

基于网络药理学及分子对接探究荷叶生物碱抗高尿酸血症的作用机制

楚邵璇, 王 晓, 唐 征, 张志毅, 董红敬, 宫建泉, 郑振佳

Action Mechanism of *Nelumbo nucifera* Leaf Alkaloids in the Treatment of Hyperuricemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

CHU Shaoxuan, WANG Xiao, TANG Zheng, ZHANG Zhiyi, DONG Hongjing, GONG Jianquan, and ZHENG Zhenjia

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023110189>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于网络药理学和分子对接探讨桑枝改善高尿酸血症的作用机制

Study on the Mechanism of Mulberry Twig Improving Hyperuricemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

食品工业科技. 2022, 43(19): 22-30 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120340>

基于网络药理学和分子对接探讨刺老苞防治骨质疏松症的作用机制

Mechanism of *Aralia echinocaulis* in Treatment of Osteoporosis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

食品工业科技. 2022, 43(8): 11-21 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021100014>

基于网络药理学及分子对接技术探讨辣木叶抗肥胖的作用机制

Study on the Anti-obesity Mechanism of Action of *Moringa oleifera* Lam. Leaves by Network-Based Pharmacology and Molecular Docking Techniques

食品工业科技. 2023, 44(15): 34-45 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090318>

基于网络药理学和分子对接探究黄芪-女贞子治疗免疫缺陷病的作用机制

Mechanism of *Astragalus-Ligustrum lucidum* in the Treatment of Immunodeficiency Diseases Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

食品工业科技. 2022, 43(3): 374-383 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021060024>

基于网络药理学及分子对接技术探讨绞股蓝防治肥胖的作用机制

Mechanism of *Gynostemma pentaphyllum* on Prevention and Treatment of Obesity Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

食品工业科技. 2022, 43(4): 12-23 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070083>

基于网络药理学与分子对接探讨沙棘抗肥胖作用机制

Exploring the Mechanism of Hippophae Fructus Anti-obesity through Network Pharmacology and Molecular Docking

食品工业科技. 2024, 45(6): 1-11 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023060160>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

楚邵璇, 王晓, 唐征, 等. 基于网络药理学及分子对接探究荷叶生物碱抗高尿酸血症的作用机制 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(17): 10–20. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110189

CHU Shaoxuan, WANG Xiao, TANG Zheng, et al. Action Mechanism of *Nelumbo nucifera* Leaf Alkaloids in the Treatment of Hyperuricemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(17): 10–20. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110189

· 特邀主编专栏—生物大分子: 性质、结构、特性和功效机制 (客座主编: 于寒松、方亚鹏、刘回民) ·

基于网络药理学及分子对接探究荷叶生物碱 抗高尿酸血症的作用机制

楚邵璇¹, 王 晓², 唐 征³, 张志毅¹, 董红敬², 宫建泉⁴, 郑振佳^{1,*}

(1. 山东农业大学食品科学与工程学院, 山东省高等学校食品营养与健康重点实验室, 山东泰安 271018;

2. 齐鲁工业大学 (山东省科学院) 山东省分析测试中心, 山东济南 250014;

3. 山东泰乐源食品科技股份有限公司, 山东泰安 271400;

4. 烟台百脉山生物科技有限公司, 山东烟台 265200)

摘要: 目的: 运用网络药理学及分子对接分析荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的作用机制。方法: 通过数据库检索获取荷叶生物碱类化合物作用靶点以及高尿酸血症靶点, 通过 Cytoscape 3.8.0 建立荷叶生物碱类化合物的“成分-疾病-靶点”网络, 利用微生信平台进行基因本体论 (GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析, 并将核心靶点与关键成分进行分子对接验证。结果: 通过文献检索获取 27 种荷叶生物碱类化合物信息, 包括荷叶碱、衡州乌药碱、莲心碱等, 预测获得对应靶点 337 个, 高尿酸血症相关靶点 926 个, 关键靶点 57 个。荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的作用机制主要涉及 *GAPDH*、*STAT3*、*JUN*、*CASP3*、*PTGS2*、*XDH*、*MAPK1* 等靶基因, 这些基因主要通过 AGE-RAGE 信号通路、PD-1 通路、TNF 信号通路、IL-17 信号通路以及 p53 信号通路等调控蛋白表达发挥作用。分子对接结果显示化合物与分子靶点对接结果良好, 荷叶碱、衡州乌药碱、莲心碱均可与关键靶点自发结合, 其中莲心碱与蛋白 *PTGS2*、*JUN* 可形成最稳定结构, 结合能可达 -9.3 kcal/mol。结论: 本研究预测荷叶生物碱类化合物通过调控多靶点、多通路发挥改善高尿酸血症的作用, 为荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的分子研究提供了科学依据。

关键词: 网络药理学, 荷叶生物碱, 高尿酸血症, 分子对接, 作用机制

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)17-0010-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110189



本文网刊:

Action Mechanism of *Nelumbo nucifera* Leaf Alkaloids in the Treatment of Hyperuricemia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

CHU Shaoxuan¹, WANG Xiao², TANG Zheng³, ZHANG Zhiyi¹, DONG Hongjing², GONG Jianquan⁴, ZHENG Zhenjia^{1,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Key Laboratory of Food Nutrition and Healthy in Universities of Shandong, Taian 271018, China;

2. Shandong Analysis and Test Center, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250014, China;

3. Shandong Tai Leyuan Food Science & Technology Co., Ltd., Taian 271400, China;

4. Yantai Baimaishan Biotechnology Co., Ltd., Yantai 265200, China)

收稿日期: 2023-11-21

基金项目: 山东省重点研发计划 (2021CXGC010508); 百脉山科技研发基金 (BMS202301)。

作者简介: 楚邵璇 (1999-), 女, 硕士, 研究方向: 果蔬加工与功能食品, E-mail: 17861506478@163.com。

* 通信作者: 郑振佳 (1985-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 果蔬加工与功能食品, E-mail: zhengzhenjia@sdau.edu.cn。

Abstract: Objective: The mechanism of action of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids in the treatment of hyperuricemia was analyzed based on network pharmacology and molecular docking. Methods: The target of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids and disease targets related to hyperuricemia were obtained through database search. The "component-disease-target" network of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids was established through Cytoscape 3.8.0, and the gene ontology (GO) analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genome (KEGG) pathway analysis were carried out using the bioinformatics-based platform. The core target and key components were verified by molecular docking. Results: The information of 27 kinds of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids, including nuciferine, coclaurine, liensinine, was obtained by literature search, and 337 corresponding targets, 926 hyperuricemia-related targets and 57 key targets were predicted. The mechanism of action of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids in the treatment of hyperuricemia mainly involved *GAPDH*, *STAT3*, *JUN*, *CASP3*, *PTGS2*, *XDH*, *MAPK1* and other target genes. These genes mainly played a role in regulating protein expression through AGE-RAGE signaling pathway, PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway, TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway and p53 signaling pathway. The results of molecular docking showed that the compound had good docking results with the molecular target. Nuciferine, coclaurine and liensinine bound to the key targets spontaneously, among which liensinine formed the most stable structure with *PTGS2* and *JUN*, and the binding energy could reach -9.3 kcal/mol. Conclusion: This study predicted that *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids could ameliorate hyperuricemia by regulating multiple targets and action multiple pathways, which could provide scientific basis for molecular research of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids in the treatment of hyperuricemia.

