

引用:毕怀中,张瀚文,柏立群.基于网络药理学及分子对接技术探讨消痛散治疗膝骨关节炎的作用机制[J].湖南中医杂志,2026,42(4):93-102.

# 基于网络药理学及分子对接技术探讨消痛散治疗膝骨关节炎的作用机制

毕怀中,张瀚文,柏立群

(北京中医药大学东方医院,北京,100078)

**[摘要]** 目的:基于网络药理学结合分子对接技术系统分析消痛散外用治疗膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)的作用机制。方法:检索数据库并筛选消痛散的活性成分,结合外用药物经皮渗透、局部起效特点,以皮肤渗透系数(Log Kp)为关键指标进一步筛选;收集 KOA 疾病靶点,与药物靶点取交集,获得潜在治疗靶点;构建中药-成分-靶点网络、蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,筛选核心靶点;进行基因本体(gene ontology, GO)功能注释和京都基因与基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析;采用 AutoDock Vina 软件对核心成分与核心靶点进行分子对接验证。结果:共筛选得到消痛散有效成分 85 种,核心成分为槲皮素、鞣花酸、山柰酚、杨梅素、芹菜素等;消痛散治疗 KOA 的核心靶点包括肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、Src 酪氨酸蛋白激酶(Src tyrosine kinase, SRC)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)等;GO 功能富集分析涉及细胞应答、炎症反应等生物过程,KEGG 通路富集分析显示涉及磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K-Akt)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、Ras 信号通路等多条通路;分子对接结果显示,核心成分与核心靶点结合活性良好。结论:消痛散可通过多成分、多靶点、多通路发挥治疗 KOA 的作用,其机制可能与抑制炎症因子表达、调控 PI3K-Akt 及 MAPK 等信号通路以改善炎症反应和软骨代谢相关。

**[关键词]** 膝骨关节炎;消痛散;外用制剂;网络药理学;分子对接

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **DOI**:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2026.04.017

## Mechanism of action of Xiaotong powder in treatment of knee osteoarthritis: A study based on network pharmacology and molecular docking

BI Huaizhong, ZHANG Hanwen, BAI Liqun

(Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China)

**[Abstract]** Objective: To investigate the mechanism of action of the external application of Xiaotong powder in the treatment of knee osteoarthritis (KOA) based on network pharmacology and molecular docking. Methods: The active components of Xiaotong powder were obtained and further screened based on the features of transdermal permeation and

基金项目:中央高水平中医医院临床科研业务费资助项目(2024-DY2J-011)

第一作者:毕怀中,男,2022 级硕士研究生,研究方向:中西医结合临床(骨科方向)

通信作者:柏立群,男,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:中西医结合临床(骨科方向),E-mail:snakeblq@163.com

local effect and the key indicator of skin permeability coefficient (Log Kp). The disease targets of KOA were obtained and intersected with the targets of Xiaotong powder to obtain potential therapeutic targets. A traditional Chinese medicine (TCM) -component-target network and a protein-protein interaction network were constructed to identify core targets. The gene ontology (GO) functional enrichment analysis and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed, and AutoDock Vina was used to perform molecular docking between core components and core targets. Results: A total of 85 active components were obtained for Xiaotong powder, with the core components of quercetin, ellagic acid, kaempferol, myricetin, and apigenin, and the core targets of Xiaotong powder in the treatment of KOA included tumor necrosis factor, AKT serine/threonine kinase 1, epidermal growth factor receptor, src tyrosine kinase, and matrix metalloproteinase 9. The GO functional enrichment analysis involved the biological processes such as cell response and inflammatory response, and the KEGG pathway enrichment analysis involved multiple pathways such as the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) /protein kinase B (Akt) signaling pathway, the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway, and the Ras signaling pathway. Molecular docking showed good binding activities between the core components and the core targets. Conclusion: Xiaotong powder exerts a therapeutic effect on KOA through multiple components, targets, and pathways, possibly by inhibiting the expression of inflammatory factors and regulating the signaling pathways including PI3K-Akt and MAPK to improve inflammatory response and cartilage metabolism.

[ **Keywords** ] knee osteoarthritis; Xiaotong powder; external preparation; network pharmacology; molecular docking

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种以关节软骨退行性变、软骨下骨硬化重建、骨赘形成、滑膜炎症反应、关节囊挛缩、肌肉萎软无力等为特征的慢性退行性疾病<sup>[1-2]</sup>。目前临床治疗以非甾体抗炎药、软骨保护剂等为主,但长期使用易引发胃肠道不良反应及肝肾功能损伤<sup>[2-3]</sup>。中药外用制剂通过经皮吸收直达病所,可避免胃肠道刺激与肝肾功能损伤,在 KOA 的治疗中具有独特优势<sup>[4-5]</sup>。消痛散作为北京中医药大学东方医院骨科临床常用外用中药复方,由金果榄、木芙蓉叶、当归、木瓜、赤芍、麝香、苏木、红花、血竭、丁香、煅自然铜、乳香、没药等多味药材组成,但其治疗 KOA 的外用经皮吸收有效成分、靶向作用靶点及分子机制尚未明确。本研究通过网络药理学结合分子对接技术,聚焦外用经皮吸收特性,系统解析消痛散的有效成分、作用靶点及信号通路,为其临床应用提供理论依据。

## 1 资料与方法

1.1 中药有效成分筛选 依托中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology, TCMSP),对 TCMSP 收

