

基于网络药理学和分子对接探讨归脾汤治疗耳鸣作用机制研究

杨淑荣¹, 张 玮^{2*}, 傅韩瑶³

¹江西中医药大学附属医院 江西南昌

²韶关市中医院 广东韶关

³杭州市萧山区中医骨伤科医院 浙江杭州

【摘要】目的 运用网络药理学方法探究归脾汤治疗耳鸣作用机制。**方法** 在 TCMSP 数据平台上归纳整理归脾汤组成的有效成分, 通过中国知网上检索建库至 2023 年的文献进行补充, 并将得到的有效成分导入 Uniprot 平台, 转换成对应的蛋白质靶点, 选定种类智人, 且删除还未验证靶点, 最后得到归脾汤药物作用靶点基因的名称。使用 GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 5 个平台上检索出耳鸣疾病相关基因靶点, 以 Score 值 \geq 中位数的为标准进行筛选, 获得的基因靶点为耳鸣基因的相关靶点。利用 Venny2.1 工具构建“药物—疾病”韦恩图以确定二者交集靶点, 交集靶点通过 STRING 平台绘制蛋白相互作用网络图, 保存为 TSV 格式。之后导入并利用 Cytoscape 软件选出核心靶点, 进行 GO、KEGG 富集分析, 最后进行分子对接。**结果** 归脾汤有效成分共计 228 个, 主要作用靶点 246 个, 主要活性成分为山柰酚、细叶远志皂苷、槲皮素等, 耳鸣病主要靶点 1938 个, 归脾汤-耳鸣病交集靶点 83 个, 归脾汤治疗耳鸣病主要作用于 CTNNB1、TNF、ALB、EGFR、PPAR γ 、IL6、HIF-1 α 、VEGFA、CASP3、IL1B 核心靶点, 靶点多富集于 HCMV 信号通路、Apoptosis 信号通路、TNF 信号通路等。分子对接结果显示成分与核心靶点都能成功对接, 且结构稳定。**结论** 归脾汤治疗耳鸣是通过保护耳蜗神经细胞、抗氧化激化反应、抗炎作用等作用, 从而改善并减轻耳鸣患者症状。

【关键词】 归脾汤; 网络药理学; 耳鸣

【基金项目】 江西省卫生健康委中医药科研计划 (2022A335); 国家中医药管理局全国名老中医传承工作室建设项目 (国中医药人教发[2011]41 号)

【收稿日期】 2025 年 5 月 16 日 **【出刊日期】** 2025 年 6 月 25 日 **【DOI】**10.12208/jircm.20250014

Study on the mechanism of Guipi decoction in treating tinnitus based on network pharmacology and molecular docking

Shurong Yang¹, Wei Zhang^{2*}, Hanyao Fu³

¹Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi

²Shaoguan Traditional Chinese Medicine Hospital, Shaoguan, Guangdong

³Hangzhou Xiaoshan District Hospital of Traditional Chinese Medicine Orthopedics and Traumatology, Hangzhou, Zhejiang

【Abstract】Objective To investigate the mechanism of action of Guipi Decoction in treating tinnitus using network pharmacology. **Methods** The active ingredients of Guipi Decoction were summarized and organized on the TCMSP database platform. Literature from the China National Knowledge Infrastructure (CNKI) database up to 2023 was searched for these active ingredients. The resulting active ingredients were imported into the Uniprot platform and converted into corresponding protein targets. Homo sapiens species were selected, and unverified targets were deleted. Finally, the names of the target genes of Guipi Decoction were determined. Gene targets related to tinnitus

第一作者简介: 杨淑荣 (1968-) 女, 博、硕士生导师, 研究方向: 中医五官科学;

