

# 基于网络药理学和分子对接探讨二氢杨梅素对线粒体自噬的作用机制

张燕<sup>1,2</sup>, 于官正<sup>2</sup>, 张钰<sup>2</sup>, 涂星<sup>2,3</sup>, 黄琪<sup>2</sup>, 边卓阳<sup>2</sup>, 陈亚君<sup>1</sup>

(1.长江大学附属荆州医院肿瘤科,湖北 荆州 434023;

2.湖北民族大学医学部,湖北 恩施 445000;

3.湖北民族大学武陵山中药材检验检测中心,湖北 恩施 445000)

**摘要:**目的 利用网络药理学和分子对接方法探讨二氢杨梅素对线粒体自噬的作用机制。方法 使用 Swiss Target Prediction 数据库预测二氢杨梅素的相关靶点;通过 GeneCards 数据库和 NCBI 数据库收集线粒体自噬的相关靶点;利用 String 数据库构建 PPI 网络,通过 R 4.1.3 软件进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,使用 Cytoscape 3.7.2 软件构建“化合物-靶点-信号通路”网络图;运用 PyMOL 2.4.0 软件和 Auto Dock Tools 1.5.6、Autodock Vina 软件进行分子对接。结果 最终得到二氢杨梅素的作用靶点 70 个,二氢杨梅素与线粒体自噬共有靶点 15 个;二氢杨梅素与线粒体自噬主要涉及 916 个生物过程包括对氧化应激、金属离子的反应等,主要富集的信号通路包括癌症蛋白聚糖、癌症、MAPK 等 40 条;“化合物-靶点-通路”网络图显示,二氢杨梅素与线粒体自噬与多个靶点、多个通路具有相互作用;分子对接中二氢杨梅素均能同 15 个靶点进行有效的结合,其中与 FGFR1 结合效果最佳,与 PPARG 的结合效果次之。结论 二氢杨梅素可通过 HIF1A、KDR、APP 等多个靶点调控癌症蛋白聚糖、癌症、MAPK 等多个信号通路参与线粒体自噬。

**关键词:**网络药理学;分子对接;二氢杨梅素;线粒体自噬

中图分类号:R996

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.20.002

文章编号:1006-1959(2023)20-0010-06

## Mechanism of Dihydromyricetin on Mitophagy by Network Pharmacology and Molecular Docking

ZHANG Yan<sup>1,2</sup>, YU Guan-zheng<sup>2</sup>, ZHANG Yu<sup>2</sup>, TU Xing<sup>2,3</sup>, HUANG Qi<sup>2</sup>, BIAN Zhuo-yang<sup>2</sup>, CHEN Ya-jun<sup>1</sup>

(1.Department of Oncology, Jingzhou Hospital Affiliated to Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei, China;

2.School of Medicine, Hubei Minzu University, Enshi 445000, Hubei, China;

3.Chinese Medicinal Materials Products Quality Supervision and Inspection Center in Wuling Mountainous Area, Hubei Minzu University, Enshi 445000, Hubei, China)

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of dihydromyricetin on mitophagy using network pharmacology and molecular docking methods. **Methods** The related targets of dihydromyricetin were predicted using the Swiss Target Prediction database; the related targets of mitophagy were collected from the GeneCards database and the NCBI database; the PPI network was constructed using the String database, and the GO function and KEGG pathway were performed by R 4.1.3 software. Cytoscape 3.7.2 software was used to construct "compound-target-pathway" network diagram; PyMOL 2.4.0 software, Auto Dock Tools 1.5.6 software and Autodock Vina software were used for molecular docking. **Results** Finally, 70 targets of dihydromyricetin were obtained, and 15 common targets of dihydromyricetin and mitophagy were obtained. Dihydromyricetin and mitophagy were mainly involved in 916 biological processes, including responses to oxidative stress and metal ions, and the main enriched signaling pathways include 40 pathways such as cancer proteoglycan, cancer, and MAPK; "compound-target-pathway" network diagram showed that dihydromyricetin and mitophagy interacted with multiple targets and multiple pathways. In molecular docking, dihydromyricetin could effectively bind to 15 targets, among which the binding effect with FGFR1 was the best, followed by the binding effect with PPARG. **Conclusion** Dihydromyricetin can participate in mitophagy by regulating cancer proteoglycan, cancer, MAPK and other signaling pathways through multiple targets such as HIF1A, KDR, and APP.