的赤芍、当归、丁香、红花、没药、木瓜、乳香进行检索,查找每一味中药的有效活性成分,因本研究为中药外用治疗,根据外用药物经皮吸收特点,设置活性成分属性值筛选条件为类药性(drug-likeness, DL)  $\geq 0.18$ ,油水分配系数对数值(Alogp)为 1 ~ 5, ALogP 是反映生物膜之间通透性的主要物理化学参数之一,该范围成分兼具脂溶性与水溶性,符合皮肤角质层渗透规律<sup>[6]</sup>。通过此标准,初步筛选出各药材的候选活性成分。针对 TCMSP 未收录的苏木、麝香、血竭,通过本草组鉴(High-throughput Experiment and Reference for Herb Medicine, HERB)数据库检索其成分;金果榄、木芙蓉叶的成分通过查阅相关文献整理获得。其中煅自然铜成分以无机物为主,无可用于靶点预测的有机成分,不纳入该研究。将得到的成分数据导入药物吸收代谢预测数据库(Swiss Database on Medical Devices, SwissADME),按皮肤渗透系数(Log Kp)取 -1 ~ -3 进行筛选,该区间可保证成分穿透皮肤屏障并在局部组织达到有效浓度<sup>[7]</sup>,最终构建消痛散活性成分数据库,为后续靶点预测及机制分析提供可靠的物质基础。

1.2 中药有效成分靶点预测 基于公共化学数据库(Public Chemical Database, PubChem)对筛选所得的消痛散有效成分的化学结构及规范简化分子输入线式(the canonical simplified molecular-input line-entry system, SMILES)编号进行确认,将SMILES编号输入SwissTargetPrediction数据库对每个活性分子进行靶点预测。预测过程中设置物种限制为“homo sapiens”,将概率值(probability) $>0.5$ 的高可靠性靶点全部纳入,概率值(probability) $<0.5$ 的靶点则纳入前15名预测靶点<sup>[8]</sup>,并剔除概率值(probability)为0的预测靶点,最终构建中药有效成分作用靶点数据库。

1.3 疾病靶点筛选 以“knee osteoarthritis”为核心检索词,系统检索人类基因数据库(The Human Gene Database, GeneCards)、在线人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)、Drugbank数据库,全面收集与疾病病理机制相关的基因靶点,汇总后去除重复靶点,得到与KOA有关的靶点信息。

1.4 成分-疾病靶点关联网络的构建 将中药成分预测靶点与疾病靶点导入微生信在线平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)生成韦恩图,获得有效成分与疾病交集靶点,即为消痛散治疗KOA的预测治疗靶点,通过Cytoscape 3.9.1软件构建中药-成分-治疗靶点关联网络,并根据度值、介数中心性、紧密中心性筛选出消痛散的核心有效成分。

1.5 蛋白质-蛋白质相互作用(protein protein interaction, PPI)网络构建 将交集靶点名称输入基因/蛋白质相互作用数据库(Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins, STRING),将生物种类设定为“homo sapiens”,其余设置均为默认设置,获得PPI网络。导出PPI网络的TSV格式文件,通过Cytoscape 3.9.1软件进行可视化分析,对PPI网络拓扑参数的度值、介数中心性、紧密中心性、特征向量值进行计算,构建高可靠性PPI网络,识别枢纽节点,筛选出核心靶点蛋白。

1.6 基因本体(gene ontology, GO)功能和京都基因与基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析 为系统解析消痛散潜在作用靶标的生物学功能及调控网络,将上述分子靶点导入基因组注释与分析资源数据库进行GO功能和KEGG通路富集分析,其中GO功能分析包括分子功能(molecular function, MF)分析、细胞组分(cellular component, CC)分析和生物过程(biological process, BP)分析。将这些分析结果利用微生信在线平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)进行可视化展示。

1.7 分子对接 通过PubChem数据库检索获取中药核心成分的3D结构式,导出为SDF格式文件,通过Open Babel 3.1.1分子格式转换工具转换为mol2格式文件。从蛋白质数据库(Protein Data Bank, PDB)中检索获得核心靶点蛋白结构PDB格式文件,利用PyMOL 3.0.3软件对靶点蛋白进行去除水分子、去除原始配体等操作,利用AutoDock 1.5.7软件对靶点蛋白和中药成分分子进行加氢、设置受体与配体等处理,采用AutoDock Vina软件对配体小分子与受体蛋白进行分子半柔性对接,获得中药成分与靶点蛋白结合能数据,通过结合能数据评估配体与受体的结合能力,能值越低,二者的结合效果越好。对接结果保存为PDBQT格式文件,通过Open Babel 3.1.1转换为PDB格式文件,运用PyMOL 3.0.3软件进行可视化处理。

## 2 结 果

2.1 中药有效成分筛选 通过TCMSP数据库,对赤芍、当归、丁香、红花、没药、木瓜、乳香进行检索,根据外用药物经皮吸收特点,得到各中药有效成分,其中赤芍3种、当归4种、丁香7种、红花18种、没药31种、木瓜1种、乳香7种。针对TCMSP未收录的药材通过HERB数据库检索,得到有效成分苏木5种、麝虫2种。金果榄、木芙蓉叶的成分通过查阅相关文献整理获得<sup>[9-10]</sup>,将得到的成分数据导入SwissADME数据库进行筛选,得到有效成分金果榄13种、木芙蓉叶7种。对共

同有效成分去重后得到消痛散中药的有效成分 85 种。

2.2 成分-疾病靶点关联网络的构建 利用 SwissTargetPrediction 数据库得到中药有效成分预测靶点,对中药有效成分预测靶点去重后,共获得 361 个作用靶点;对 GeneCards、OMIM、Drugbank 数据库收集的 KOA 疾病靶点去重后,共获得 2 926 个疾病相关靶点。对 2 组靶点进行韦恩图可视化分析<sup>[11]</sup>,获得消痛散治疗 KOA 的潜在靶点 152 个。(见图 1)

