup>, 癌基因与抑癌基因都是与生俱来的, 属中医学“先天之本”范畴; 肾为先天之本、元气之根、生气之原, 肾虚与癌症发生发展密切相关<sup>[16]</sup>。覆盆子是传统的补肾要药, 研究发现其粗提取物有一定的抗肿瘤及抗炎作用, 但是其发挥抗肿瘤的活性成分和作用机制尚未明确。鉴于网络药理学可整体、系统地揭示中药对机体协同作用的活性成分和效应机制, 故本研究采用网络药理学的方法对覆盆子的主要活性成分、抗肿瘤作用靶点、相关生物信号通路进行探讨, 为覆盆子抗肿瘤研究提供理论依据。

通过网络分析, 从覆盆子中筛选得到 7 个主要活性成分, 63 个抗肿瘤作用靶点, 其中有 5 个活性成分与靶点、通路的关联度最高, 即: 谷甾醇、β-谷甾醇、覆盆子酸、鞣花酸、欧前胡素, 共

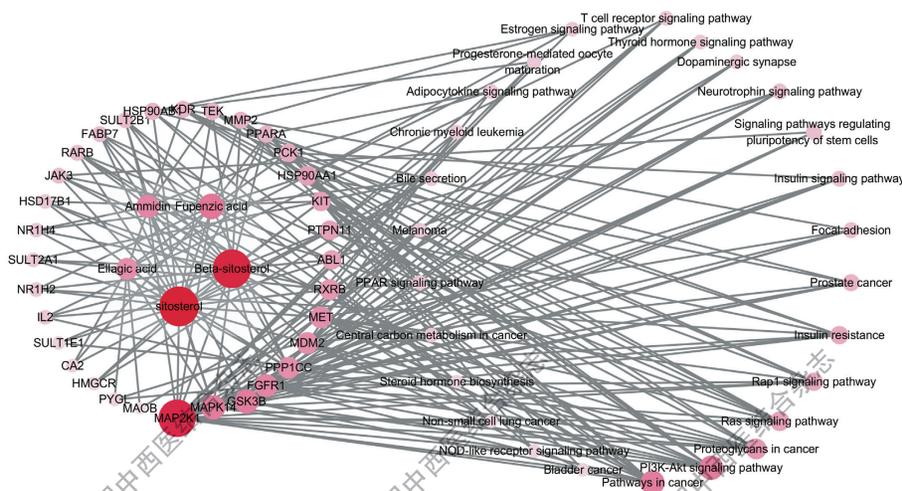


图 6 覆盆子抗肿瘤靶点的核心成分-核心靶点-核心通路网络

中国中西医结合杂志

中国中西医结合杂志

关联了 26 条通路 32 个靶点。在预测的靶点中, PPP1CC、MAPK14、ABL1 等靶点与细胞凋亡有关; SHBG、HPGDS 等靶点与性激素调节有关; RXRB 靶点与脂质代谢、炎症反应有关, 这些可能是覆盆子发挥整体药效作用的关键靶点。前期研究表明,  $\beta$ -谷甾醇<sup>[22,23]</sup>、鞣花酸<sup>[24]</sup>、欧前胡素<sup>[25]</sup> 都具有较强的抗肿瘤作用,  $\beta$ -谷甾醇可通过抑制 H22 荷瘤小鼠中肿瘤白介素 6 (interleukin-6, IL-6)、干扰素 (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的表达, 抑制移植瘤的增殖<sup>[26]</sup>; 通过下调 A549 和 NCI-H460 细胞中 Trx/Trx1 还原酶诱导细胞中 ROS 积累和线粒体介导的细胞凋亡抑制癌细胞<sup>[27]</sup>; 在抑制肿瘤的增殖、转移、血管生成, 诱导肿瘤细胞凋亡等方面均发挥一定的作用。鞣花酸属于多酚类物质, 具有广泛的药理作用, 对结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、皮肤癌、食管癌等均有预防和治疗作用<sup>[28,29]</sup>, 其可能通过下调蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的表达, 上调转化生长因子  $\beta_1$  (transforming growth factor- $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ ) 的表达抑制肿瘤细胞的增殖; 通过降低核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 的活性, 激活线粒体凋亡途径<sup>[30]</sup>, 起到抗肿瘤的作用<sup>[31]</sup>。覆盆子含有丰富的鞣花酸, 《中国药典》(2015 版) 将鞣花酸作为质量标准指标之一<sup>[1]</sup>。欧前胡素能抑制结肠癌细胞中低氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 alpha, HIF-1 $\alpha$ ) 的表达, 从而抑制结肠癌的增殖和血管生成<sup>[32]</sup>; 能通过抑制神经胶质瘤细胞中一些热休克蛋白的表达, 诱导其发生程序性死亡<sup>[33]</sup>。通过对比, 发现预测的活性成分覆盆子酸和关键作用靶点尚未被广泛研究, 为后续开展覆盆子抗肿瘤研究提供了新的思路。