Key words: network pharmacology; *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids; hyperuricemia; molecular docking; mechanism of action

高尿酸血症(Hyperuricemia, HUA)是一种由于生物嘌呤合成代谢增加,尿酸产生过多或排泄不良而导致血液中尿酸含量升高的病症,在我国发病率高达 13.3%^[1]。当体内尿酸浓度过高时,尿酸从血液中析出后以钠盐的形式结晶而沉积在关节、软骨组织或肾脏中,引起关节肿大、畸形、痛风性肾结石等疾病^[2-3]。目前临床上多采用抑制尿酸吸收,促进尿酸排泄等方式治疗高尿酸血症,常见药物有别嘌醇、非布司他、苯溴马隆和丙磺舒等,临床研究发现部分药品存在不同程度的副作用^[4-5]。如何从天然产物中寻找安全性高且具有降尿酸活性的有效成分成为高尿酸血症相关的研究热点。

荷叶为睡莲科植物莲(*Nelumbo nucifera* Gaertn)的叶,其中荷叶生物碱类为其主要功能成分,不同产地、气候与水土环境会导致生物碱种类和含量差异显著^[6]。荷叶生物碱具有降脂减肥^[7]、抑菌杀菌^[8]、抗病毒^[9]、抗肿瘤^[10]、抗炎^[11]、降血脂^[12]和舒张血管^[13]等作用。现已证明荷叶生物碱中的荷叶碱可以通过调节动物肾脏有机离子转运蛋白表达而发挥其降尿酸功能^[14],但其他生物碱降尿酸效果及其作用机制尚不明确。

网络药理学是一门基于系统生物学和网络生物学、结合计算机科学和药理学的新兴学科,可以通过生物网络模型分析“成分-基因-靶点-疾病”间的相互作用关系,解释疾病治疗的原理和作用机制,指导具有高靶向性、疗效显著的新药研发^[15-16]。分子对接技术基于药物与蛋白质分子呈现锁钥关系,通过计算机模拟对配体与受体之间作用位点以及作用力强弱进行分析^[17]。因此本研究采用网络药理学结合分子对接的方法,预测作用靶点及机制,探寻荷叶生物碱类化合物降低高尿酸作用的物质基础和作用机制,

为天然产物治疗高尿酸血症提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 荷叶成分及相关靶点筛选

通过 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取已知荷叶生物碱类化合物的结构(SDF 格式),将化合物结构分别导入 SwissTarget Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>),转化为 SMILES 结构进行检索,获取每种化合物前 15 个重要靶点进行信息富集^[18]。将各化合物得到的药物靶点合并、去重,通过 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)转换为 Gene Symbol。

1.2 高尿酸血症相关靶点筛选

以“Hyperuricemia”为关键词,在 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、Drugbank(<https://go.drugbank.com/>)、Disgenet(<https://www.disgenet.org/>)及 OMIM(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)数据库检索并获得与高尿酸血症相关基因,将所得结果合并、去重,整合有效疾病靶点得到高尿酸血症相关靶点数据库。

1.3 筛选核心靶点

将荷叶生物碱类化合物与 Hyperuricemia 获得的相关靶点输入微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)在线平台绘制 Venn 图,得到核心靶点。

1.4 构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络

将上述得到的核心靶点导入 STRING(<https://string-db.org/>)数据库构建 PPI 网络,限定物种为“Homo sapiens”,选择最低相互作用阈值,下载 TSV 文件,将数据导入 Cytoscape 3.8.0 绘制 PPI 网络并分析。将节点(node)大小和颜色用于反映度值(degree)的大小,边(edge)的粗细用于反映结合分数的大小。

1.5 GO 富集和 KEGG 通路富集分析

将得到的核心靶点导入 Metascape 数据库, 限定物种为“Homo sapiens”, 设定阈值为 $P \leq 0.05$, 进行基因本体(Gene ontology, GO)的生物进程(Biological process, BP)、细胞组分(Cellular component, CC)和分子功能(Molecular function, MF)分析, 以及京都基因和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。根据 P 值, 选取排名前 20 的 GO 富集上传至微生信平台绘制柱状图; 根据 P 值、enrichment、count 值, 选取排名前 20 的 KEGG 通路上传至微生信平台绘制富集气泡图。

1.6 分子对接

采用 Autodock Vina 对荷叶生物碱类化合物和治疗高尿酸血症中关键靶点进行分子对接验证。靶点蛋白 CASP3、PTGS2、JUN、GAPDH、STAT3 结构来源于 RCSB PDB 数据库 (www.rcsb.org, ID CODE: 1NMS、5F19、5T01、6IQ6、6QHD)。采用 Autodock Tools1.5.7 对蛋白晶体结构删除水分子、配体, 进行加氢处理, 按照标准程序制备 PDBQT 文件。三种结构代表性荷叶生物碱(荷叶碱、衡州乌药碱、莲心碱)的 2D 结构由 PubChem 网站获得并将

其导入 Autodock Tools1.5.7 进行加氢处理, 得到三种荷叶生物碱的 PDBQT 文件。设置对接口袋将靶点蛋白的潜在活性位点全部覆盖, 寻找对接构象, 并取结合能最低的构象作为分子对接结果。使用 Pymol 对分子对接结果进行分析, 呈现配体在受体对接口袋中的相对位置和相互作用关系。

2 结果与分析

2.1 荷叶生物碱类化合物对应靶点预测

根据荷叶生物碱母核结构及连接基团的差异, 可以分为阿朴啡类, 如 N-去甲基荷叶碱、荷叶碱等; 单苄基异喹啉类, 如亚美罂粟碱、衡州乌药碱等; 双苄基异喹啉类, 如莲心碱、甲基莲心碱等; 氧化阿朴啡类, 如鹅掌楸碱、观音莲明碱等; 去氢阿朴啡类, 如去氢荷叶碱、去氢莲碱等; 原阿朴啡类和其他类^[19-20]。在中国知网、Web of Science 和 Science Direct 搜索荷叶中生物碱成分, 共获取 27 种生物碱类化合物信息, 其网络靶点分析顺序见表 1, 利用 SwissTarget Prediction 数据库预测化合物对应靶点 337 个, 通过 Cytoscape 软件构建“荷叶生物碱类化合物-靶点”网络进行化合物与靶点关系分析。如图 1 所示, 观音莲明碱和鹅掌楸碱关联靶点成分高达 113 个, 荷叶碱、衡州乌药碱、莲碱、去氢番荔枝碱、去氢荷叶碱、

表 1 荷叶生物碱类化合物网络靶点分析顺序

Table 1 Analysis sequence of network target of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids

| 序号 | 生物碱名称 | 序号 | 生物碱名称 | 序号 | 生物碱名称 |
|-----|--------------------|------|---------------------|------|-------------------|
| HY1 | 亚美罂粟碱 | HY10 | 甲基莲心碱 | HY19 | N-去甲基荷叶碱 |
| HY2 | 衡州乌药碱 | HY11 | 莲心季铵碱 | HY20 | 巴婆碱 |
| HY3 | 异衡州乌药碱 | HY12 | 荷叶碱 | HY21 | 去氢荷叶碱 |
| HY4 | N-甲基异衡州乌药碱 | HY13 | 莲碱 | HY22 | 去氢莲碱 |
| HY5 | N-甲基衡州乌药碱 | HY14 | 番荔枝碱 | HY23 | 去氢番荔枝碱 |
| HY6 | N-去甲基亚美罂粟碱 | HY15 | 山矾碱 | HY24 | 观音莲明碱 |
| HY7 | O-methylarmepavine | HY16 | 北美鹅掌楸尼定碱 | HY25 | 鹅掌楸碱 |
| HY8 | 莲心碱 | HY17 | N-methylasimilobine | HY26 | 原荷叶碱 |
| HY9 | 异莲心碱 | HY18 | O-去甲基荷叶碱 | HY27 | N-methyluciferine |

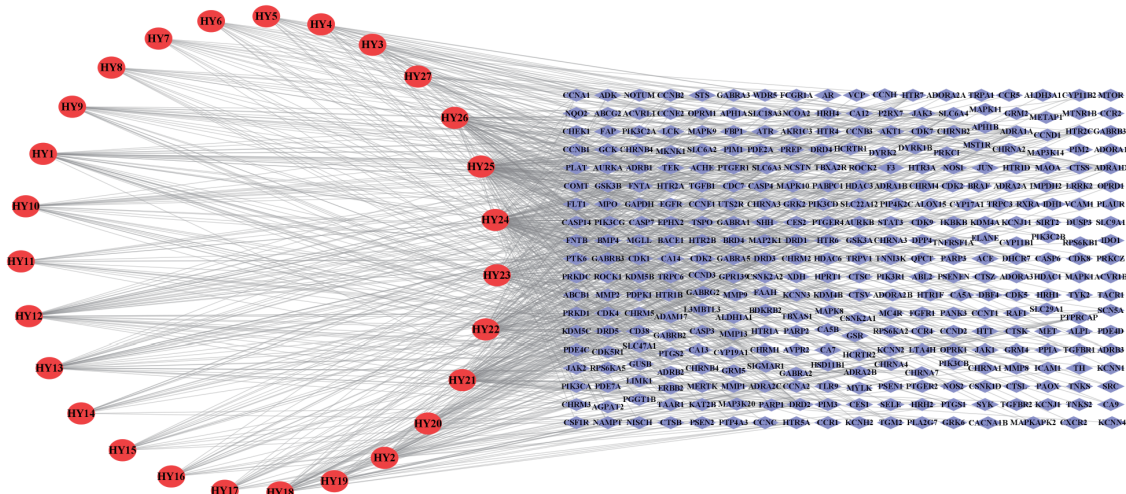


图 1 “荷叶生物碱类化合物-靶点”网络

Fig.1 Network diagram of "alkaloids of *Nelumbo nucifera* leaf-target"