**Key words:** Network pharmacology; Molecular docking; Dihydromyricetin; Mitophagy

线粒体自噬(mitochondrial autophagy)是一种选择性自噬,通过自噬选择性地去除或降解受损线粒体的过程,其对维持细胞功能具有重要作用<sup>[1]</sup>。有研

究发现<sup>[2]</sup>,线粒体自噬与肿瘤、心血管疾病、神经系统疾病等多种临床疾病的发病机制有关,通过对线粒体自噬进行干预,可能会具有治疗作用。二氢杨梅

基金项目:1.湖北省教育厅科学技术研究项目(编号:B2022097);2.恩施州科技计划项目技术支撑类重点项目(编号:D20220065)

作者简介:张燕(1988.3-),女,湖北黄冈人,硕士研究生,实验师,主要从事肿瘤学的研究

通讯作者:陈亚君(1973.5-),女,湖北监利县人,硕士,主任医师,硕士生导师,主要从事妇科肿瘤的研究

素(dihydromyricetin, DMY)是一种多酚羟基二氢黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、维持血糖稳态、改善认知障碍等药理作用,对神经系统疾病、心血管系统疾病、内分泌系统疾病有治疗或保护作用<sup>[3]</sup>。研究表明<sup>[4,5]</sup>,DMY 可通过激活自噬预防糖尿病心肌病、改善肝纤维化等。但 DMY 是否可以通过多靶点、多通路调节线粒体自噬尚不清楚。故,本研究通过网络药理学的方法,探讨 DMY 对线粒体自噬的作用机制,为其提供理论基础。

## 1 资料与方法

1.1 化合物靶点的预测和疾病靶点的筛选 通过 PubChem 数据库检索“Dihydromyricetin”的 SMILES 号,将其输入 Swiss Target Prediction 数据库,以“Homo sapiens”为设置条件,进行化合物靶点的预测,删除预测结果中的重复靶点,并以“Probability”值>0 为筛选条件,筛选后的靶点为最终的靶点。以“mitophagy”为检索词在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org>)和 NCBI 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行疾病靶点的筛选,删除重复值,合并 2 个数据库的靶点。

1.2 蛋白相互作用(PPI)网络 利用 R 4.0.2 软件对得到化合物与疾病靶点取交集得到化合物疾病的共有靶点并绘制韦恩图;将共有靶点输入 String 数据库(<https://string-db.org/>)构建 PPI 网络模型,最小相互作用阈值设定“custom value”( >0.40),得到 PPI 网络;并对 PPI 网络数据进行网络拓扑学分析。

1.3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析及构建“化合

物-靶点-通路”网络图 运用 R 4.1.3 软件及“org.Hs.eg.db”“enrichplot”“ggplot2”等安装包对共有靶点进行 GO 功能与 KEGG 富集通路分析,设置  $P < 0.05$ ;并使用在线作图平台微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)对其进行可视化处理。使用 Cytoscape3.7.2 软件对共有靶点和 KEGG 通路富集的结果进行“化合物-靶点-信号通路”网络图的构建。

1.4 分子对接 将 DMY 与 15 个作用靶点进行分子对接验证,通过 PubChem 数据库、Chem Bio3D Ultra 14.0 软件获得 DMY 的 3D 结构;利用 PDB 数据库下载 15 个靶点蛋白,利用 PyMOL 2.4.0 软件和 Auto Dock Tools 1.5.6、Autodock Vina 软件对作用靶点和 DMY 进行常规处理及分子对接。

## 2 结果

2.1 化合物预测和疾病靶点的筛选的结果 在 Swiss Target Prediction 数据库靶点预测得到化合物 100 个靶点,经筛选后最终得到 70 个靶点。GeneCards 数据库 1903 个靶点,NCBI 数据库 569 个靶点,最终疾病靶点为 2248 个靶点。

2.2 PPI 网络结果 化合物靶点与疾病的靶点取交集后得到 15 个共有靶点,通过在 String 数据库构建的 PPI 网络结果显示,共有 15 个节点,32 条边,其中每个节点表示蛋白,每条边表示不同蛋白之间的相互作用,见图 1。根据网络拓扑学分析 Degree 值排名的结果可知 HIF1A、KDR、APP 等排名较前,见表 1。