将得到的潜在靶点和中药有效成分导入 Cytoscape 3.9.1 绘制中药-成分-治疗靶点网络。得到的网络共有 248 个节点,844 条边,其中绿色节点为中药,橙色节点为活性成分,紫色节点为潜在作用靶点。(见图 2)

运用 Cytoscape 对中药-成分-治疗靶点网络进行分析,根据度值  $\geq 10$ 、介数中心性  $\geq 0.03$ 、紧密中心性  $\geq 0.3$  综合筛选,核心成分为槲皮素( quercetin)、鞣花酸( ellagic acid)、山柰酚( kaempferol)、杨梅素( myricetin)、芹菜素( apigenin)。(见表 1)

2.3 PPI 网络构建 将潜在作用靶点输入 STRING 数据库,构建 PPI 网络。导入 Cytoscape 3.9.1 软件进一步构建 PPI 网络(见图 3)。并运用插件 Centiscape 2.2 对网络拓扑参数的度值、介数中心性、紧密度中心性、特征向量值进行计算,以

度值  $\geq 80$ 、介数中心性  $\geq 600$  为标准综合筛选出前 5 位核心靶点,分别为肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、Src 酪氨酸蛋白激酶(src tyrosine kinase, SRC)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)。(见表 2)

2.4 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 将上述分子靶点导入 Metascape 数据库进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,KEGG 通路富集分析得到 185 条相关通路,BP 得到 1 814 个项目,CC 得到 107 个项目,MF 得到 244 个项目。对每项 GO 功能富集分析依据 Pvalue 值筛选前 10 项绘制条形图进行可视化展示(见图 4)。BP 涉及细胞应答、细胞迁移、信号传导等,CC 涉及细胞膜组分、受体复合物、神经元组分等,MF 涉及蛋白激酶活性、激酶活性、组蛋白修饰相关激酶活性等。对 KEGG 通路富集分析依据 Pvalue 值筛选前 15 项绘制气泡图进行可视化展示(见图 5)。其中与 KOA 相关的通路包括磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K-Akt)、黏着斑信号通路、Rap1 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、Ras 信号通路等。

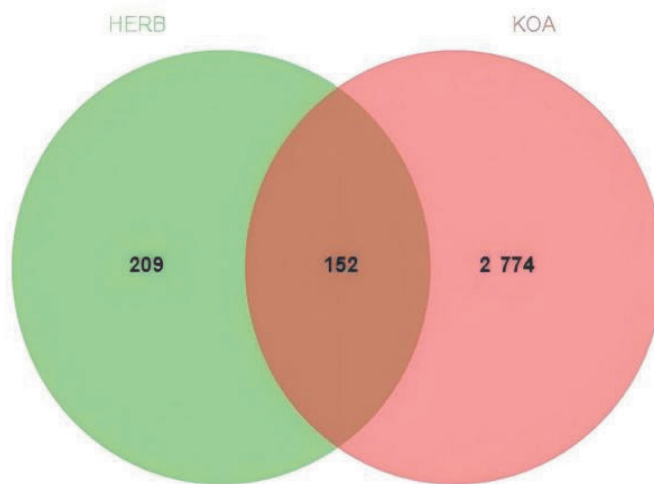


图 1 药物-疾病靶点韦恩图

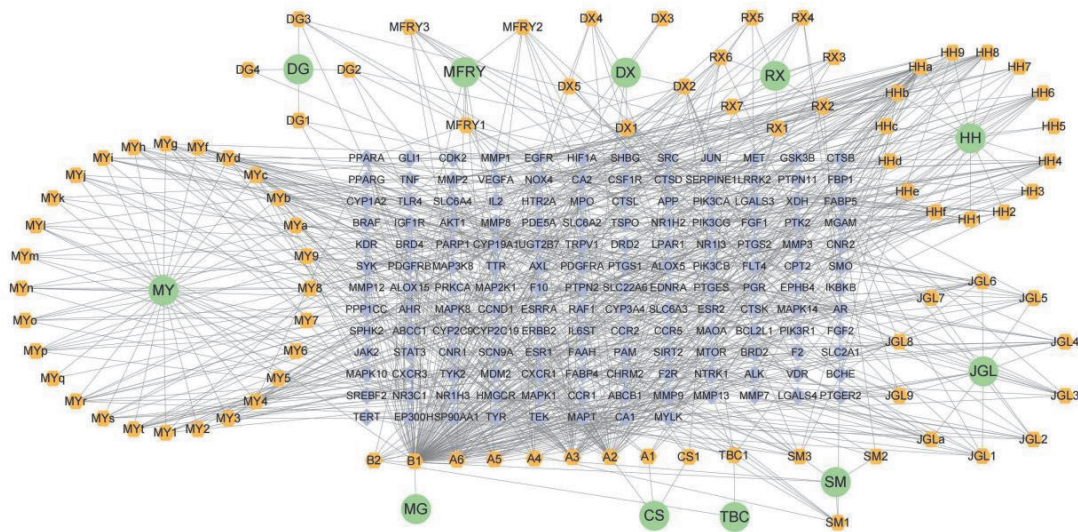


图 2 中药-成分-治疗靶点网络图

表 1 消痛散核心有效成分

成分	英文名	Degree	Betweenness Centrality	Closeness Centrality
槲皮素	quercetin	136	0.146 833 546	0.386 895 476
鞣花酸	ellagic acid	40	0.092 545 033	0.334 682 861
山柰酚	kaempferol	34	0.033 560 783	0.332 885 906
杨梅素	myricetin	33	0.080 158 014	0.367 407 407
芹菜素	apigenin	16	0.032 300 89	0.346 853 147

表 2 核心靶点 (degree 值排名前 5 位)