去氢莲碱、亚美罂粟碱、O-去甲基荷叶碱和原荷叶碱的关联靶点均超过 30 个, 表明荷叶生物碱类化合物可能通过作用于多靶点而发挥其生物活性。

2.2 高尿酸血症相关靶点检索

通过检索 GeneCards、Drugbank、Disgenet 及 OMIM 等数据库, 整合、去重, 共获得高尿酸血症相关靶点 926 个。将以上所得化合物成分靶点和疾病靶点取交集, 通过微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 在线平台绘制 Venn 图 (图 2), 得到荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的作用靶点共 60 个, 见表 2。

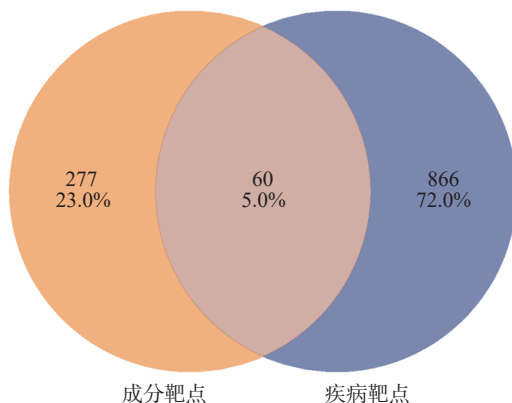


图 2 成分靶点与疾病靶点韦恩图

Fig.2 Venn diagram of component target and disease target

表 2 荷叶生物碱类化合物对应高尿酸血症靶点

Table 2 Targets of alkaloids of *Nelumbo nucifera* leaf for hyperuricemia

| 序号 | 共同靶点 | 序号 | 共同靶点 | 序号 | 共同靶点 |
|----|---------|----|---------|----|----------|
| 1 | KCNJ1 | 21 | CCND2 | 41 | RXRA |
| 2 | DRD5 | 22 | CYP17A1 | 42 | ABCG2 |
| 3 | GCK | 23 | JUN | 43 | ADRA2A |
| 4 | CCR2 | 24 | PIK3CG | 44 | ADRB2 |
| 5 | PIK3C2A | 25 | CDK1 | 45 | ADRB3 |
| 6 | PARP1 | 26 | CCND3 | 46 | FBP1 |
| 7 | MAPK1 | 27 | CCNH | 47 | GSR |
| 8 | SELE | 28 | CYP11B2 | 48 | HPRT1 |
| 9 | ACE | 29 | HTR1A | 49 | HTR2A |
| 10 | CDK4 | 30 | HTR3A | 50 | MAOA |
| 11 | STAT3 | 31 | KCNJ11 | 51 | NCOA2 |
| 12 | JAK2 | 32 | TLR9 | 52 | P2RX7 |
| 13 | HDAC1 | 33 | AGPAT2 | 53 | PTGS2 |
| 14 | ICAM1 | 34 | CCR1 | 54 | SLC22A12 |
| 15 | MAPK8 | 35 | CDK7 | 55 | SLC6A3 |
| 16 | CASP3 | 36 | PARP2 | 56 | TGFB1 |
| 17 | DRD2 | 37 | COMT | 57 | XDH |
| 18 | HDAC3 | 38 | VCAM1 | 58 | SLC47A1 |
| 19 | PLAT | 39 | GAPDH | 59 | MTOR |
| 20 | CASP6 | 40 | PLA2G7 | 60 | AR |

2.3 蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络

将所得交集靶点通过 STRING 数据库和 Cytoscape 软件进行分析, PPI 网络如图 3 所示, 共得到关键靶点 57 个和 341 条相互关系。网络中度值越大表明其发挥作用越大^[16], 由此推断 GAPDH、STAT3、JUN、CASP3、PTGS2 等靶点可能在治疗高尿酸血

症中发挥关键作用。其中, GAPDH 在肿瘤组织和正常细胞组织表达不一致时可作为肿瘤发生的标志物^[21], JUN 原癌基因涉及人类恶性肿瘤易位和缺失的染色体区域并参与肿瘤细胞的生长调控^[22], 由于高尿酸血症的血清尿酸水平与癌症发病率和死亡率之间存在线性关系^[23], 因此 GAPDH 和 JUN 表达异常时血清尿酸含量可能出现异常。CASP3 在细胞凋亡中起关键作用^[24], 当 CASP3 表达水平升高时, 大鼠肾小管水肿扩张且上皮细胞萎缩, 肾脏损伤明显, 抑制其表达后肾小管扩张减弱, 上皮细胞变性减少^[25], 因此 CASP3 的表达与肾脏功能密切相关。STAT3 编码的蛋白在细胞过程如细胞生长和凋亡中起关键作用^[26], 是肾纤维化进展中的关键信号之一, 其抑制剂 S3I-201 可以降低高尿酸血症小鼠的血清尿酸水平, 抑制高尿酸血症小鼠肾脏 TGF- β /Smads、JAK/STAT 和 NF- κ B 纤维化信号通路, 延缓肾纤维化发展^[27]。PTGS2 基因在调控炎症反应中发挥重要作用^[28], 当细胞内尿酸水平过高时, 尿酸激活 NADPH 氧化酶, 产生活性氧, 继而提高血清中 MDA、IL-6、TNF- α 和 IL-8 水平^[29-30], 诱导炎症反应造成细胞损伤^[5], 因此 PTGS2 的表达异常与肾脏转运尿酸能力密切相关。综上所述, 上述靶点与细胞的增殖、分化、迁移及凋亡, 蛋白质磷酸化, 组织修复及炎症反应等相关, 说明荷叶生物碱类化合物可能是通过多靶点、多通路调节以上生物过程发挥治疗高尿酸血症的作用。

2.4 GO 功能分析及 KEGG 通路富集分析

关键靶点的 GO 功能分析见图 4。从生物过程 (BP) 分析, 荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症主要涉及细胞运动的正向调节 (positive regulation of cell motility)、蛋白质磷酸化的正向调节 (positive regulation of protein phosphorylation) 以及细胞中单原子离子运输调控 (regulation of monoatomic ion transport) 等; 细胞组分 (CC) 结果显示, 荷叶生物碱类化合物发挥作用主要涉及周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物 (cyclin-dependent protein kinase holoenzyme complex)、蛋白激酶复合物 (protein kinase complex) 和 RNA 聚合酶 II 转录调控复合物 (RNA polymerase II transcription regulator complex) 等; 分子功能 (MF) 表明荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的过程集中于去甲肾上腺素结合 (norepinephrine binding)、G 蛋白偶联受体活性 (G protein-coupled amine receptor activity) 和细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶活性 (cyclin-dependent protein kinase activity) 等。以上结果表明荷叶生物碱类化合物通过参与多种生物调控过程减轻高尿酸症状。

关键靶点的 KEGG 通路富集分析得到 124 条信号通路, 取富集分数前 20 的通路作图, 见图 5。结果表明荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的信号通路主要涉及糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号