*通讯作者: 张玮, 男, 硕士。

were identified using GeneCards, OMIM, PharmGkb, TTD, and DrugBank. Gene targets were screened using a score \geq median. The identified gene targets were identified as tinnitus-related targets. A drug-disease Venn diagram was constructed using the Venny 2.1 tool to identify drug-disease intersection targets. Protein interaction networks were then generated using the STRING platform and saved in TSV format. Core targets were then selected using Cytoscape software for GO and KEGG enrichment analysis, followed by molecular docking. **Results** Guipi Decoction (GPD) contained 228 active ingredients and 246 primary targets, including kaempferol, polygala tenuifolia saponins, and quercetin. There were 1938 primary targets for tinnitus, including 83 targets that intersected between GPD and tinnitus. The GPD treatment of tinnitus primarily targeted CTNNB1, TNF, ALB, EGFR, PPAR γ , IL6, HIF-1 α , VEGFA, CASP3, and IL1B, with most targets enriched in the HCMV signaling pathway, apoptosis signaling pathway, and TNF signaling pathway. Molecular docking results demonstrated successful docking of the ingredients with the core targets, with stable structures. **Conclusion** Guipi Decoction treats tinnitus by protecting cochlear nerve cells, resisting oxidative stress, and exerting anti-inflammatory effects, thereby improving and alleviating tinnitus symptoms.

【Keywords】 Guipi decoction; Network pharmacology; Tinnitus

耳鸣通常表现为机体在耳朵内或颅内听到声音,而外部却没有相应的声源,这种声音大多被描述为嗡嗡声、哨声、电流声或其他类型的噪声,耳鸣通常都是主观存在的,检查者无法听到并且也没有工具来测量或者捕获该声音。耳鸣的发生涉及多种复杂因素。主要以噪音创伤、神经性原因、耳部疾病、血管性疾病等。几乎每个人的一生都有过耳鸣,轻者一过性,严重者导致听力缺失、抑郁、焦虑、睡眠障碍等,现今耳鸣的治疗大多以药物、认知行为、掩蔽疗法等为主,但耳鸣只能减轻症状并不能完全治愈。中医药治疗相较于单一的药物治疗,有中药汤剂、针灸等多种治疗方法,治疗效果显著,且副作用小。在中医理论中心经与耳联系密切,指出耳部听觉功能有赖于心血的濡养,归脾汤经历代医家补充完善,其由酸枣仁、茯神、甘草、人参、当归、黄芪、白术、木香、远志、龙眼肉、生姜、大枣十二味中药组成,功能心脾同治、气血并补。现代研究表明,归脾汤有保护神经元细胞、提高神经递质水平、抗氧化应激反应等作用^[1],并能在临幊上用于治疗耳鸣^[2],且疗效良好,但其中具体的分子机制作用尚未阐释,需进一步的完善。本文将用网络药理学方法,系统的揭示归脾汤治疗耳鸣作用机制及可能通过的信号通路。

1 材料与研究方法

1.1 归脾汤有效成分靶点的获取

首先在 TCMSp (https://tcmsp.com/tcmsp.php) 数据平台上归纳整理归脾汤组成的有效成分,其次以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) \geq

0.18 为标准进行筛选,其中远志、茯神、龙眼肉的有效成分则通过中国知网 (CNKI) 以‘远志 有效成分’、‘茯神 化学成分’、‘龙眼肉 活性成分’为关键词,检索建库至 2023 年的文献,人工筛选并补充 TCMSp 中未收录的化合物。最后将得到的结果导入 Uniprot (http://www.uniprot.org/) 平台。每个有效成分检索出对应的蛋白质靶点,选定种类智人,且删除还未验证靶点,最后得到归脾汤药物作用靶点基因的名称。

1.2 耳鸣疾病相关基因靶点的获取及交集靶点

以“tinnitus (耳鸣)”为关键词,在 GeneCards (https://www.genecards.org)、OMIM (https://www.omim.org)、PharmGkb (http://www.pharmkb.org)、TTD (http://db.idrblab.net/ttd)、DrugBank (https://www.drugbank.ca) 5 个平台上筛选与耳鸣疾病相关基因的靶点,在数据库中,Score 值越高,则表明该基因靶点与疾病的相关度越高,通常以 Score 值 \geq 中位数的为标准进行筛选,获得的基因靶点为耳鸣基因的相关靶点。导出所有检索结果,利用软件 Excel 汇总并剔除重复数据,最终获得耳鸣的基因相关靶点信息。

利用 Venny2.1 工具 (https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny) 将上述二者的靶点相互取交集,构建“药物—疾病”韦恩图以确定交集靶点。