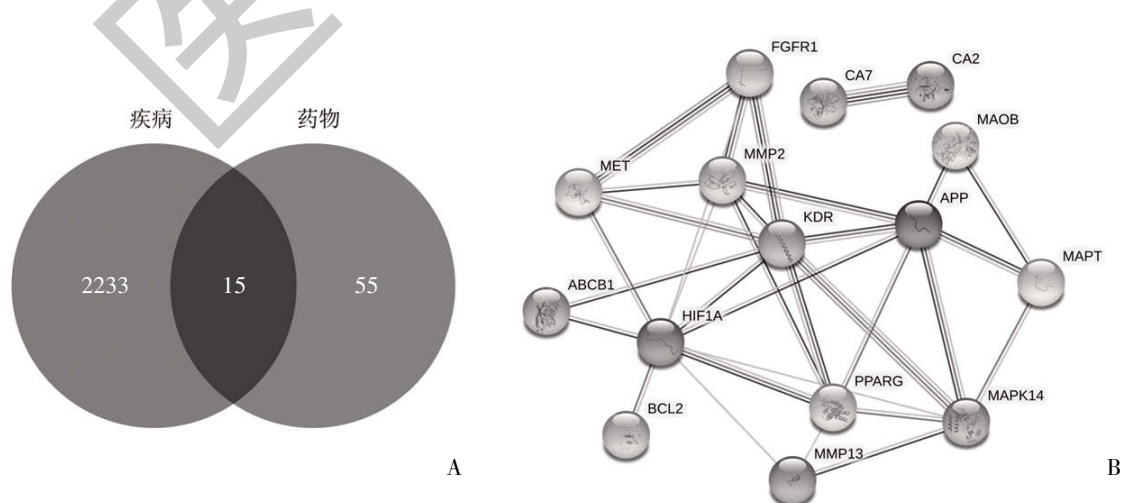


图 1 化合物疾病交集图与 PPI 网络图

表 1 PPI 网络靶点的拓扑分析

靶点名称	Degree	Betweenness	Closeness	Eigenvector	LAC	靶点名称	Degree	Betweenness	Closeness	Eigenvector	LAC
HIF1A	10	46.9	0.32	0.44	3.40	MAPT	3	1.5	0.25	0.12	1.33
KDR	8	16.1	0.30	0.40	3.75	MMP13	3	0.00	0.27	0.18	2.00
APP	7	28.4	0.30	0.34	3.14	ABCB1	2	0.00	0.26	0.14	1.00
MMP2	6	4.8	0.29	0.34	3.67	MAOB	2	0.00	0.25	0.08	1.00
MAPK14	6	10.9	0.29	0.31	3.00	BCL2	1	0.00	0.25	0.07	0.00
PPARG	6	3.3	0.29	0.34	3.67	CA2	1	0.00	0.07	0.00	0.00
FGFR1	4	0.00	0.27	0.24	3.00	CA7	1	0.00	0.07	0.00	0.00
MET	4	0.00	0.27	0.24	3.00						

2.3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析及“化合物-靶点-通路”网络图 GO 功能富集分析主要包括生物过程、细胞组成和分子功能。在生物过程方面,共富集 916 个结果,主要包括对氧化应激的反应、金属离子的反应等;在细胞组成方面,共富集 39 个结果,主要为膜筏、核点、胶质细胞反应等;在分子功能方面,共富集 72 个结果,主要为蛋白磷酸酶结合、跨膜受体蛋白络氨酸激酶活性等;排名前 15 的 GO 功能结果见图 2。KEGG 富集通路共富集 40 条通路结果,主要为癌症蛋白聚糖、癌症、MAPK 等信号通路,排

名前 10 的 KEGG 富集通路结果见图 3。通过“化合物-靶点-通路”网络图可知,不同靶点与通路之间有着相互作用,图中各连线表示靶点与通路直接的联系,靶点越大表示其富集的通路越多,DMY 与线粒体自噬存在多靶点、多通路的相互作用关系,见图 4。

2.4 分子对接结果 将 DMY 与 15 个作用靶点进行分子对接验证,结果表明 DMY 均能与 15 个靶点结合,其中与 FGFR1 结合效果最佳,与 PPARG 的结合效果次之,见表 2、图 5。