此外, 还发现预测的覆盆子抗肿瘤关键通路多数与癌症直接相关 (细胞增殖、分化和凋亡), 也有与糖脂代谢、激素调节、炎症反应等相关的。肿瘤是全身性疾病的局部表现, 因此, 覆盆子可能直接作用于肿瘤细胞, 也可能作用于肿瘤并发症及其他疾病并发症, 体现覆盆子在抗肿瘤方面具有“多成分-多靶点-多通路”的特点。覆盆子中多成分抗肿瘤活性的协同作用, 可能是覆盆子抗肿瘤的药效物质基础; 但对覆盆子酸等的相关药理活性研究较少, 后期可进行更多覆盆子抗肿瘤有效成分如覆盆子酸、山柰酚等与  $\beta$ -谷甾醇、鞣花酸和欧前胡素等之间协同抗肿瘤的药效和机制研究, 进一步探索覆盆子抗肿瘤药效机制和物质基础。

综上所述, 本研究通过网络药理学方法, 初步分析了覆盆子在抗肿瘤方面潜在“核心成分-核心靶点-核心通路”作用机制。通过对靶点和通路分析, 预测覆盆子主要通过抑制肿瘤细胞增殖和分化、诱导肿瘤细胞凋亡, 调节糖脂代谢、激素水平、炎症反应等产生多靶点、多通路的抗肿瘤作用, 并筛选出 5 个核心抗肿瘤成分, 即谷甾醇、 $\beta$ -谷甾醇、覆盆子酸、鞣花酸、欧前胡素, 这些可能是覆盆子发挥整体抗肿瘤药效的物质基础。然而本文尚存在一些不足, 虽然通过网络药理学技术可以筛选出大量的靶点和途径, 但这些结果必须经过药理学实验的验证, 后续将对筛选出的 5 个核心抗肿瘤成分进行药理学研究, 并通过代谢组学、谱效学等方法进一步验证, 以揭示覆盆子抗肿瘤的药效机制和物质基础, 为深入开展覆盆子的基础研究及指导临床合理用药提供理论基础。

利益冲突: 无。

#### 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, 2015: 382.
- [2] 郑琴, 吴玲, 张科楠, 等. 覆盆子研究概况及产品开发趋势分析 [J]. 中药材, 2019, 42 (5): 1204-1208.
- [3] 谭为. 五子衍宗丸对肿瘤相关性疲劳小鼠的影响及作用机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2012.
- [4] 刘杰. 覆盆子果实化学成分及对肾阳虚小白鼠药理作用的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2015.
- [5] Liang WQ, Xu GJ, Weng D, et al. Anti-osteoporotic components of *Rubus chingii* [J]. Chem Nat Compd, 2015, 51 (1): 47-49.
- [6] Landete JM. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health [J]. Food Res Int, 2011, 44 (5): 1150-1160.
- [7] Su XH, Duan R, Sun YY, et al. Cardiovascular effects of ethanol extract of *Rubus chingii* Hu (Rosaceae) in rats: an *in vivo* and *in vitro* approach [J]. J Physiol Pharmacol, 2014, 65 (3): 417-424.
- [8] Zhang XHQ, Zhao AQ, Edirisinghe I, et al. Effect of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) consumption with or without fructo-oligosaccharide on metabolic indices: A single-blinded randomized, crossover clinical trial (OR29-03-19) [J]. Curr Dev Nutr,