1.3 网络图的绘制

将上述得到的靶点导入 Cytoscape3.9.0 (https://cytoscape.org/) 软件,绘制药物活性成分—

基因靶点构图。

1.4 蛋白互作网络 (PPI) 构建

利用 STRING 平台 (<https://cn.string-db.org/>) 中进行检索上诉后得到的交集靶点, 选定种类智人, 中等置信度 >0.4 并去除没有连接的节点, 得到 PPI 网络图, 保存为 TSV 格式。之后导入 Cytoscape 软件并用插件 CytoNCA 计算出连接度值的中位数。以连接度中心性 (DC) ≥ 2 倍中位数、紧密度中心性 (CC)、介度中心性 (BC) \geq 中位数为标准筛选出核心靶点。

1.5 GO、KEGG 富集分析

交集靶点进行 GO、KEGG 富集分析, 以矫正后的 p 值选出显著结果并绘制条形图和气泡图, 再用 Cytoscape 3.9.0 软件绘制成富集靶点-信号通路图。

1.6 分子对接

主要活性成分通过 RCSB PDB 数据平台 (<https://www.rcsb.org/>) 转换成蛋白结构并去除水分子及无关小分子, 以最低的结合能下与核心靶点进行分子对接, 使用 PyMOL 软件 (<https://pymol.org/2/>) 优化结果, 并用 AutoDock Vina 软件 (<https://vina.scripps.edu/>) 进行计算, 以最低结合能完成分子对接。对接结果用 PyMOL 软件进行绘图处理后输出分子对接结合模式图。

2 研究结果

2.1 归脾汤有效成分收集及对应蛋白靶点

通过 TCMSP 平台及知网查阅已发表文献搜集归脾汤有效成分共计 228 个, 主要活性成分为柚皮素、细叶远志皂苷、人参皂苷、槲皮素、山柰酚等^[3], 使用 Uniprot 平台标准转换后获得相关作用靶点 246 个^[3]。

2.2 耳鸣疾病相关基因靶点的获取及交集靶点

在 GeneCards、OMIM、PharmGkb 等数据平台检索耳鸣相关靶点, 去重后共 1938 个。用 Venny2.1 工具构建“药物—疾病”韦恩图以确定交集靶点 83 个, 如图 1。

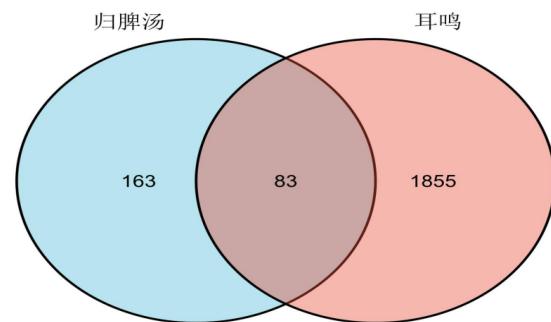


图 1 归脾汤活性成分靶点—耳鸣靶点韦恩图

2.3 药物活性有效成分—基因靶点网络构建

药物有效活性成分与作用靶点导入 Cytoscape 3.9.0 软件结果显示归脾汤治疗耳鸣的, 并构建“药物活性成分—基因靶点构图”, 网络中共有节点 83 个, 边 905 条, 其中细叶远志皂苷、山柰酚、槲皮素柚皮素、人参皂苷、胡萝卜素等成分连接度较高, 提示其可能起核心作用, 见图 2。

2.4 PPI 网路图构建

在 STRING 数据平台上导入归脾汤与耳鸣间的交集靶点后获得 PPI 网络图, 见图 3 所示。通过 Cytoscape3.9.0 软件中插件 CytoNCA 计算出 DC 值中位数为 20, CC 值中位数为 0.544217687, BC 值为 22.08157026, 符合 $DC \geq 2$ 倍中位数、 $CC, BC \geq$ 中位数的核心靶点有 29 个。结果见表 1 所示, 其中排名前 10 的核心靶点为 CTNNB1、TNF、ALB、EGFR、PPAR γ 、IL6、HIF-1 α 、VEGFA、CASP3、IL1B^[3]。