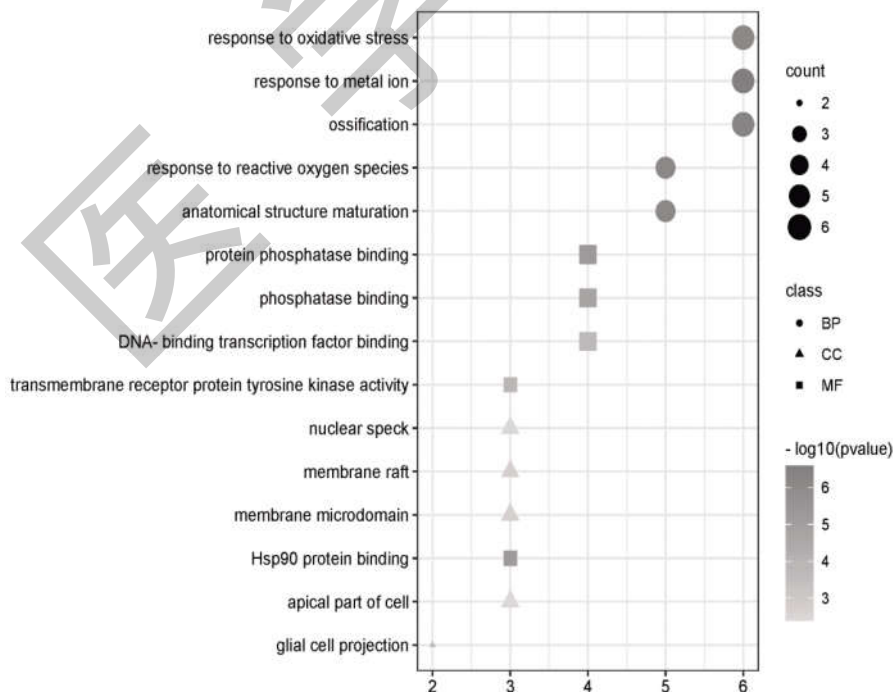


图 2 GO 功能富集分析

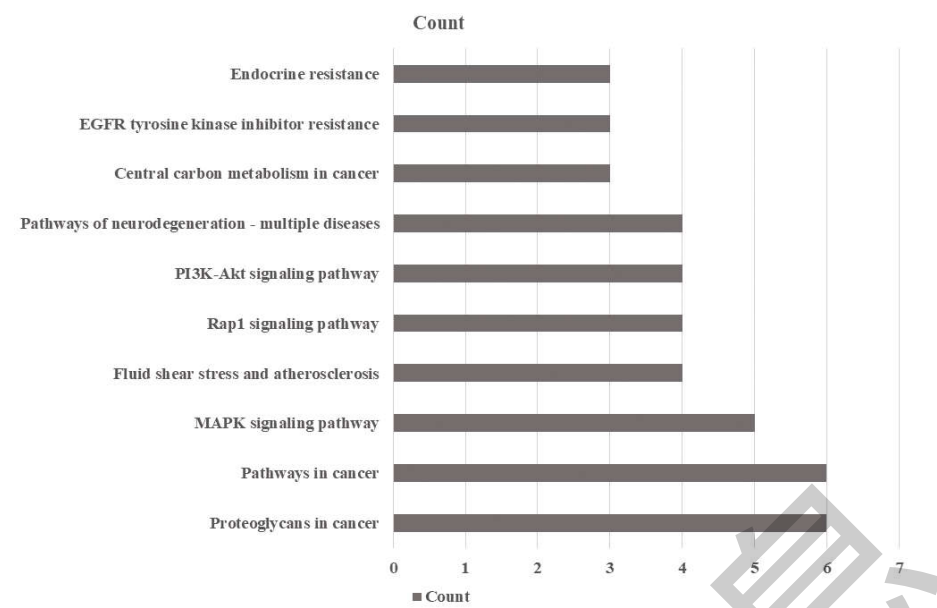
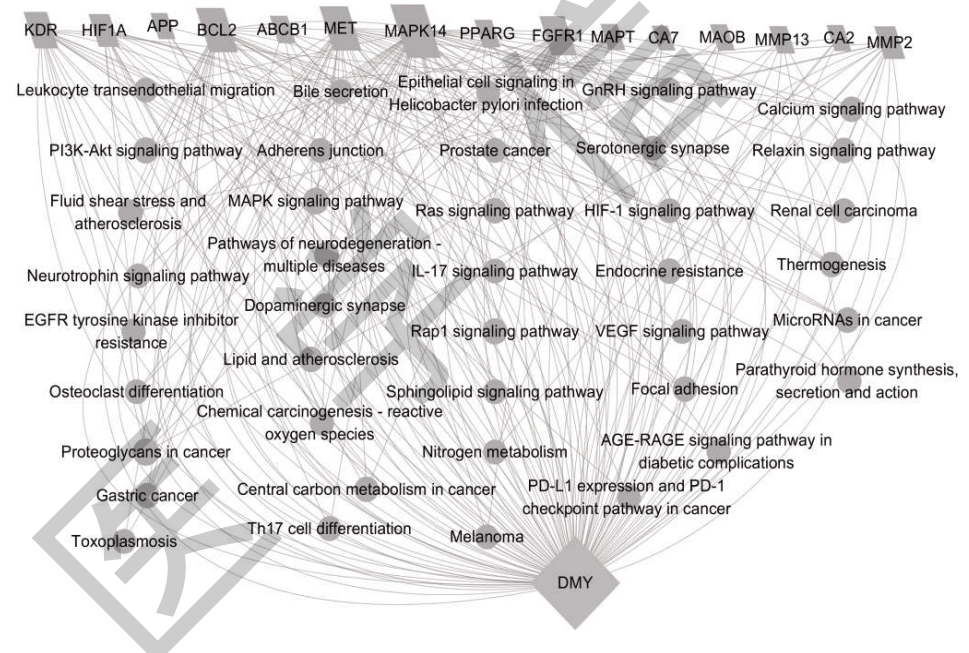