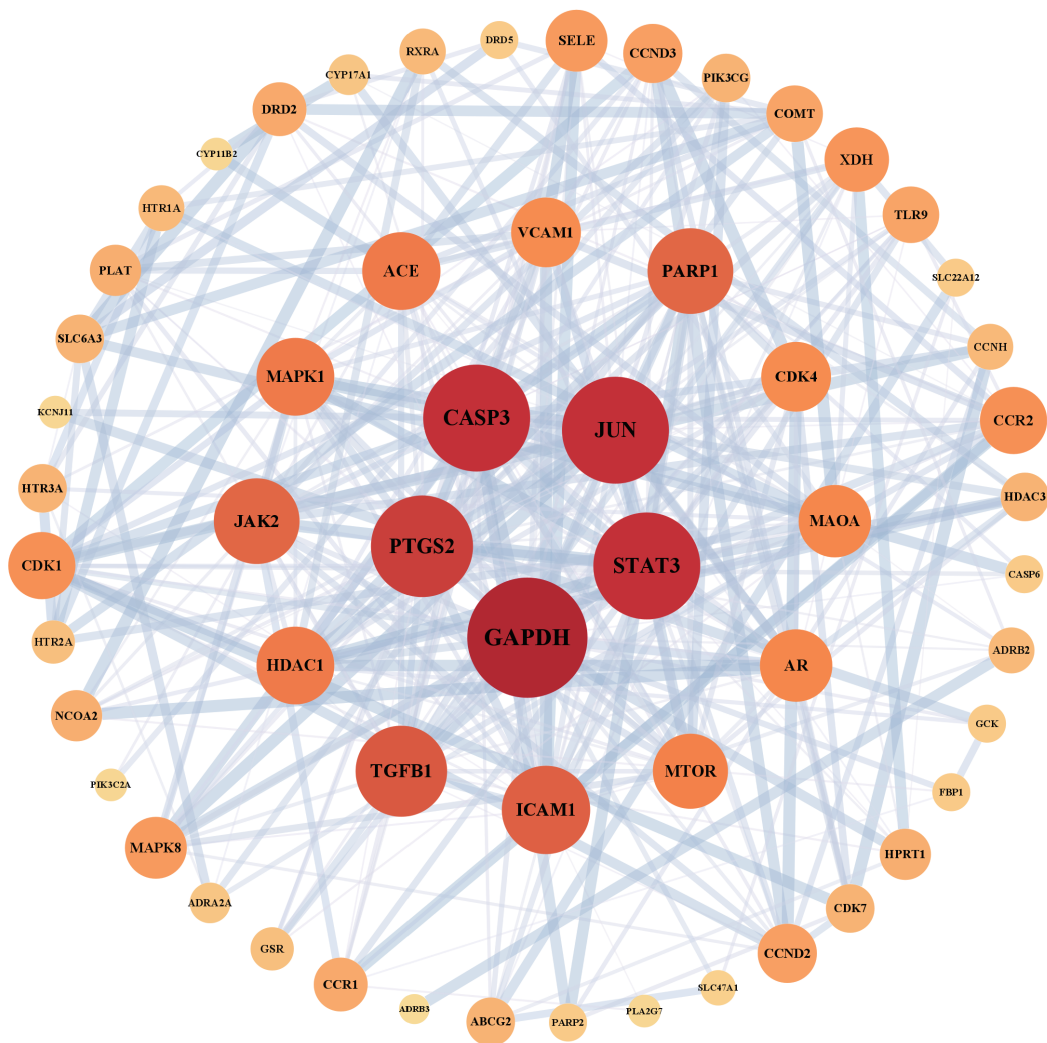


图 3 荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的 PPI 网络

Fig.3 PPI network of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids for treatment of hyperuricemia

通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、癌症中 PD-L1 的表达和 PD-1 通路 (PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer)、TNF 信号通路 (TNF signaling pathway)、IL-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway) 以及 p53 信号通路 (p53 signaling pathway) 等。尿酸产生过程中的关键限速酶黄嘌呤氧化还原酶 (XOR) 可催化生成尿酸和 ROS, 参与各种疾病如代谢性综合征、心血管疾病和癌症等发挥促炎或抗炎作用, 表明荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的信号通路具有高可信度^[31]。KEGG 通路富集分析相关基因见表 3, 作用靶点与通路网络分析见图 6。

结合表 3 和图 6 可知, 糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications) 主要涉及 *CASP3*、*CDK4*、*ICAMI*、*JAK2*、*JUN*、*MAPK1*、*MAPK8*、*SELE*、*STAT3*、*TGFBI*、*VCAMI* 共 11 个基因, 其中 *CASP3*、*MAPK1*、*JAK2* 与细胞生长、分化有关, 调控细胞功能发挥和细胞凋亡^[24,32-33]。杨晨曦^[34] 分析了 II 型糖尿病伴高尿酸血症中医证型分布特征及影响证型的危险因素, 验证了现代学者“消渴合并尿酸浊”理论,

临床表明 II 型糖尿病伴高尿酸血症患者的糖代谢紊乱更明显, 且增高其并发症概率^[35]。TNF 信号通路 (TNF signaling pathway) 主要涉及 *CASP3*、*ICAMI*、*JUN*、*MAPK1*、*MAPK8*、*PTGS2*、*SELE*、*VCAMI* 共 8 个基因, *ICAMI* 可使白细胞聚集到炎症部位, 参与细胞信号转导与活化、免疫应答、炎症反应等重要生理过程^[36]; *PTGS2* 可被促炎因子、促肿瘤因子等高度诱导, 参加炎症反应、细胞凋亡等多种生理过程^[28]; *MAPK8* 可启动 JUN 激酶活性和蛋白丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸激酶活性, 作用于多个过程的上游^[37]。大量的研究集中在通过降低炎症反应而减轻高尿酸血症, Chen 等^[38] 通过小鼠实验证明姜黄素可以减少血清中炎症因子的产生, 抑制肾脏炎症小体表达而表现出治疗高尿酸血症的作用; 青钱柳、荷叶碱、柚皮素、狼尾草醇提物均被证明可以通过改善炎症反应来缓解高尿酸血症^[39-41]。癌症中 PD-L1 的表达和 PD-1 通路 (PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer) 主要涉及 *MTOR*、*JAK2*、*JUN*、*MAPK1*、*STAT3*、*TLR9* 共 6 个基因, 其中 *TLR9* 是表达于免疫系统细胞的重要受体, 如树突状细胞、巨噬细胞, 其可与 MyD88 相互作用, 导致促炎因子反应

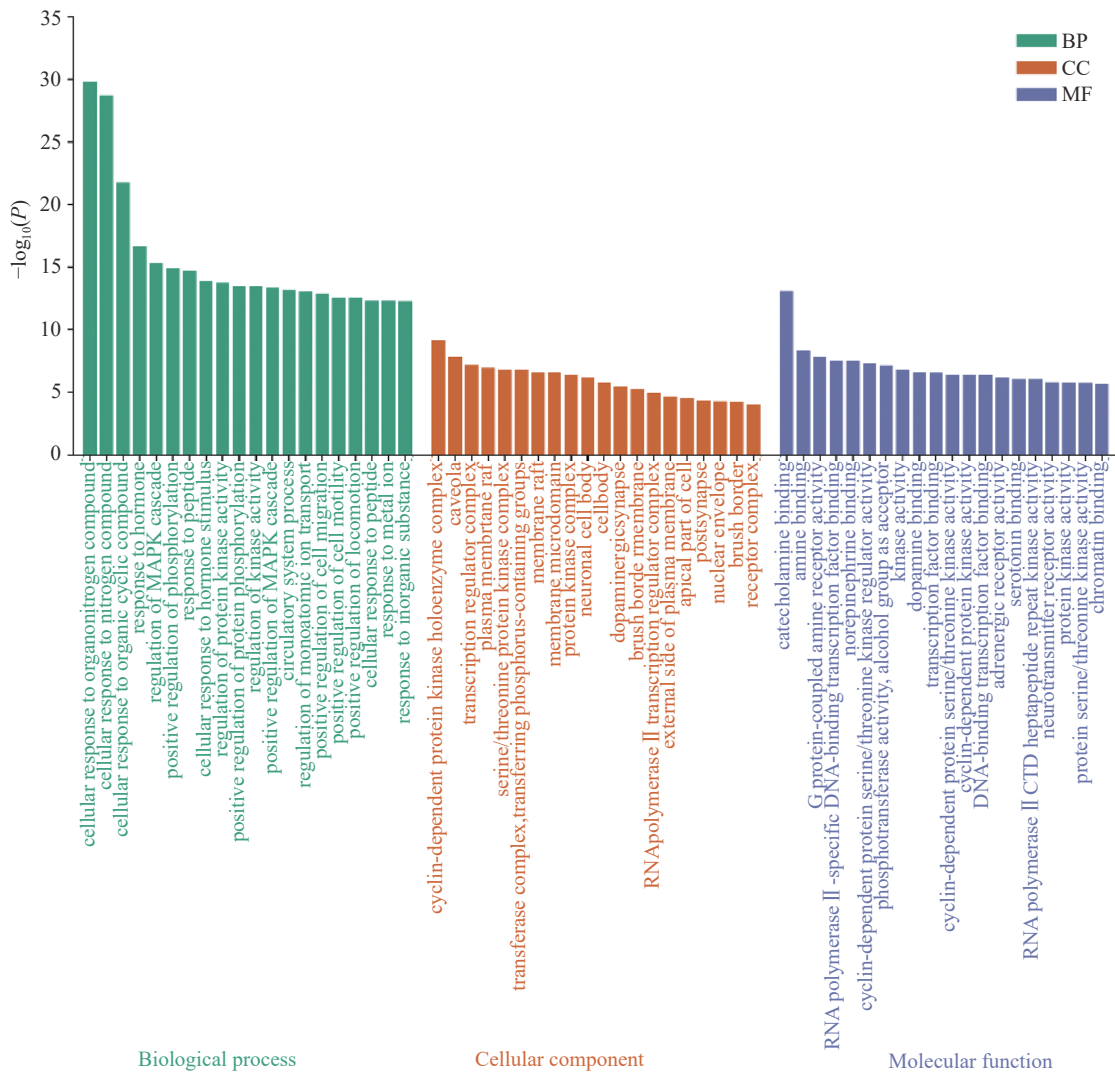


图 4 荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症作用靶点 GO 分析

Fig.4 GO analysis of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids for treatment of hyperuricemia

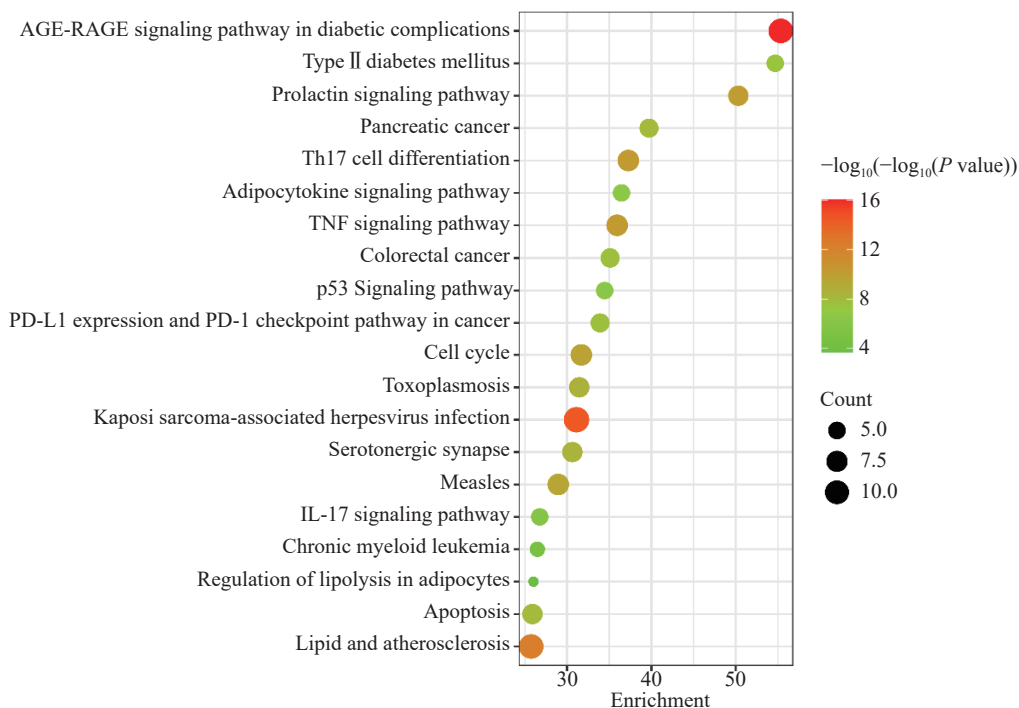


图 5 荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症关键靶点 KEGG 通路富集分析

Fig.5 KEGG pathway enrichment analysis of key targets of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids for hyperuricemia

表3 KEGG 通路富集分析相关基因

Table 3 Related genes for KEGG pathway enrichment analysis

| 通路名称 | 相关基因 | P | 基因数 |
|--|--|----------|-----|
| AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications | <i>CASP3, CDK4, ICAMI, JAK2, JUN, MAPK1, MAPK8, SELE, STAT3, TGFB1, VCAMI</i> | 8.98E-17 | 11 |
| Type II diabetes mellitus | <i>MTOR, GCKK, CNJ11, MAPK1, MAPK8</i> | 3.37E-08 | 5 |
| Prolactin signaling pathway | <i>CCND2, CYP17A1, GCK, JAK2, MAPK1, MAPK8, STAT3</i> | 9.29E-11 | 7 |
| Pancreatic cancer | <i>CDK4, MTOR, MAPK1, MAPK8, STAT3, TGFB1</i> | 9.37E-09 | 6 |
| Th17 cell differentiation | <i>MTOR, JAK2, JUN, MAPK1, MAPK8, RXRA, STAT3, TGFB1</i> | 4.53E-11 | 8 |
| Adipocytokine signaling pathway | <i>MTOR, JAK2, MAPK8, RXRA, STAT3</i> | 2.67E-07 | 5 |
| TNF signaling pathway | <i>CASP3, ICAMI, JUN, MAPK1, MAPK8, PTGS2, SELE, VCAMI</i> | 6.08E-11 | 8 |
| Colorectal cancer | <i>CASP3, MTOR, JUN, MAPK1, MAPK8, TGFB1</i> | 1.98E-08 | 6 |
| p53 signaling pathway | <i>CASP3, CCND2, CCND3, CDK1, CDK4</i> | 3.55E-07 | 5 |
| PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer | <i>MTOR, JAK2, JUN, MAPK1, STAT3, TLR9</i> | 2.44E-08 | 6 |
| Cell cycle | <i>CCND2, CCND3, CCNH, CDK1, CDK4, CDK7, HDAC1, TGFB1</i> | 1.67E-10 | 8 |
| Toxoplasmosis | <i>CASP3, JAK2, PIK3CG, MAPK1, MAPK8, STAT3, TGFB1</i> | 2.63E-09 | 7 |
| Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection | <i>CASP3, CDK4, CCR1, MTOR, ICAMI, JAK2, JUN, PIK3CG, MAPK1, MAPK8, PTGS2, STAT3</i> | 3.77E-15 | 12 |
| Serotonergic synapse | <i>CASP3, HTR1A, HTR2A, HTR3A, MAOA, MAPK1, PTGS2</i> | 3.17E-09 | 7 |
| Measles | <i>CASP3, CCND2, CCND3, CDK4, JUN, MAPK8, STAT3, TLR9</i> | 3.45E-10 | 8 |
| IL-17 signaling pathway | <i>CASP3, JUN, MAPK1, MAPK8, PTGS2</i> | 1.26E-06 | 5 |
| Chronic myeloid leukemia | <i>CDK4, HDAC1, MAPK1, TGFB1</i> | 1.63E-05 | 4 |
| Regulation of lipolysis in adipocytes | <i>ADRB2, ADRB3, PTGS2</i> | 2.13E-04 | 3 |
| Apoptosis | <i>PARP1, CASP3, CASP6, JUN, MAPK1, MAPK8, PARP2</i> | 1.02E-08 | 7 |
| Lipid and atherosclerosis | <i>CASP3, CASP6, ICAMI, JAK2, JUN, MAPK1, MAPK8, RXRA, SELE, STAT3, VCAMI</i> | 4.68E-13 | 11 |

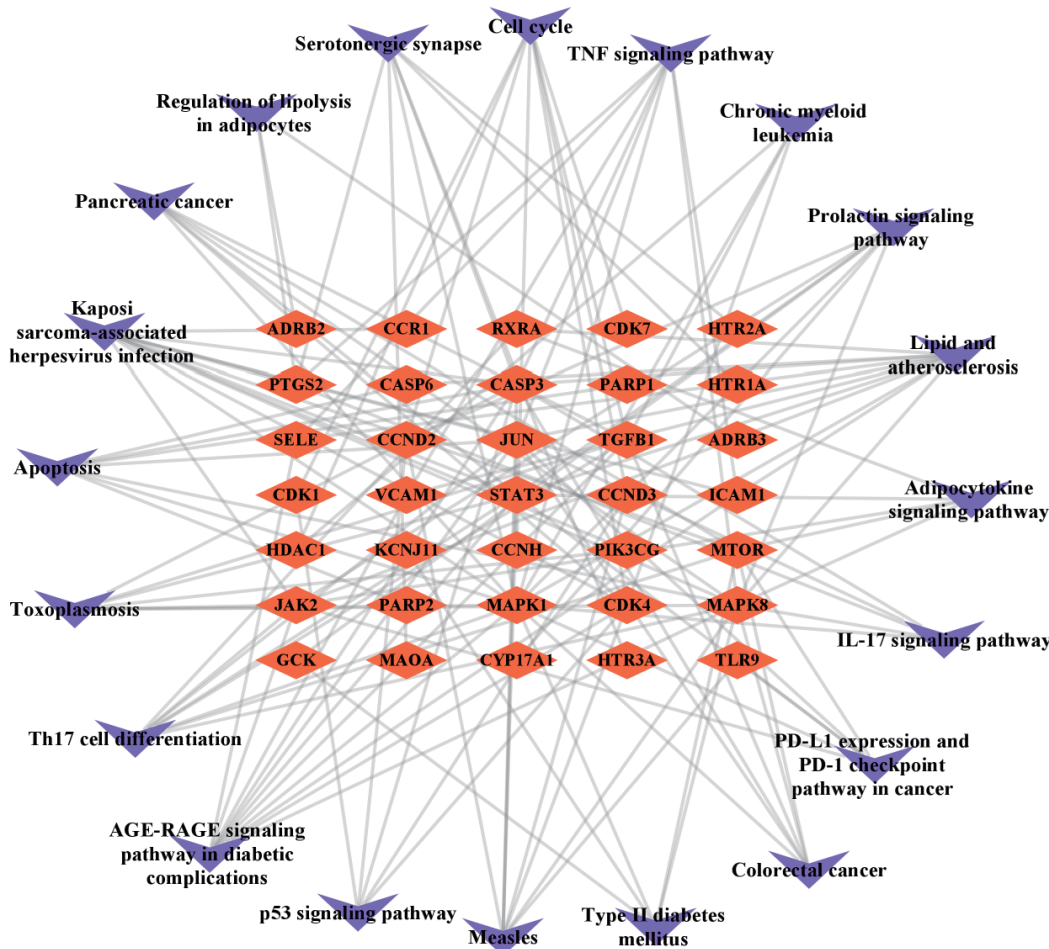


图6 荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症作用靶点与通路网络分析

Fig.6 Network analysis of targets and pathways of *Nelumbo nucifera* leaf alkaloids in the treatment of hyperuricemia

的信号级联反应, 诱导产生 IL-6、TNF、IFN- α 、IL-12 和 I 型干扰素等^[42]; *STAT3* 是信号转导和转录激活因子, 可介导细胞对白介素、KITLG、SCF、LEP 和其他生长因子的反应^[26]。在高尿酸血症与癌症关系研究中发现, XOR 作为生成尿酸的关键限速酶, 其表达和活性与癌症的发生和预后密切相关, 统计数据表明, XOR 在肝癌、乳腺癌、结直肠癌中活性减弱, 在肺癌和脑肿瘤中活性增强^[31], 因此, 对于高尿酸血症的治疗可以通过癌症中的信号通路来调控 XOR 的表达。综上所述, 荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症涉及多个靶点和多个通路, 证实高尿酸血症在体内是一个复杂的代谢性疾病。

2.5 分子对接验证

为了验证荷叶生物碱类化合物预测靶点的准确性, 采用 AutoDock Vine 软件对不同母核结构成分

中代表性化合物荷叶碱、莲心碱、衡州乌药碱和前文筛选出的 *CASP3*、*PTGS2*、*JUN*、*GAPDH* 和 *STAT3* 关键靶点蛋白进行分子对接, 以自由结合能(binding energy)作为筛选条件, 筛选出多构象中结合能最低的对接构象, 结合能越低, 说明受体与配体之间的结合作用越强, 越有可能发生结合^[43]。靶点与成分间的分子对接结合能见表 4, 配体在对接口袋中的相对

表 4 关键靶点与关键成分的分子对接结合能(kcal/mol)
Table 4 Binding energy of key component and key targets (kcal/mol)

| 化合物 | 靶点 | | | | |
|-------|--------------|--------------|------------|--------------|--------------|
| | <i>CASP3</i> | <i>PTGS2</i> | <i>JUN</i> | <i>GAPDH</i> | <i>STAT3</i> |
| 荷叶碱 | -7.3 | -7.0 | -7.3 | -7.4 | -5.4 |
| 衡州乌药碱 | -7.3 | -8.5 | -7.5 | -7.1 | -5.3 |
| 莲心碱 | -9.0 | -9.3 | -9.3 | -9.1 | -5.6 |

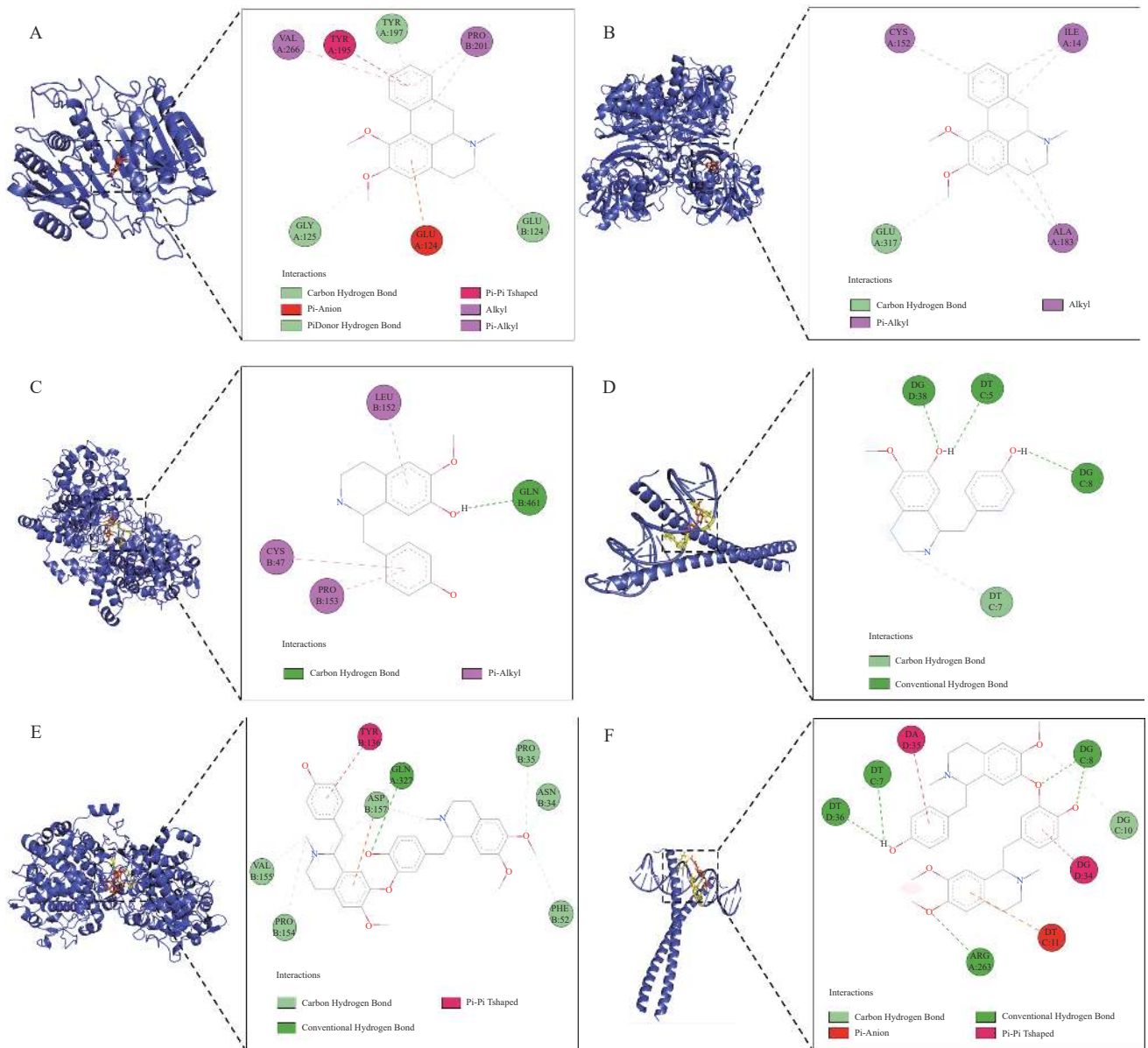


图 7 关键靶点与关键成分分子对接模式

Fig.7 Molecular docking pattern of key target and component

注: A.荷叶碱与 *CASP3* 最佳对接构象; B.荷叶碱与 *GAPDH* 最佳对接构象; C.衡州乌药碱与 *PTGS2* 最佳对接构象; D.衡州乌药碱与 *JUN* 最佳对接构象; E.莲心碱与 *PTGS2* 最佳对接构象; F.莲心碱与 *JUN* 最佳对接构象。

位置和与受体的相互作用关系见图7。对接结果表明荷叶碱、莲心碱、衡州乌药碱均能与靶点形成氢键,其中莲心碱与PTGS2、JUN的结合能可达-9.3 kcal/mol,与GAPDH、CASP3的结合能分别达到-9.1、-9.0 kcal/mol,表明莲心碱与各个靶点氨基酸残基之间形成的相互作用最多,结合最稳定,这可能是由于莲心碱具有两个苜基异喹啉基团组成的骨架,与靶点的结合能力更强^[44]。

3 讨论与结论

本研究基于网络药理学的方法,借助相关数据库及软件对荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的作用靶点及作用机制进行了系统分析。研究结果显示,荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的关键靶点有57个,靶点与靶点之间的相互关系达341条。其作用机制主要涉及TNF信号通路、IL-17信号通路和糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路等,这些通路与肥胖、糖尿病、心血管疾病等密切相关,证明高尿酸血症作为人体代谢性疾病,常与其他慢性病同时存在并相互影响^[45-46]。在此网络主要涉及的靶点中,黄嘌呤脱氢酶(XDH)与高尿酸血症高度相关,研究表明,黄嘌呤氧化酶(XOD)是嘌呤代谢下游通路的关键靶点,当体内XOD活性异常增高时,会产生大量的尿酸,而XDH和XOD是同一酶类的两种不同存在形式,均由XDH mRNA表达,两者可相互转换,所以抑制XDH等同于抑制XOD活性,可达到抑制尿酸生成的效果^[47-48]。同时,荷叶生物碱类化合物还能通过作用于MAPK1、PTGS2、STAT3等靶点起到抗炎作用,提示其可通过抑制炎症减轻肾损伤,从而保护肾脏^[49]。

目前对于高尿酸血症的治疗停留在预防和控制阶段,随着网络药理学的发展,天然产物治疗高尿酸血症的研究逐步兴起。单味中药研究中,桑枝中关键成分可能通过MAPK1、IL6、TNF等靶点作用于TNF、TRP、Toll-like receptor等信号通路而发挥其改善高尿酸血症的作用^[50]。尉雅洁等^[51]通过网络药理学发现GAPDH、TP53、TNF、IL-6可能是荆防颗粒治疗高尿酸血症的关键靶点,动物实验代谢组学结果显示荆防颗粒能够通过改善高尿酸血症小鼠丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的代谢、柠檬酸循环等途径改善代谢而发挥治疗高尿酸血症的作用。杨钊田^[52]通过网络药理学分析中成药四神煎治疗痛风性关节炎的作用机制发现四神煎可以通过Toll-like receptor通路、II型糖尿病通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用通路等多种途径发挥抗炎作用,动物实验表明四神煎对痛风性关节炎大鼠具有抗炎作用且作用机制可能与调控TLR4/NF- κ B通路有关。在基于肠道菌群和网络药理学探讨藏药十五味乳鹏丸抗高尿酸血症肾病的研究中发现木犀草素、山柰酚、表没食子酸儿茶素没食子酸酯等与关键靶点有较好的对接活性,大鼠实验验证藏药十五味乳鹏丸可以通过调节肠道菌群

结构,调控AGE-RAGE、IL-17、TNF等信号通路治疗高尿酸血症^[53]。以上研究从不同靶点、通路皆验证了高尿酸血症的调控是一个复杂的过程,与本篇网络药理学预测出的靶点、通路研究结果基本相符,验证了荷叶生物碱类化合物也可以作用于多靶点、多通路调控血尿酸含量^[54-55]。

综上所述,本研究通过网络药理学方法预测了荷叶生物碱类化合物治疗高尿酸血症的作用靶点及作用通路,运用分子对接技术进行了初步验证,印证了高尿酸血症作为代谢性疾病与人体内多种代谢途径密切相关。但是网络药理学存在局限性,因其本身基于数据库和程序的应用无法证明其结论的正确性,因此今后需要结合功能评价实验进行验证。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] AIHEMAITIJANG S, ZHANG Y, ZHANG L, et al. The association between purine-rich food intake and hyperuricemia: A cross-sectional study in Chinese adult residents[J]. *Nutrients*, 2020, 12(12): 3835.
- [2] HASSAN W, SHRESTHA P, SUMIDA K, et al. Association of uric acid-lowering therapy with incident chronic kidney disease[J]. *JAMA Network Open*, 2022, 5(6): e2215878.
- [3] DALBETH N, CHOI H K, JOOSTEN L A B, et al. Gout[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2019, 5(1): 69.
- [4] LAI S W, LIAO K F, KUO Y H, et al. Comparison of benzbromarone and allopurinol on the risk of chronic kidney disease in people with asymptomatic hyperuricemia[J]. *European Journal of Internal Medicine*, 2023, 113: 91-97.
- [5] PIANI F, AGNOLETTI D, BORGHI C. Advances in pharmacotherapies for hyperuricemia[J]. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2023, 24(6): 737-745.
- [6] 罗棚强,刘经相,曾丽婷,等.不同产地荷叶中二氧化硫和荷叶碱含量测定研究[J]. *海峡药学*, 2022, 34(3): 75-78. [LUO X Q, LIU J X, ZENG L T, et al. Study on determination of sulfur dioxide and nuciferine in lotus leaf from different origins[J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 2022, 34(3): 75-78.]
- [7] NING Q, WANG Y, ZHANG Y, et al. Nuciferine prevents hepatic steatosis by regulating lipid metabolism in diabetic rat model[J]. *Open Life Sciences*, 2019, 14(1): 699-706.
- [8] 陈绮梦,杨祖伟,李珍,等.荷叶提取液的性能探究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(23): 8715-8720. [CHEN Q M, YANG Z W, LI Z, et al. Research on the performance of lotus leaf extract[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(23): 8715-8720.]
- [9] KASHIWADA Y, AOSHIMA A, LKESHIRO Y, et al. Anti-HIV benzylisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005, 13(2): 443-448.
- [10] HU P, GE X, GAO M T, et al. *Nelumbo nucifera* Gaertn: An updated review of the antitumor activity and mechanisms of alkaloids[J]. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*,

2022, 5: 100167.

[11] ZHANG C, DENG J, LIU D, et al. Nuciferine inhibits proinflammatory cytokines via the PPARs in LPS-induced RAW264.7 cells[J]. *Molecules*, 2018, 23(10): 2723.

[12] ZHOU T, SONG G, TIAN D, et al. Nuciferine relieves type 2 diabetes mellitus via enhancing GLUT4 expression and translocation[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(6): 2040–2051.

[13] ZHANG H, CHEN G, ZHANG Y, et al. Potential hypoglycemic, hypolipidemic, and anti-inflammatory bioactive components in *Nelumbo nucifera* leaves explored by bioaffinity ultrafiltration with multiple targets[J]. *Food Chemistry*, 2022, 375: 131856.

[14] WANG M X, LIU Y L, YANG Y, et al. Nuciferine restores potassium oxonate-induced hyperuricemia and kidney inflammation in mice[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2015, 747: 59–70.

[15] ZHAO L, ZHANG H, LI N, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 309: 116306.

[16] 李玲玉, 朱文卿, 朱姗姗, 等. 基于网络药理学分析咖啡酰奎宁酸类化合物治疗 II 型糖尿病的作用机制[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(14): 16–24. [LI L Y, ZHU W Q, ZHU S S, et al. Mechanism of caffeoylquinic acids in the treatment of type II diabetes based on network pharmacology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(14): 16–24.]

[17] 朱文卿, 李玲玉, 张利, 等. 咖啡酰奎宁酸类化合物抑菌活性的网络药理学研究[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(13): 11–20. [ZHU W Q, LI L Y, ZHANG L, et al. Network pharmacology study on the antibacterial activity of caffeoylquinic acids[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(13): 11–20.]

[18] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. Swiss Target Prediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. *Nucleic Acids Research, Oxford University Press*, 2019, 47(W1): W357.

[19] 郭忠会, 覃春萍, 梁洁, 等. 基于 UHPLC-Q-TOF MS 结合分子网络技术快速分析荷叶中生物碱类成分[J]. *分析测试学报*, 2023, 42(8): 893–906. [GUO Z H, QIN C P, LIANG J, et al. Rapid identification of alkaloid components in *Nelumbinis folium* based on UHPLC-Q-TOF MS combined with molecular network technology[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2023, 42(8): 893–906.]

[20] SHARMA B R, GAUTAM L N S, ADHIKARI D, et al. A comprehensive review on chemical profiling of *Nelumbo nucifera*: Potential for drug development; Phytochemical profiling of lotus[J]. *Phytotherapy Research*, 2017, 31(1): 3–26.

[21] LIBERTI M V, DAI Z, WARDELL S E, et al. A predictive model for selective targeting of the warburg effect through GAPDH inhibition with a natural product[J]. *Cell Metabolism*, 2017, 26(4): 648–659.

[22] VASILEVSKAYA I, O'DWYER P J. Role of Jun and Jun kinase in resistance of cancer cells to therapy[J]. *Drug Resistance Updates*, 2003, 6(3): 147–156.

[23] XIE Y, XU P, LIU K, et al. Hyperuricemia and gout are associated with cancer incidence and mortality: A meta-analysis based on cohort studies[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(8): 14364–14376.

[24] KUO W T, SHEN L, ZUO L, et al. Inflammation-induced occludin downregulation limits epithelial apoptosis by suppressing caspase-3 expression[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(5): 1323–1337.

[25] 段艳芬. 基于代谢组学和网络药理学方法研究清热卡森颗粒治疗肾病综合征的物质基础和作用机制[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022. [DUAN Y F. A metabolomics and network pharmacology-based approach to study the material basis and action mechanism of Qingrekasen Granule for treating nephrotic syndrome[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2022.]

[26] KASEMBELI M M, KAPAROS E, BHARADWAJ U, et al. Aberrant function of pathogenic STAT3 mutant proteins is linked to altered stability of monomers and homodimers[J]. *Blood*, 2023, 141(12): 1411–1424.

[27] PAN J, SHI M, GUO F, et al. Pharmacologic inhibiting STAT3 delays the progression of kidney fibrosis in hyperuricemia-induced chronic kidney disease[J]. *Life Sciences*, 2021, 285: 119946.

[28] VOSOOGHI M, AMINI M. The discovery and development of cyclooxygenase-2 inhibitors as potential anticancer therapies[J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2014, 9(3): 255–267.

[29] DESIRÉE L R, JAVIER D C, ERNESTO M N, et al. Serum urate is related to subclinical inflammation in asymptomatic hyperuricemia[J]. *Rheumatology*, 2021, 60(1): 371–379.

[30] HUANG J, LIN Z, WANG Y, et al. Wuling san based on network pharmacology and *in vivo* evidence against hyperuricemia via improving oxidative stress and inhibiting inflammation[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2023, 17: 675–690.

[31] CHEN M, MENG L. The double faced role of xanthine oxidoreductase in cancer[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2022, 43(7): 1623–1632.

[32] CARGNELLO M, ROUX P P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2011, 75(1): 50–83.

[33] XIN P, XU X, DENG C, et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases[J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 80: 106210.

[34] 杨晨曦. 2 型糖尿病伴高尿酸血症中医证型分析及降尿酸方作用机制的相关研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2023. [YANG C X. Analysis of TCM syndromes of type 2 diabetes mellitus with hyperuricemia and study on the mechanism of action of uric acid lowering prescription[D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2023.]

[35] ZHOU H, MA Z F, LU Y, et al. Elevated serum uric acid, hyperuricemia and dietary patterns among adolescents in mainland China[J]. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 2020, 33(4): 487–493.

[36] PICHAVARAM P, MANI A M, SINGH N K, et al. Cholesterol crystals promote endothelial cell and monocyte interactions via H₂O₂-mediated PP2A inhibition, NF κ B activation and ICAM1 and VCAM1 expression[J]. *Redox Biology*, 2019, 24: 101180.

[37] CHAI F, PENG H, QIN L, et al. MicroRNA miR-181d-5p regulates the MAPK signaling pathway by targeting mitogen-activated protein kinase 8 (MAPK8) to improve lupus nephritis[J]. *Gene*, 2024, 893: 147961.

[38] CHEN Y, LI C, DUAN S, et al. Curcumin attenuates potassium oxonate-induced hyperuricemia and kidney inflammation in mice[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 118: 109195.

[39] MARTINS D S M C, COELHO G B, CAROLINA D P M M, et al. *Lychnophora pinaster* ethanolic extract and its chemical constituents ameliorate hyperuricemia and related inflammation[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, 242: 112040.

[40] YANG B, XIN M, LIANG S, et al. Naringenin ameliorates

- hyperuricemia by regulating renal uric acid excretion via the PI3K/AKT signaling pathway and renal inflammation through the NF- κ B signaling pathway[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(3): 1434–1446.
- [41] ZHU L H, XU Y Y, ZHU L, et al. Protective effects of *Cyclocarya paliurus* on hyperuricemia and urate-induced inflammation[J]. *Journal of Functional Foods*, 2022, 94: 105130.
- [42] BAO W, XIA H, LIANG Y, et al. Toll-like receptor 9 can be activated by endogenous mitochondrial DNA to induce podocyte apoptosis[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 22579.
- [43] HSIN K Y, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.
- [44] 万朋, 申开宇, 徐威轩, 等. 甲基莲心碱通过阻断 ROCK 通路抑制非小细胞肺癌细胞的迁移和侵袭[J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(4): 561–568. [WAN P, SHEN K Y, XU Q X, et al. Effects of neferine on invasion and migration of non-small cell lung cancer H1299 cells via inhibiting ROCK pathway[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2022, 38(4): 561–568.]
- [45] SHEN X, WANG C, LIANG N, et al. Serum metabolomics identifies dysregulated pathways and potential metabolic biomarkers for hyperuricemia and gout[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2021, 73(9): 1738–1748.
- [46] SUN L, NI C X, ZHAO J X, et al. Probiotics, bioactive compounds and dietary patterns for the effective management of hyperuricemia: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2024, 64(7): 2016–2031.
- [47] 郭颖. 自拟痛风方治疗高尿酸血症湿热蕴结证的网络药理预测及实验探索[D]. 北京: 中国中医科学院, 2018. [GUO Y. The network pharmacological prediction and experimental exploration of the treatment of TongFeng decoction on hyperuricemia with Damp-heat accumulation syndrome[D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2018.]
- [48] FENG S, WU S, XIE F, et al. Natural compounds lower uric acid levels and hyperuricemia: Molecular mechanisms and prospective[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, 123: 87–102.
- [49] 王明星. 荷叶碱对高尿酸血症状态下动物肾保护作用及其机制的研究[D]. 南京: 南京大学, 2015. [WANG M X. Study on kidney protection of nuciferine and its mechanisms in hyperuricemia of animals[D]. Nanjing: Nanjing University, 2015.]
- [50] 阮仕洋, 陈慧, 曾凡丽, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨桑枝改善高尿酸血症的作用机制[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(19): 22–30. [RUAN S Y, CHEN H, ZENG F L, et al. Study on the mechanism of mulberry twig improving hyperuricemia based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(19): 22–30.]
- [51] 尉雅洁, 刘明飞, 孙成宏, 等. 基于网络药理学和动物实验探究荆防颗粒对高尿酸血症的治疗作用及机制[J]. *中草药*, 2023, 54(3): 808–816. [WEI Y J, LIU M F, SUN C H, et al. Therapeutic effect and mechanism of Jingfang Granules on hyperuricemia based on network pharmacology and animal experiments validation[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54(3): 808–816.]
- [52] 杨钊田. 基于玄府理论研究四神煎治疗痛风性关节炎的作用机制[D]. 北京: 中国中医科学院, 2019. [YANG Z T. Study on mechanism of si shen decoction in treating gouty arthritis based on Xuanfu theory[D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2019.]
- [53] 谢昊宸, 张博恒, 穆卡然·艾买江, 等. 基于肠道菌群和系统药理学探讨藏药十五味乳鹏丸抗高尿酸血症肾病的作用机制[J]. *中草药*, 2022, 53(19): 6068–6082. [XIE H C, ZHANG B H, MUKARAM A, et al. Mechanism of Tibetan medicine Shiwuwei Rupeng pills on hyperuricemia nephropathy based on intestinal flora and systematic pharmacology[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(19): 6068–6082.]
- [54] QIAN Y, YIN J, NI J, et al. A network pharmacology method combined with molecular docking verification to explore the therapeutic mechanisms underlying Simiao pill herbal medicine against hyperuricemia[J]. *BioMed Research International*, 2023, 2023: 1–16.
- [55] CAO L, MA B, YI B, et al. Discovery of natural multitarget xanthine oxidase inhibitors for therapeutic hyperuricemia using virtual screening, network pharmacology and *in vitro* experimental verification[J]. *Chemistry Select*, 2023, 8(30): e202301939.