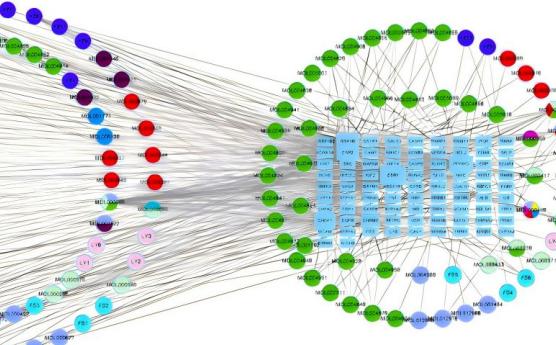


图 2 药物活性成分—基因靶点构图

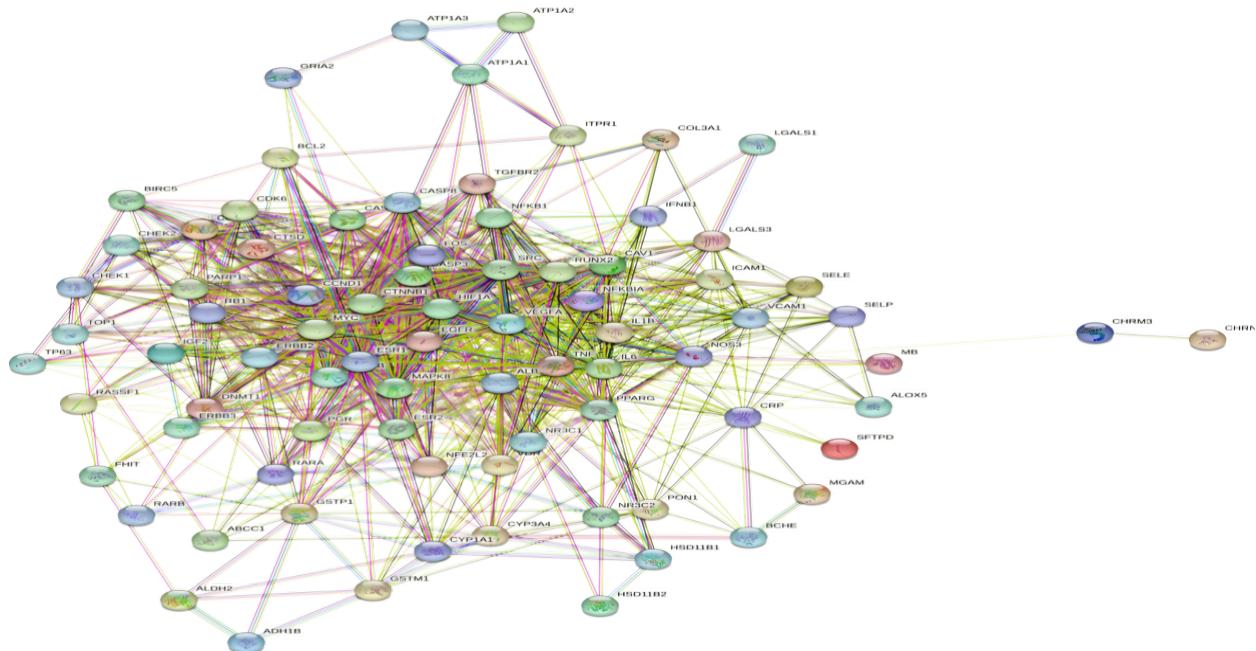


图 3 归脾汤治疗耳鸣 PPI 网络图

Target Name	蛋白中文名称	Degree	BC	CC
TNF	肿瘤坏死因子	28	9.08075546744277	1
EGFR	表皮生长因子受体	28	9.08075546744277	1
IL6	白细胞介素-6	28	9.08075546744277	1
ALB	血清白蛋白	28	9.08075546744277	1
VEGFA	血管内皮生长因子 A	28	9.08075546744277	1
CASP-3	半胱天冬酶-3	28	9.08075546744277	1
CTNNB1	连环蛋白 β -1	27	6.68812032480763	0.96551724137931
HIF-1 α	缺氧诱导因子-1 α	27	6.68812032480763	0.96551724137931
PPAR γ	过氧化物酶体增殖物激活的受体 γ	26	7.09946371997455	0.933333333333333
IL1B	白细胞介素-1 β	26	5.52503259554343	0.933333333333333

2.5 GO、KEGG 富集分析

83 个交集靶点通过 GO 富集分析得到 BP 2102 条信息、CC 60 条信息、MF 127 条信息，以矫正后的 p 值选出 BP、CC、MF 前 5 条结果并绘制条形图，见图 4。

KEGG 富集得到 153 条信息，并如上制作成气泡图，见图 5。结果显示：归脾汤治疗耳鸣作用可能与 AGE-RAGE 通路、TNF 通路、Apoptosis 通路有关，通过在膜筏、膜微结构域、质膜筏、胞膜等结构区域参与类固醇激素反应、对脂多糖的