图 3 KEGG 通路富集分析



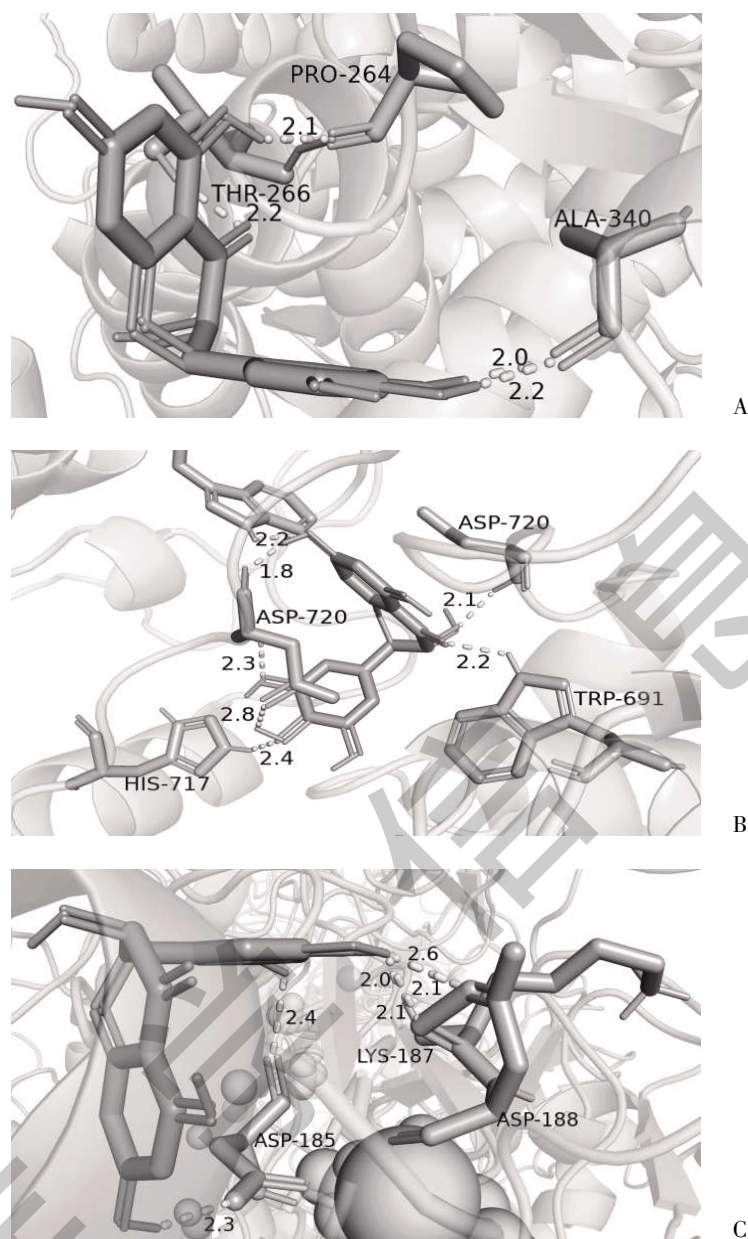
注:平行四边形为 DMY 的靶点,圆点为信号通路,菱形为化合物

图 4 “化合物-靶点-通路”网络图

表 2 DMY 与 15 个作用靶点对接结合能 (kcal/mol)

靶点名称	结合能	靶点名称	结合能	靶点名称	结合能
FGFR1	-8.2	PPARG	-8.0	MMP2	-7.9
CA2	-7.6	MET	-7.4	BCL2	-7.4
KDR	-7.4	MAOB	-7.3	HIF1A	-7.2
MAPK14	-7.2	APP	-7.0	MMP13	-7.0
CA7	-7.0	ABCB1	-6.7	MAPT	-5.0





注:A:DMY 与 FGFR1;B:DMY 与 PPARG;C:DMY 与 MMP2

图 5 分子对接图

### 3 讨论

本研究 PPI 网络的拓扑分析结果显示,HIF1A、KDR、APP 等靶点关联度较高。有研究发现<sup>[6,7]</sup>,DMY 可介导 HIF1A 的表达降低,而 HIF1A 是 HIF-1 的活性亚基,HIF-1 可以通过多种方面控制线粒体的活性,是缺氧诱导的线粒体自噬的中枢调剂。KDR 也称血管内皮生长因子受体-2(VEGFA-2),属于血管内皮生长因子受体(VEGFA)的一种,DMY 在影响胃癌细胞 VEGFA 表达的同时可抑制 KDR 在血管内皮细胞中的表达<sup>[8,9]</sup>。此外,KDR 与可溶性蛋白

聚糖相互作用,引起乳腺癌细胞线粒体自噬<sup>[10]</sup>。APP 与 Tau 对线粒体自噬具有协同作用,而 DMY 可影响 APP/PS1 转基因小鼠的学习记忆力<sup>[11,12]</sup>。由此可知,HIF1A、KDR、APP 等靶点与 DMY 和线粒体自噬密切相关。