靶点	degree unDir	Betweenness unDir	Closeness unDir	EigenVector unDir
TNF	108	1 793.672 139	0.005 154 639	0.177 513 637
AKT1	108	1 927.724 628	0.005 128 205	0.181 470 286
EGFR	94	834.593 067 4	0.004 784 689	0.174 851 704
SRC	87	1 249.212 034	0.004 629 63	0.162 508 084
MMP9	84	650.199 439 4	0.004 587 156	0.158 383 113

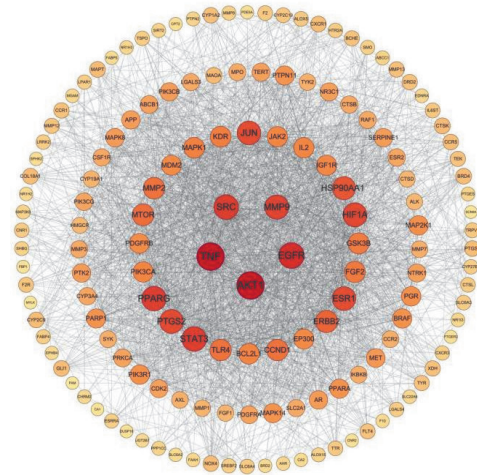


图 3 PPI 网络图

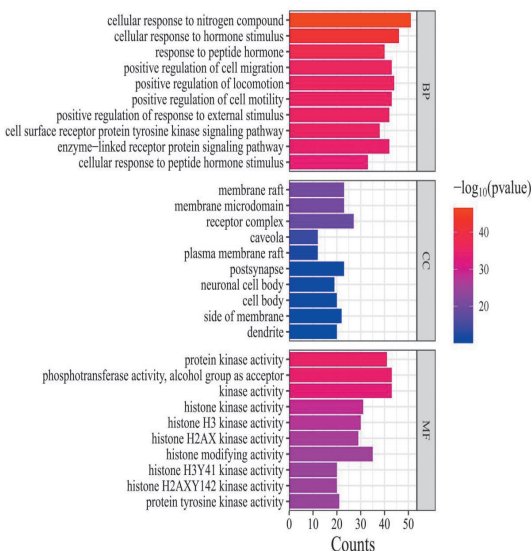


图 4 GO 功能富集分析条形图

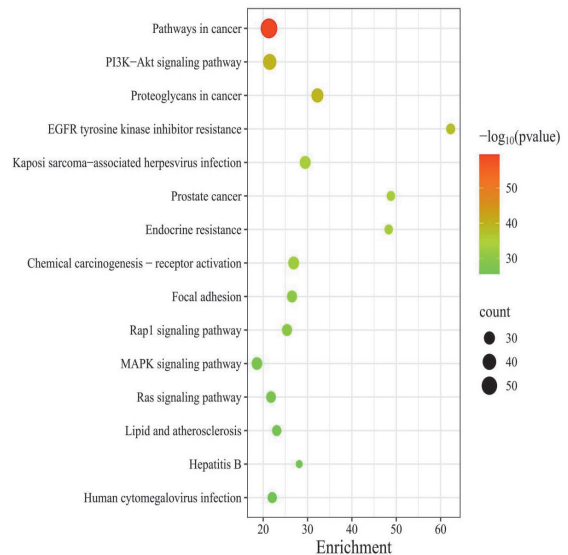


图 5 KEGG 通路富集分析气泡图

2.5 分子对接 选取中药-成分-治疗靶点关联网络中筛选出的 5 个核心有效成分, 将其与筛选出的 5 个核心靶点 TNF、AKT1、EGFR、SRC、MMP9 进行分子对接。有效成分配体与核心靶点受体结合能范围为 -8.6 ~ -11.0 kcal/mol, 分子对接时配体与受体的结合能 < 0 表示两者能自发结合, 结合能

数值越小表示两者的结合活性越高<sup>[12]</sup>。本研究结合能均 < -5.0 kcal/mol, 提示配体和受体具有较好的结合活性(见图 6)。将 5 个核心有效成分与 TNF、AKT1 两个靶点的分子对接结果进行可视化展示, 分别见图 7、图 8。

	TNF(2e7a)	AKT1(7nh5)	EGFR(3poz)	SRC(2src)	MMP9(1itv)
quercetin	-10.0	-10.5	-9.8	-9.7	-9.8
ellagic acid	-10.6	-11.0	-9.3	-10.0	-8.6
kaempferol	-10.3	-9.6	-9.7	-9.5	-9.5
myricetin	-10.2	-10.3	-9.6	-9.7	-9.5
apigenin	-10.3	-10.5	-8.8	-9.6	-9.0

图 6 分子对接结合能热图(kcal/mol)

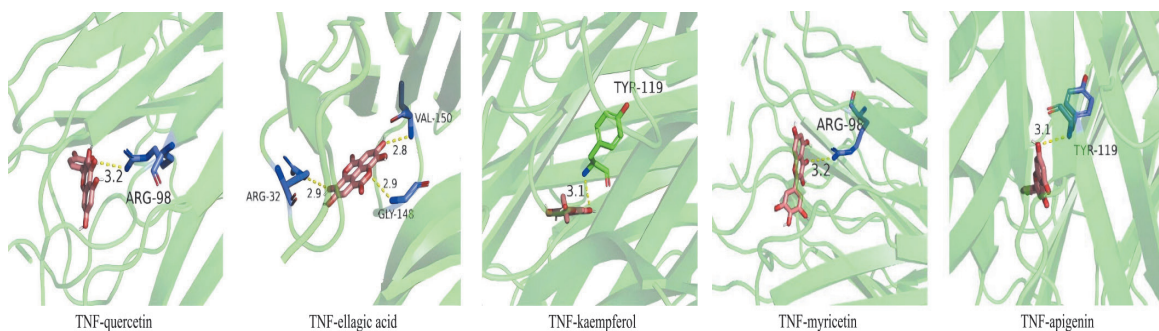


图 7 核心成分与 TNF 分子对接

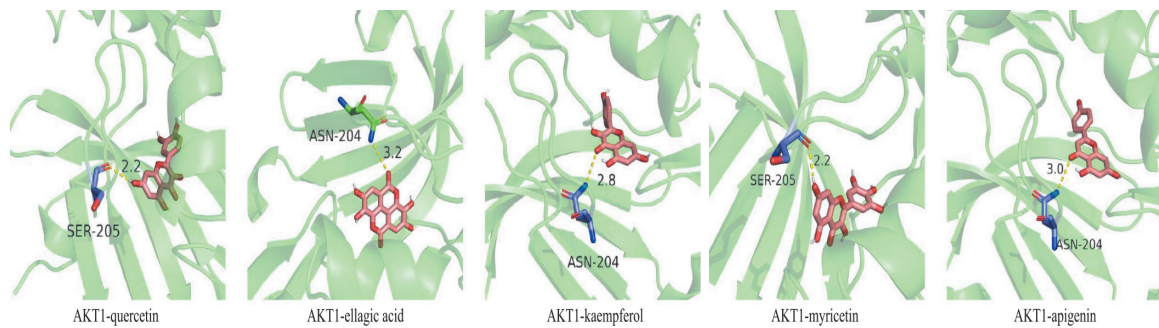


图 8 核心成分与 AKT1 分子对接

2.6 金果榄有效成分筛选与分子对接 金果榄为君药, 在消痛散中用量最大, 在构建的中药-成分-治疗靶点网络中, 根据度值  $\geq 10$ 、介数中心性  $\geq 0.01$ 、紧密中心性  $\geq 0.3$  对金果榄的有效成分进行筛选, 得到 4 个核心有效成分(见表 3)。其与 TNF、AKT1 分子对接结合能见图 9。核心成分配体与受体靶点的结合能均 < -5.0 kcal/mol, 表明配体

和受体具有较好的结合亲和力。

表 3 金果榄核心有效成分

成分	度值	介数中心性	紧密中心性
$\beta$ -amyrin	12	0.024 145 449	0.324 183 007
Propyl octadeca-9, 12-dienoate	10	0.028 372 756	0.308 841 843
Methyl 17-methyloctadecanoate	10	0.019 346 577	0.308 841 843
Ethyl palmitate	10	0.035 089 811	0.306 551 298

	TNF(2c7a)	AKT1(7nh5)
<b>β-amyrin</b>	-13.3	-19.0
<b>Propyl octadeca-9,12-dienoate</b>	-5.4	-6.4
<b>Methyl 17-methyloctadecanoate</b>	-5.4	-6.3
<b>Ethyl palmitate</b>	-5.3	-6.5

图9 金果榄核心成分与 TNF、AKT1 分子对接结合能热图(kcal/mol)

### 3 讨 论

消痛散为北京中医药大学东方医院骨科临床常用外用中药复方,在临床上已取得较好的效果。本研究基于外用药物经皮吸收特点,探讨消痛散治疗 KOA 的作用机制。通过 TCMSp、HERB 数据库及文献检索,筛选出消痛散治疗 KOA 的 85 种有效成分,包括槲皮素( quercetin)、鞣花酸( ellagic acid)、山柰酚( kaempferol)、杨梅素( myricetin)、芹菜素( apigenin)等。槲皮素、山柰酚、杨梅素、芹菜素都属于黄酮类化合物。鞣花酸为没食子酸的衍生物,属于天然多酚类化合物<sup>[13]</sup>。槲皮素具有抗炎、软骨保护、代谢调节等多种作用<sup>[14-16]</sup>。鞣花酸<sup>[17]</sup>、山柰酚<sup>[18]</sup>均可显著降低促炎因子的表达,改善 KOA 的软骨组织炎性损伤。杨梅素可通过抑制组织蛋白酶 K 的活性来改善由组织蛋白酶 K 降解胶原蛋白所引起的关节炎等骨代谢疾病<sup>[19-20]</sup>。芹菜素可降低炎症因子水平,提高抗氧化能力,从而减轻炎症反应<sup>[21]</sup>。

消痛散中金果榄为君药,在处方中用量最大,药理研究表明金果榄主要成分具有抗炎、镇痛、抗氧化等多方面活性<sup>[7]</sup>。金果榄核心成分进行筛选得到 β-香树脂醇( β-amyrin)、亚油酸丙酯( propyl octadeca-9,12-dienoate)、17-甲基硬脂酸甲酯( methyl 17-methyloctadecanoate)、棕榈酸乙酯( ethyl palmitate)四种成分。分子对接结果中 β-香树脂醇( β-amyrin)的结合能最低,提示其干预 TNF、AKT1 等核心靶点的能力更强,可能是金果榄治疗 KOA 的关键核心成分。大鼠实验证实 β-amyrin 具有抗关节炎的作用,组织病理学结果显示它能显著逆转软骨侵蚀、软骨下囊肿的形成,且观察到骨重塑的迹象<sup>[22]</sup>。另外, β-amyrin

被证实能够抑制通过促炎细胞因子的表达来改善炎症<sup>[23-24]</sup>。

PPI 网络分析筛选出 TNF、AKT1、EGFR、SRC、MMP9 等核心靶点。TNF 在 KOA 的炎症反应中扮演重要角色,是 KOA 发生的重要影响因素<sup>[25]</sup>。TNF 与肿瘤坏死因子受体 1/肿瘤坏死因子受体 2 ( tumor necrosis factor receptor 1/tumor necrosis factor receptor 2, TNFR1/TNFR2) 结合后,通过肿瘤坏死因子受体相关死亡结构域蛋白-肿瘤坏死因子受体 2 ( tumor necrosis factor receptor-associated death domain protein-tumor necrosis factor receptor 2, TRADD-TRAF2) 复合物激活核因子 κ B 抑制因子激酶( inhibitor of nuclear factor-κ B kinase, IKK),使核转录因子-κ B ( nuclear factor-κ B, NF-κ B) 入核并上调基质金属蛋白酶和前列腺素 E2 的表达,直接降解软骨基质中的 II 型胶原和蛋白聚糖<sup>[25]</sup>。此外, TNF 可诱导滑膜成纤维细胞分泌趋化因子,加剧滑膜炎症和关节疼痛<sup>[26]</sup>。AKT1 是 PI3K-Akt 通路的重要调控因子,可通过调节细胞增殖与分化、减少细胞凋亡、减轻炎症反应改善软骨退变,延缓 KOA 进展<sup>[27]</sup>。AKT1 在软骨钙化过程中发挥关键作用,抑制 AKT1 可减少骨赘生成,改善关节结构异常<sup>[28]</sup>。EGFR 参与关节软骨表层细胞的增殖、分化及凋亡,可促进关节软骨表层细胞向成骨方向分化,抑制其向成软骨分化<sup>[29]</sup>。此外,有研究表明 EGFR 对软骨细胞凋亡具有抑制作用,EGFR 活性缺失可能通过促进软骨细胞凋亡加速 KOA 进展<sup>[29-30]</sup>。EGFR 是 PI3K-Akt 通路的重要上游调控因子,参与软骨细胞代谢及炎症反应。EGFR 可通过 PI3K-Akt 通路抑制炎症因子如肿瘤坏死因子-α ( tumor necrosis factor-α, TNF-α)、

白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 的释放, 减少软骨基质降解<sup>[31-32]</sup>。SRC 在破骨细胞中高表达, 是调控骨吸收的关键分子。其通过促进破骨细胞的伪足突起形成和迁移, 增强骨吸收活性, 导致软骨下骨代谢失衡, 进而加重关节炎病程<sup>[33]</sup>。破骨细胞中 SRC 的过度激活还会通过下游 PI3K-Akt 等信号通路, 进一步促进破骨细胞分化和炎症因子的释放, 加剧关节炎和骨破坏<sup>[34]</sup>。MMP9 属于基质金属蛋白酶家族中的明胶酶, 可降解细胞外基质中的 II 型胶原、蛋白聚糖、弹性蛋白等成分, 参与软骨基质重塑与炎症反应<sup>[35]</sup>。生理状态下, MMP9 与组织金属蛋白酶抑制物保持平衡, 维持 ECM 合成与降解的稳定; 病理状态下, 这种平衡被打破, 导致软骨破坏<sup>[35-36]</sup>。

GO 功能分析提示本方主要涉及的生物进程为细胞应答、细胞迁移、信号传导等, 涉及 CC 为细胞膜结构、受体复合物、神经元结构等, 涉及 MF 为蛋白激酶活性、激酶活性、组蛋白修饰相关激酶活性等。KEGG 分析筛选出 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、Ras 信号通路、黏着斑、Rap1 信号通路等与膝骨关节炎相关的通路。PI3K-Akt 通路在 KEGG 富集分析中显著富集。同时 PPI 筛选出的核心靶点中 AKT1、EGFR、SRC 与 PI3K-Akt 通路关系密切, 起到调控 PI3K-Akt 通路的作用, 表明 PI3K-Akt 通路可能是消痛散治疗膝骨关节炎的主要作用通路。PI3K-Akt 通路的异常激活或抑制与软骨细胞凋亡、滑膜炎及软骨基质降解密切相关, 是维持关节软骨稳态的核心通路<sup>[37]</sup>。PI3K-Akt 通路通过调控凋亡加速蛋白 Bad、雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)、NF- $\kappa$ B、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (cysteiny l aspartate specific proteinase, Caspase) 及糖原合成激酶 3 $\beta$  (Glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ ) 等下游分子磷酸化状态, 直接或间接影响软骨细胞凋亡<sup>[38]</sup>。IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等炎症因子可激活 PI3K-Akt 通路, 加重滑膜的炎症反应<sup>[37, 39]</sup>。MAPK 信号通路调控着关节软骨细胞的增殖、分化、凋亡以及关节的炎

性改变等<sup>[25]</sup>。黏着斑包括整合素 (integrin)、黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK)、桩蛋白 (paxillin)、纽蛋白 (vinculin) 等<sup>[40]</sup>, 黏着斑激酶和整合素与 KOA 关系较强。有研究通过动物实验证实 FAK/MAPK 信号通路是介导 KOA 软骨损伤及修复干预的关键通路<sup>[41]</sup>。整合素  $\beta$ 1 (integrin  $\beta$ 1) 能介导 FAK-PI3K 信号通路参与软骨代谢<sup>[42]</sup>。有研究表明特异性抑制软骨下骨中的 FAK 信号通路, 可阻断 H 型血管诱导的异常成骨, 从而抑制关节软骨的退变过程<sup>[43]</sup>。Ras 蛋白是 Ras 信号通路的核心, Ras 蛋白激活后会进一步激活 MAPK 信号通路中的 ERK 途径, 通过 Ras /MAPK 信号转导通路参与软骨细胞增殖、分化、凋亡及炎症反应等多种生理过程, 从而调控软骨退变的病理过程<sup>[44]</sup>。Rap1 与 Ras 蛋白具有高度同源性, 在下游信号通路的调控及受体结构域的决定上具有显著的相似性<sup>[45]</sup>, 均能协同激活下游 ERK, 参与软骨细胞代谢<sup>[46]</sup>。

分子对接显示核心成分与核心靶点之间结合能范围为 -8.6 ~ -11.0 kcal/mol, 表明配体和受体具有较好的结合活性, 初步验证了核心成分对核心靶点的有效调控作用。本研究中槲皮素与 TNF、AKT1、MMP9 的分子对接结合能分别为 -12.7 kcal/mol、-10.3 kcal/mol 和 -9.8 kcal/mol, 提示其可直接作用于炎症及软骨代谢靶点。山柰酚与 TNF 的分子对接结合能为 -10.3 kcal/mol, 表明山柰酚可能参与了 TNF 调控。芹菜素与 AKT1 的分子对接结合能为 -10.5 kcal/mol, 显示出高亲和力, 推测芹菜素可能通过直接作用 AKT, 调控 PI3K-Akt 通路介导的炎症反应和软骨细胞凋亡, 从而保护关节软骨。金果榄的有效成分与 TNF、AKT1 靶点的分子对接结合能均小于 -5.0 kcal/mol, 提示配体和受体具有较好的结合活性。金果榄可能通过  $\beta$ -香树脂醇干预 TNF 等核心靶点以及炎症相关通路起到治疗膝骨关节炎的作用。

综上所述, 消痛散的核心成分槲皮素、鞣花酸、山柰酚、杨梅素、芹菜素可能通过协同调控 TNF、AKT1、EGFR、SRC、MMP9 等核心靶点, 调节 PI3K-

Akt、MAPK、Ras、Rap1 信号通路,改善炎症反应、调节软骨代谢,从而起到治疗 KOA 的作用。本研究通过网络拓扑分析和富集分析初步探讨了消痛散治疗 KOA 的多成分、多靶点、多通路作用机制,后续将通过动物实验进一步验证。

### 参考文献

- [1] 陈卫衡. 膝骨关节炎中医诊疗指南(2020年版)[J]. 中医正骨, 2020, 32(10):1-14.
- [2] 中华中医药学会. 膝骨关节炎中西医结合诊疗指南(2023年版)[J]. 中医正骨, 2023, 35(6):1-10.
- [3] 武东泽, 蒋明君, 刘鹏, 等. 基于指南探讨膝骨关节炎的中西医治疗进展[J]. 北京中医药, 2025, 44(6):810-814.
- [4] 张书铭, 许金海, 莫文. 中药经皮外用制剂治疗膝骨关节炎研究进展[J]. 中国中医药图书情报杂志, 2025, 49(2):224-229.
- [5] 郭天赐, 赵杨, 陈继鑫, 等. 中药外用制剂在膝骨关节炎治疗中的应用现状及展望[J]. 天津中医药, 2024, 41(8):1083-1088.
- [6] 王春柳, 万兆新, 周洁, 等. 艾叶挥发性成分对膝骨关节炎作用机制的网络药理学探讨[J]. 世界中医药, 2021, 16(20):2975-2979.
- [7] Han Y, Zhang J, Hu C Q, et al. In silico ADME and toxicity prediction of ceftazidime and its impurities [J]. Front Pharmacol, 2019, 10:434.
- [8] 曹妍. 基于数据挖掘和网络药理学探讨中药外治下肢静脉性溃疡的用药规律与机制研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2023.
- [9] 王晶晶, 杨汝薇, 谢永艳, 等. 金果榄化学成分、药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(24):273-282.
- [10] 万静, 陈晓兰, 董娜娜, 等. 木芙蓉叶研究进展[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2021, 38(4):79-82.
- [11] Bardou P, Mariette J, Escudié F, et al. Jvenn: An interactive Venn diagram viewer [J]. BMC Bioinform, 2014, 15(1): 293.
- [12] Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, et al. SwissTargetPrediction: A web server for target prediction of bioactive small molecules [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(W1): W32-W38.
- [13] 陈政伶, 勾玲, 卢海啸. 鞣花酸药理作用研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(1):196-202.
- [14] 朱保红, 柴喜平, 徐斌, 等. 槲皮素治疗膝骨关节炎的相关分子机制研究进展[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2024, 41(3):89-93, 99.
- [15] 陶盼, 刘凡, 李智斌. 基于炎症因子探讨膝骨关节炎的中医药研究进展[J]. 河北中医, 2024, 46(8):1403-1408.
- [16] Permatasari D A, Karliana D, Iskandarsyah I, et al. Quercetin prevent proteoglycan destruction by inhibits matrix metalloproteinase-9, matrix metalloproteinase-13, a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-5 expressions on osteoarthritis model rats [J]. J Adv Pharm Technol Res, 2019, 10(1): 2-8.
- [17] 乌里盼·托乎达阿里, 丁宛婷, 孙媛, 等. 鞣花酸通过TLR4-SRC/MAPK/NF- $\kappa$ B途径抑制脂多糖诱导RAW<sub>264.7</sub>巨噬细胞的炎症反应[J]. 中南药学, 2024, 22(4):943-949.
- [18] 王飞, 梅群超, 冯晶, 等. 山柰酚调控ROS/TXNIP通路对膝骨关节炎大鼠软骨细胞氧化及炎症损伤的改善作用[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(1):229-233.
- [19] 王璐, 周云英. 杨梅素抗感染、抗炎及抗氧化活性研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(3):778-784.
- [20] 杨鑫, 李源力, 蒋萍, 等. 杨梅素通过PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B信号通路对骨性关节炎发展的影响[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2020, 41(1):48-57.
- [21] 王杰, 段妍, 李睿亚. 芹菜素调节PI3K/Akt/mTOR信号通路对慢性湿疹大鼠炎症反应的影响[J]. 热带医学杂志, 2023, 23(10):1358-1363, 1501.
- [22] Henneh I T, Huang B, Musayev F N, et al. Structural elucidation and in vivo anti-arthritis activity of  $\beta$ -amyrin and polypunonic acid isolated from the root bark of Ziziphos abyssinica HochstEx. A Rich (Rhamnaceae)[J]. Bioorg Chem, 2020, 98: 103744.
- [23] Melo C M, Morais T C, Tomé A R, et al. Anti-inflammatory effect of  $\alpha$ ,  $\beta$ -amyrin, a triterpene from Protium heptaphyllum, on cerulein-induced acute pancreatitis in mice [J]. Inflamm Res, 2011, 60(7): 673-681.
- [24] Simão da silva K A B, Paszcuk A F, Passos G F, et al. Activation of cannabinoid receptors by the pentacyclic triterpene  $\alpha$ ,  $\beta$ -amyrin inhibits inflammatory and neuropathic persistent pain in mice [J]. PAIN, 2011, 152(8): 1872-1887.
- [25] 王迷娜, 刘璐, 赵洛鹏, 等. 膝骨关节炎炎症因子及信号通路的研究进展[J]. 中国骨伤, 2020, 33(4):388-392.
- [26] 娄本敬, 次旺, 严华韬, 等. 膝骨关节炎相关炎症因子研究进展[J]. 风湿病与关节炎, 2024, 13(2):67-71.
- [27] 约日古丽·喀斯木, 卢旭昇, 戴子涵, 等. 基于网络药理学和动物实验探究陈元膏治疗膝骨性关节炎的作用机制[J]. 新疆医科大学学报, 2025, 48(7):888-896, 903.
- [28] 曾凡, 陈柏屹, 王康, 等. 基于网络药理学探究加味独活寄生合剂对膝骨关节炎作用机制及实验验证[J]. 中国药理学通报, 2023, 39(2):340-347.
- [29] 朱洲均, 张佳惠, 高健, 等. 表皮生长因子受体对小鼠关节软骨表层细胞增殖、分化、凋亡的影响[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(11):1728-1732.

- [ 30 ] 谢大伟, 张来鑫, 李青松, 等. 吉非替尼通过调控表皮生长因子受体影响兔膝关节软骨损伤作用的机制[J]. 安徽医药, 2021, 25(6):1075-1079, 10001.
- [ 31 ] 邹昆, 郭万首, 邓雅文, 等. 从生物信息与网络药理角度认识姜黄素治疗膝关节炎的分子机制[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(32):5132-5140.
- [ 32 ] 孙伯辰, 刘琳. 基于生物信息学方法筛选骨关节炎进展相关关键基因[J]. 现代医药卫生, 2023, 39(11):1829-1833.
- [ 33 ] 凤雯晴, 刘凯洋, 张嘉宁, 等. 基于网络药理学和分子对接的熟地黄治疗骨关节炎的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19):5336-5343.
- [ 34 ] 黄凤玉, 郭婉怡, 陈沛萍, 等. 基于Src/PI3K/Akt信号通路研究草乌甲素抑制类风湿性关节炎骨破坏的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(6):1438-1445.
- [ 35 ] 樊巧, 楚天云, 张向东, 等. 基质金属蛋白酶-9调控膝关节炎的机制及中医药干预[J]. 中国现代医生, 2025, 63(13):101-105.
- [ 36 ] 康伯寅, 吴媛君. 基质金属蛋白酶-9、基质金属蛋白酶抑制物-1及其在评估膝关节炎患者病情严重程度中的价值[J]. 中国骨与关节杂志, 2020, 9(10):758-761.
- [ 37 ] 王笑甜, 陈唤楠, 孙福平, 等. 中药基于PI3K/AKT/mTOR信号通路治疗膝关节炎[J]. 中医学报, 2024, 39(1):84-91.
- [ 38 ] 陈永洪, 顾兴科. PI<sub>3</sub>K/Akt在膝关节炎中调控软骨细胞凋亡的作用机制[J]. 医学信息, 2023, 36(20):184-188.
- [ 39 ] 杨萍. 中药影响膝关节炎信号通路的研究进展[J]. 风湿病与关节炎, 2022, 11(12):71-75.
- [ 40 ] 张冠华, 智发朝. 黏着斑的结构、功能及在肿瘤转移中作用[J]. 现代消化及介入诊疗, 2015, 20(2):174-177.
- [ 41 ] 陈嘉, 盛关云, 侯建华, 等. 刃针疗法对膝关节炎白兔膝关节软骨组织黏着斑激酶/丝裂原活化蛋白激酶信号通路的调控作用[J]. 广西医学, 2020, 42(9):1100-1104.
- [ 42 ] 刘乃刚, 于佳妮, 胡波, 等. 针刀对膝关节炎兔软骨细胞磷酸化黏着斑激酶、磷酸酯肌醇-3激酶、聚集蛋白聚糖基因及蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(4):221-225.
- [ 43 ] WU H, XU T, CHEN Z, et al. Specific inhibition of FAK signaling attenuates subchondral bone deterioration and articular cartilage degeneration during osteoarthritis pathogenesis[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(11): 8653-8666.
- [ 44 ] 林木南, 林艳红, 刘献祥, 等. 温热疏密波对膝关节炎模型大鼠软骨细胞RAS/丝裂原活化蛋白激酶信号通路的影响[J]. 中医正骨, 2016, 28(2):1-6.
- [ 45 ] 翁元峰, 杨志彪. Rap1的生物学功能与调控的研究进展[J]. 生物化工, 2018, 4(5):147-149.
- [ 46 ] 范元赫, 杨永菊, 马贤德, 等. 基于RAP1信号通路探讨右归丸延缓膝关节炎的软骨退变[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4):137-142, 293-294.

(收稿日期: 2025-11-28)

[ 编辑: 徐琦 ]