反应、白细胞调节等生物学过程发挥了包括类固醇结合、转录辅调控因子结合、核受体活性等分子功能^[3]。

2.6 分子对接

选取主要活性成分槲皮素与 EGFR、IL6、细叶远志皂苷与 TNF 进行分子对接。槲皮素-IL6 对接结合能 -5.6kJ/mol、细叶远志皂苷-TNF 对接结合能 -6.1kJ/mol，槲皮素-EGFR 对接结合能 -7.4kJ/mol^[3]，结果都 <-5.0kJ/mol，表示核心成分与核心靶点都能成功对接，且结构稳定。

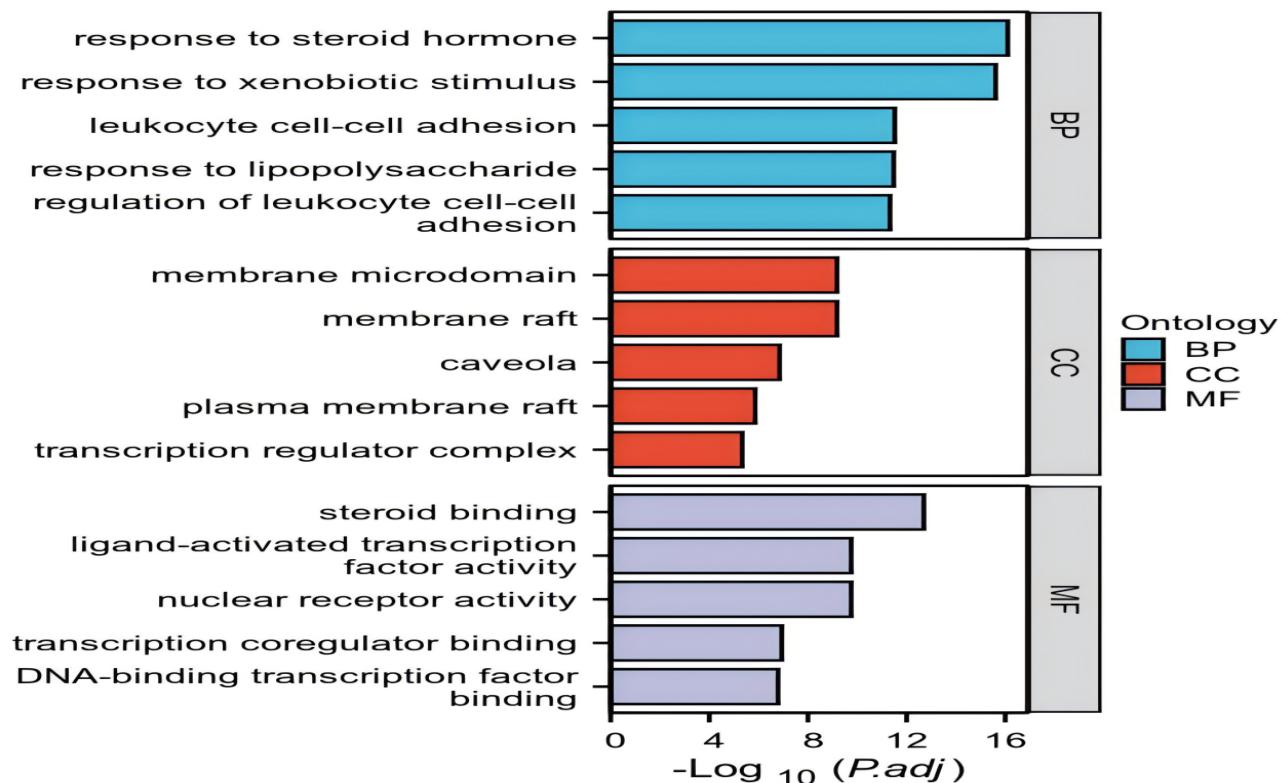


图4 GO富集分析条形图

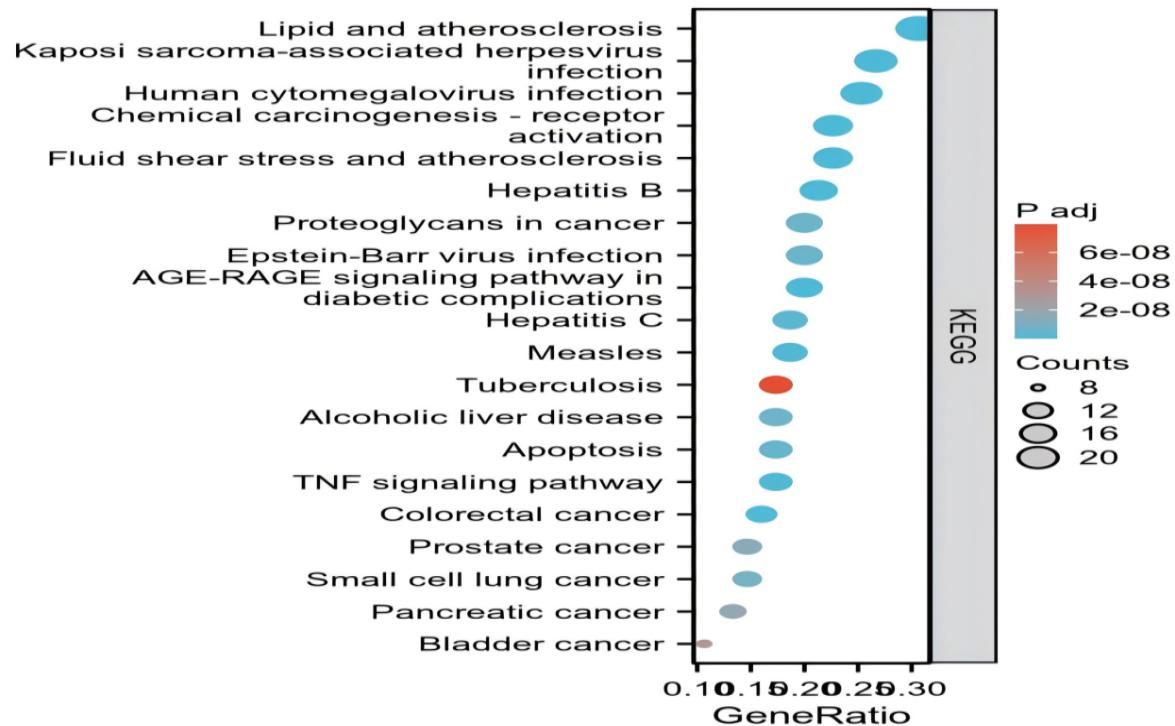


图5 KEGG富集分析气泡图

3 讨论

截止目前全球大约有 7.4 亿人正在遭受耳鸣疾

病的影响，其中有 1.2 亿人已经严重影响了日常的

生活与工作^[4]。耳鸣已经成为了全球亟需解决的问

题, 目前已有的治疗手段只能缓解耳鸣的症状, 但并不能治愈, 且症状极易复发, 并对人们的心理健康和社会日常产生各方面的负面影响。在美国耳鼻喉科学会发布的耳鸣临床实践指南中, 其强调目前没有药物可以治愈耳鸣。在中医理论中, 早在楚辞就有关于耳鸣的记载, 耳为宗脉所聚, 心主血脉, 耳窍方得心血滋养听觉才能灵敏, 可推测耳鸣病发病的机制可能在于缺少心血的滋养, 治宜当健脾养心、益气补血, 故选归脾汤主之。