本研究中 GO 功能富集和 KEGG 富集通路结果显示,DMY 与线粒体自噬的生物过程主要富集于对氧化应激、金属离子等的反应,分子功能主要富集为蛋白磷酸酶结合、跨膜受体蛋白络氨酸激酶活性等;DMY 与线粒体自噬富集于癌症蛋白聚糖、癌症、

MAPK等40条信号通路上。有研究发现<sup>[13,14]</sup>,氧化应激与线粒体自噬具有相互作用,氧化应激受损可加强线粒体的自噬程度,而线粒体自噬在一定程度上能调节抗氧化的水平,而DMY可通过调节细胞凋亡的线粒体而保护内皮细胞,使其不受氧化应激。另有研究表明<sup>[15,16]</sup>,脑出血时,周围组织的氧化应激和离子紊乱会影响活性氧含量、线粒体膜电位,从而导致线粒体外膜去极化,引起PINK1/Parkin通路诱导的线粒体自噬;而DMY可以与铜、锌等多种金属离子发生反应,增强DMY抑菌杀菌、抗氧化的作用。另外,MAPK/AERK/CREB信号通路可调节MFN2相关的线粒体自噬<sup>[17]</sup>;MAPK通路中的JNK信号通路参与调控多种细胞活动,其中JNK蛋白激酶中的JNK2可诱导线粒体自噬,保护组织器官的损伤<sup>[18]</sup>;p38MAPK/STAT3信号通路可通过抑制线粒体自噬改善胰岛素分泌<sup>[19,20]</sup>。

综上所述,通过网络药理学和分子对接技术对DMY与线粒体自噬的机制进行探讨,预测得到DMY可能通过作用于HIF1A、KDR、APP等多个靶点,调控癌症蛋白聚糖、癌症、MAPK等多信号通路,改善对氧化应激、金属离子等的反应,从而参与线粒体自噬。

#### 参考文献:

- [1] Li A, Gao M, Liu B, et al. Mitochondrial autophagy: molecular mechanisms and implications for cardiovascular disease [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(5):444.
- [2] Chung C, Seo W, Silwal P, et al. Crosstalks between inflammatory and autophagy in cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):100.
- [3] Sun Y, Liu S, Yang S, et al. Mechanism of Dihydromyricetin on Inflammatory Diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12:794563.
- [4] Ni T, Lin N, Lu W, et al. Dihydromyricetin Prevents Diabetic Cardiomyopathy via miR-34a Suppression by Activating Autophagy [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020, 34(3): 291–301.
- [5] Zhou X, Yu L, Zhou M, et al. Dihydromyricetin ameliorates liver fibrosis via inhibition of hepatic stellate cells by inducing autophagy and natural killer cell-mediated killing effect [J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2021, 18(1):64.
- [6] Rohwer N, Cramer T. Hypoxia-mediated drug resistance: novel insights on the functional interaction of HIFs and cell death pathways [J]. *Drug Resist Updat*, 2011, 14(3):191–201.
- [7] Liu S, Ai Q, Feng K, et al. The cardioprotective effect of dihydromyricetin prevents ischemia-reperfusion-induced apoptosis in vivo and in vitro via the PI3K/Akt and HIF-1 $\alpha$  signaling pathways [J]. *Apoptosis*, 2016, 21(12):1366–1385.
- [8] 付婷婷, 栾红, 徐衍红, 等. 二氢杨梅素对人晶状体上皮细胞增殖、凋亡的影响及分子机制研究 [J]. *世界临床药物*, 2022, 43(7):844–850.
- [9] 温培楠, 林明恕, 金冕, 等. 二氢杨梅素通过 ERK/VEGFA/VEGFR2 通路对体内外胃癌血管生成的影响 [J]. *中国癌症杂志*, 2020, 30(2):113–121.
- [10] Buraschi S, Neill T, Iozzo R V. Decorin is a devouring proteoglycan: Remodeling of intracellular catabolism via autophagy and mitophagy [J]. *Matrix Biol*, 2019, 75–76:260–270.
- [11] Goudarzi S, Hosseini A, Abdollahi M, et al. Insights Into Parkin-Mediated Mitophagy in Alzheimer's Disease: A Systematic Review [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13:674071.
- [12] 丁亚, 赵月阳, 贺桂琼. 二氢杨梅素对 APP/PS1 转基因小鼠学习记忆和脑内自噬的影响 [J]. *神经解剖学杂志*, 2020, 36(4): 411–418.
- [13] 易永丽, 雷娅, 王坤, 等. 大黄-桃仁药对调控子宫腺肌病在位内膜线粒体稳态的机制研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(15):4709–4718.
- [14] Hou X, Tong Q, Wang W, et al. Dihydromyricetin protects endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress damage by regulating mitochondrial pathways [J]. *Life Sci*, 2015, 130:38–46.
- [15] 张占伟, 廖亮英, 杨惠, 等. 龙脑醒脑颗粒介导线粒体自噬对脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑神经细胞的保护作用 [J]. *中医药导报*, 2022, 28(11):23–29.
- [16] Chen B, Chen Z, Liu M, et al. Inhibition of neuronal ferroptosis in the acute phase of intracerebral hemorrhage shows long-term cerebroprotective effects [J]. *Brain Res Bull*, 2019, 153:122–132.
- [17] Zhang Z, Yu J. NR4A1 Promotes Cerebral Ischemia Reperfusion Injury by Repressing Mfn2-Mediated Mitophagy and Inactivating the MAPK-ERK-CREB Signaling Pathway [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(10):1963–1977.
- [18] 匡红. Jnk2 通过 smARF 的降解来调控压力诱导的线粒体自噬及组织损伤 [D]. 杭州: 浙江理工大学, 2015.
- [19] 乔曦, 许世豪, 王宇炜, 等. 大柴胡汤通过调控 p38 MAPK/IL-6/STAT3 信号通路抑制肝癌的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(16):19–31.
- [20] 白博文. 雌激素通过 GPER-p38MAPK/STAT3 信号通路影响线粒体自噬调节胰岛  $\beta$  细胞功能的分子机制研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.

收稿日期: 2023-02-13; 修回日期: 2023-02-26

编辑/杜帆