- 2019, 3 ( Suppl 1 ), doi: 10.1093/cdn/nzz031. OR29-03-19.
- [ 9 ] 谢欣梅, 庞晓斌, 李晓婷. 覆盆子酮对糖尿病模型小鼠的降血糖作用及其机制研究 [J]. 中国药理学杂志, 2012, 47 ( 23 ): 1899–1904.
- [ 10 ] 樊柏林, 龚晨睿, 孙凡中, 等. 湖北掌叶覆盆子叶降血脂作用的动物实验和人群研究 [J]. 食品科学, 2007, 28 ( 11 ): 526–529.
- [ 11 ] 吴峰华, 刘相真, 杨虎清, 等. 覆盆子醇提物及其不同极性部位抗氧化活性研究 [J]. 中国食品学报, 2012, 12 ( 2 ): 24–29.
- [ 12 ] Zhou L, Han FY, Lu LW, et al. Isolation of enantiomeric furofuranones and furofurans from *Rubus idaeus* L. with neuroprotective activities [J]. *Phytochemistry*, 2019, 164: 122–129.
- [ 13 ] 亓婷婷. 覆盆子总糖蛋白抗衰老活性及其分离、纯化研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2016.
- [ 14 ] 季宇彬, 包晓威, 单宇, 等. 覆盆子提取物对 ConA 致小鼠急性肝损伤的保护作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44 ( 4 ): 152–158.
- [ 15 ] Xiao F, Zhu J, Zhao L, et al. Involvement of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the anti-inflammatory activity of *Rubus idaeus* L. on LPS-treated RAW 264.7 cells [J]. *J Chin Pharmaceutical Sci*, 2010, 19 ( 3 ): 201–208.
- [ 16 ] 靳永杰, 周利红, 刘宣, 等. 从肾论治肿瘤 [J]. 中国医药科学, 2015, 5 ( 9 ): 32–36.
- [ 17 ] 黄美雯, 杨华杰, 周晓春, 等. 网络药理学在民族药研究中的应用与展望 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44 ( 15 ): 3187–3194.
- [ 18 ] 杨沙, 段灿灿, 晏仁义, 等. 基于网络药理学的半枝莲抗肿瘤活性成分及整合作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49 ( 15 ): 3471–3482.
- [ 19 ] Liu X, Ouyang S, Yu B, et al. PharmMapper server: A web server for potential drug target identification using pharmacophore mapping approach [J]. *Nucl Acids Res*, 2010, 38: W609–W614.
- [ 20 ] 李静, 高丽, 高耀, 等. 基于网络药理学的款冬花止咳化痰活性成分靶点探究 [J]. 中草药, 2018, 49 ( 1 ): 179–187.
- [ 21 ] Freddie B, Jacques F, Isabelle S, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA: Cancer J Clin*, 2018, 68: 394–424.
- [ 22 ] 王莉, 归绥琪.  $\beta$ -谷甾醇抗肿瘤作用研究 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2009, 36 ( 9 ): 676–679.
- [ 23 ] Sharmila R, Sindhu G. Modulation of angiogenesis, proliferative response and apoptosis by  $\beta$ -sitosterol in rat model of renal carcinogenesis [J]. *Ind J Clin Biochem*, 2017, 32 ( 2 ): 142–152.
- [ 24 ] 郑英俊, 梁武. 鞣花酸抗肿瘤作用的分子机制 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2007, 34 ( 1 ): 11–14.
- [ 25 ] 李华. 欧前胡素抑制人耐药性肝癌细胞增殖及其分子机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [ 26 ] 林明珠, 赵岩, 蔡恩博, 等.  $\beta$ -谷甾醇对 H22 荷瘤小鼠体内抗肿瘤作用 [J]. 中国公共卫生, 2017, 33 ( 12 ): 1797–1800.
- [ 27 ] Rajavel T, Packiyaraj P, Suryanarayanan V, et al.  $\beta$ -sitosterol targets Trx/Trx1 reductase to induce apoptosis in A549 cells via ROS mediated mitochondrial dysregulation and p53 activation [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 ( 1 ): 2071.
- [ 28 ] Heber D. Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins [J]. *Cancer Lett*, 2008, 269 ( 2 ): 262–268.
- [ 29 ] Wang N, Wang ZY, Mo SL, et al. Ellagic acid, a phenolic compound, exerts anti-angiogenesis effects via VEGFR-2 signaling pathway in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 134 ( 3 ): 943–955.
- [ 30 ] Mouad E, Irina O, Izumi O, et al. Ellagic acid induces apoptosis through inhibition of nuclear factor  $\kappa$  B in pancreatic cancer cells [J]. *World J Gastroentero*, 2008, 14 ( 23 ): 3672–3680.
- [ 31 ] Vanella L, Di Giacomo C, Acquaviva R, et al. Apoptotic markers in a prostate cancer cell line: Effect of ellagic acid [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30 ( 6 ): 2804–2810.
- [ 32 ] Mi C, Ma J, Wang KS, et al. Imperatorin suppresses proliferation and angiogenesis of human colon cancer cell by targeting HIF-1 $\alpha$  via the mTOR/p70S6K/4E-BP1 and MAPK pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 203: 27–38.
- [ 33 ] Bdzil D, Jakubowicz-Gil J, Gawron A, et al. The effect of quercetin and imperatorin on programmed cell death induction in T98G cells *in vitro* [J]. *Pharmacol Rep*, 2014, 66 ( 2 ): 292–300.

(收稿: 2020-01-06 在线: 2021-03-10)

责任编辑: 赵芳芳