通过药物活性成分—基因靶点网络图分析得知, 归脾汤治疗耳鸣的主要药物活性成分有山柰酚、槲皮素、人参皂苷、细叶远志皂苷、槲皮素等。目前研究已经证明细叶远志皂苷能够通过抑制氧化应激反应来调控神经细胞的凋亡, 从而起到神经细胞修复的作用^[5]。抗氧化剂槲皮素不仅能够清除噪声损伤导致产生的过多氧自由基, 从而抑制不良氧化应激反应来保护耳蜗细胞^[6], 而且能够减轻炎症对内皮细胞的负面影响。山柰酚通过抑制神经元凋亡、减少血清中 TNF- α 程度来发挥抗炎抗氧化作用保护神经细胞^[7]。人参皂苷能调控 MAPK/NF- κ B 信号通路的表达, 降低了神经炎性症状^[8]。对 PPT 网络分析, 归脾汤治疗耳鸣可能与 TNF、IL6、VEGFA、CASP-3 等核心靶点相关。其中 TNF、IL6 细胞因子等能够作为耳鸣相关疼痛生物标潜在标记物^[9], 在促炎反应、免疫反应等生物过程起到重要作用, 故抑制 TNF、IL6 细胞因子的表达可以减轻耳蜗细胞的炎症反应来改善耳蜗功能, 以起到减轻耳鸣症状。EGFR、VEGFA 通过调控细胞生物过程来促进细胞的再生, 从而加速耳蜗细胞的生长^[10], 改善耳蜗功能以减轻耳鸣症状。CASP-3 是细胞凋亡过程的关键, 目前发现噪声性听力损失可能在于 CASP-3 的异常活动^[11], 在耳蜗功能异常的患者血清中 CASP-3 水平异常升高^[12], 故可以通过调控 CASP-3 基因的表达来保护耳蜗细胞。在激活 TNF 信号通路过程中, TNF- α 能够调控天冬氨酸受体的表达, 通过调控细胞中钙离子, 以增强神经递质活动^[13], 从而可以改变内耳细胞神经的可塑性, 以此来改善耳鸣的症状。抑制 HCMV 信号通路的激活, 可以减少内耳内毛细胞、耳蜗神经节细胞的损伤, 从而调控内耳淋巴积液, 可以避免耳鸣的发生和听力的损伤^[14]。由此可以推测归脾汤治疗耳鸣主要以山柰酚、细叶远志皂

苷、槲皮素等活性成分, 作用于 EGFR、VEGFA、TNF、IL6、CASP-3 等核心靶点抑制 TNF、HCMV 等信号通路表达, 发挥了保护耳蜗神经细胞、抗氧化激活反应、抗炎作用, 从而改善患者耳鸣症状。

此次研究结果具有预测性, 缺少实验证据支持, 有必要完善实验对其验证为临床提供更严谨的证据。

参考文献

- [1] 张楚洁, 刘慧萍, 杨璐瑜, 等. 归脾汤有效成分与现代药理学的关联性[J]. 中成药, 2020, 42(06):1553-1558.
- [2] 蔡蔚然, 陈绘, 施陈燕, 等. 归脾汤治疗心血不足型原发性耳鸣临床疗效观察[J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(S1): 113-115.
- [3] 张玮. 基于网络药理学探讨归脾汤治疗耳鸣作用机制研究[D]. 江西中医药大学, 2023.
- [4] Jarach C M, Lugo A, Scala M, et al. Global Prevalence and Incidence of Tinnitus: A Systematic Review and Meta-analysis[J]. JAMA Neurol, 2022, 79(9):888-900.
- [5] 廖丹琼, 张琳成, 蓝艳, 等. 远志皂苷元对氧糖剥夺/再复氧诱导大鼠海马神经干细胞损伤的保护作用[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(07):2990-2993.
- [6] 王立娟, 齐亮, 叶琳, 等. 槲皮苷对噪声诱导神经性耳聋小鼠的保护作用[J]. 南昌大学学报(医学版), 2020, 60(06): 5-9.
- [7] 张丽阳, 孙军, 陈迪. 山柰酚抑制脑缺血/再灌注大鼠的脑损伤、炎症、氧化应激和凋亡[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2022, 31(04):381-386.
- [8] 刘倩倩, 樊官伟. 人参皂苷 Rg3 现代药理作用及作用机制的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(13):2375-2381.
- [9] 王瑾瑜, 韩朝. 耳鸣机制中相关蛋白表达的研究[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2020, 20(05):408-411.
- [10] 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.
- [11] 齐明键, 高鹤, 曹承建, 等. CASP3 和 CASP7 基因多态性与噪声性听力损失易感性关系[J]. 中国公共卫生, 2017, 33(06):905-911.
- [12] 袁媛, 李辉, 周卫东. 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3、微小 RNA-431 和可溶性血管细胞黏附分子-1 在突发性耳聋患者血清中的水平变化及其与耳蜗功能相关性研究[J].

- 陕西医学杂志, 2024,53(11):1534-1537.
- [13] 刘宇超, 尹时华. 炎症因子及其相关信号通路在内耳疾病中的研究进展[J]. 中华耳科学杂志, 2021,19(03):506-510.
- [14] Martinez-Gomez E, Perez-Carpena P, Flook M, et al. A Systematic Review on the Association of Acquired Human Cytomegalovirus Infection with Hearing Loss[J]. J Clin

Med, 2020,9(12).

版权声明: ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS