

基于主要三萜成分预测雷公藤与昆明山海棠改善白癜风的药效强弱及候选关键microRNA的筛选研究



赵江怡¹, 曾 钦¹, 蔡蓓蕾², 刘前呈¹, 黎永均¹, 赵建权^{1,3}, 王江瑞^{1,2}

1. 重庆市药研院制药有限公司 (重庆 400800)
2. 江苏知原药业股份有限公司 (江苏无锡 214194)
3. 重庆市中药研究院 (重庆 400065)

【摘要】目的 基于主要三萜成分预测雷公藤及昆明山海棠改善白癜风的药效强弱,并筛选出三萜成分作用的候选关键 microRNA,为后续新药开发奠定理论基础。**方法** 采用高效液相色谱二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 法测定雷公藤和昆明山海棠中主要三萜活性成分去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素的含量,结合网络药理学及分子对接技术预测三萜成分治疗白癜风的活性,综合评估雷公藤和昆明山海棠改善白癜风的药效强弱,同时对作用的候选关键 microRNA 进行预测。**结果** 雷公藤中去甲泽拉木醛、雷公藤红素含量以及改善白癜风的药效综合评分均显著高于昆明山海棠 ($P < 0.01$),同时筛选得到 hsa-miR-7-5p、hsa-miR-133a-5p、hsa-miR-4795-3p 等 17 个三萜成分治疗白癜风的候选关键 microRNA。**结论** 雷公藤与昆明山海棠均可调控多个 microRNA 改善白癜风症状,但两者的药效强弱存在差异,雷公藤相较于昆明山海棠更适合用于白癜风的治疗。

【关键词】 雷公藤; 昆明山海棠; 网络药理学; 分子对接; 三萜成分; 白癜风; 药效强弱; microRNA

【中图分类号】 R282.4

【文献标识码】 A

Predicting the differential efficacy of vitiligo between *Tripterygium wilfordii* and *Tripterygium hypoglaucum* and screening for candidate key microRNAs based on their main triterpene components

ZHAO Jiangyi¹, ZENG Qin¹, CAI Beilei², LIU Qiancheng¹, LI Yongjun¹, ZHAO Jianquan^{1,3}, WANG Jiangrui^{1,2}

1. Pharmaceutical Factory of Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400800, China

2. Sinomune Pharmaceutical Co., Ltd, Wuxi 214194, Jiangsu Province, China

3. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

Corresponding author: WANG Jiangrui, Email: wangjiangrui@sinomune.com

【Abstract】Objective To predict the differential efficacy of *Tripterygium wilfordii* and *Tripterygium hypoglaucum* in improving vitiligo based on the main triterpenoid components, and to screen candidate key microRNAs for the action of triterpenoid components, laying a theoretical foundation for subsequent new drug development. **Methods** The content of the main triterpenoid

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202511014

基金项目: “科技助力经济2020”重点专项项目(SQ2020YFF0417688); 重庆市技术创新与应用发展专项项目(CSTB2025TIAD-qykjggX0253)

通信作者: 王江瑞, 硕士, 高级工程师, Email: wangjiangrui@sinomune.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

active components (demethylzeylasteral, celastrol, and pristimerin) in *Tripterygium wilfordii* and *Tripterygium hypoglaucum* were determined using high performance liquid chromatography-diode array detection (HPLC-DAD) method, combined with network pharmacology and molecular docking to predict the activity of triterpenoid components in treating vitiligo, and to comprehensively evaluate the efficacy of *Tripterygium wilfordii* and *Tripterygium hypoglaucum* in improving vitiligo, while predicting the candidate key microRNAs involved. **Results** The content of demethylzeylasteral and celastrol in *Tripterygium wilfordii* and the comprehensive efficacy score for improving vitiligo was significantly higher than those of *Tripterygium hypoglaucum* ($P < 0.01$). At the same time, 17 candidate key microRNAs for the treatment of vitiligo by triterpenoid components, including hsa-miR-7-5p, hsa-miR-133a-5p, and hsa-miR-4795-3p, were screened. **Conclusion** Both *Tripterygium wilfordii* and *Tripterygium hypoglaucum* can regulate multiple microRNAs to improve the symptoms of vitiligo, but their efficacy differs significantly, with *Tripterygium wilfordii* being more suitable for the treatment of vitiligo compared to *Tripterygium hypoglaucum*.

【Keywords】 *Tripterygium wilfordii*; *Tripterygium hypoglaucum*; Network pharmacology; Molecular docking; Triterpene components; Vitiligo; Pharmacological differences; microRNA

白癜风是一种由于表皮黑素细胞破坏导致皮肤出现白斑的色素脱失性疾病，全世界发病率为0.5%~1%^[1]，该疾病具有迁延难愈、易复发的特点。由于白癜风好发于暴露部位，常影响患者外观，并因此带来不同程度的心理负担。值得注意的是，精神压力不仅是白癜风发病的常见诱因之一，还可能进一步加重病情发展，形成不良循环^[2]。除精神因素外，自身免疫、氧化应激、黑色素细胞自毁、病毒感染等均被认为是导致白癜风病发的原因^[3]。近年来，微小核糖核酸（microRNA, miRNA）与白癜风的关系受到了学者们的广泛关注。研究表明，miR-370-3p可靶向抑制趋化因子CXC配体（C-X-C motif chemokine ligand, CXCL）12的分泌，进而抑制黑色素细胞的迁移^[4]。胡雯等^[5]的研究表明，miR-223-3p可改善H₂O₂诱导的人表皮黑色素细胞的氧化应激损伤，减少细胞凋亡。此外，miR-577、miR-211、miR-155等多种miRNA也被报道与白癜风的治疗调控相关^[6-7]。目前西医治疗方法主要包括外用糖皮质激素、光疗、手术治疗等，短期效果显著，但具有一定的不良反应，且复发率较高^[8]。中医认为，白癜风是由于脏腑功能失调、邪气入侵、气血不和所致，中药能够通过调节机体的免疫功能，保护黑色素细胞不被破坏，从而发挥白癜风的治疗作用^[8]。

雷公藤属制剂常用于免疫系统疾病的治疗，临床应用广泛，且疗效确切。该属植物在我国分布有3种：雷公藤（*Tripterygium*

wilfordii Hook. f.）、昆明山海棠 [*Tripterygium hypoglaucum* (Lévl.) Hutch.] 和东北雷公藤（*Tripterygium regelii* Sprague et Takeda）^[9]。萜类成分为上述植物的主要活性成分之一，目前已得到广泛研究，并被证实具有抗炎、抗风湿、诱导细胞凋亡等多种药理作用^[10]。去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素为该属植物的代表性三萜类成分。常毓倩^[11]的研究表明，去甲泽拉木醛可作用于Janus激酶2-信号转导与转录激活因子1（Janus kinase 2-signal transducer and activator of transcription 1, JAK2-STAT1）通路，抑制CXCL9、CXCL10的表达，阻断CXC基序趋化因子受体3（C-X-C motif chemokine receptor 3, CXCR3）介导的细胞毒性T淋巴细胞（cytotoxic T lymphocyte, CD8⁺ T）的趋化运动，进而改善白癜风症状。这一机制提示，雷公藤属植物可能具有较强的白癜风改善作用，值得进一步开展新药研发探索。

雷公藤与昆明山海棠为传统药用植物，两者亲缘关系较近，但所含活性成分存在明显差异^[12]。故有必要对两者的药效强弱进行研究，以便更好地指导临床用药及产品开发。本研究通过高效液相色谱-二极管阵列检测器（high performance liquid chromatography with diode array detector, HPLC-DAD）法测定雷公藤与昆明山海棠中主要三萜成分—去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素的含量，结合网络药理学及分子对接技术预测上述成分治疗白癜风的活性，对雷公藤和昆明山

海棠改善白癜风的药效进行综合评估,同时对成分作用的候选关键 miRNA 进行筛选,以期为后续治疗白癜风的新药开发奠定前期研究基础。

1 材料与amp;方法

1.1 主要仪器

莱芙-800T 型高速多功能粉碎机(浙江省永康市红太阳机电有限公司);RUZT1-101 型超纯水机(南京智拓仪器仪表有限公司);KQ-250DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ME204E 型万分之一电子天平和 MS205DU 型十万分之一电子天平购自瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司;Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

对照品去甲泽拉木醛(批号:AFDH1352,纯度 99.88%) and 扁塑藤素(批号:AFCC2408,纯度 99.72%) 购自成都埃法生物科技有限公司;雷公藤红素(中国食品药品检定研究院,批号:111946-201501,纯度 $\geq 97\%$);甲醇和乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

雷公藤药材采集自浙江省兰溪市及新昌县,昆明山海棠药材采集自广西、云南、四川等地,经重庆市药研院制药有限公司高级工程师王江瑞鉴定编号 L1~L8 为卫矛科植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 的干燥根,编号 K1~K6 为卫矛科植物昆明山海棠 [*Tripterygium hypoglaucom* (Lévl.) Hutch.] 的干燥根。样品详细信息见表 1。

1.3 三萜成分的含量测定

1.3.1 色谱条件

采用 HPLC 法,色谱柱为 InfinityLab Poroshell 120 EC-C₁₈ 柱(100 mm \times 4.6 mm, 2.7 μ m),以乙腈(A)-0.15% 磷酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~20 min, 50% A; 20~40 min, 50% \rightarrow 75% A; 40~50 min, 75% A),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 218 nm,柱温为 30 $^{\circ}$ C,进样量为 10 μ L。

1.3.2 混合对照品溶液的制备

分别取去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素对照品约 10 mg,精密称定,置于同一 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液,上述成分的质量浓度依次为 0.103 8、0.104 6、0.103 0 mg/mL。

1.3.3 供试品溶液的制备

取雷公藤或昆明山海棠药材,粉碎,过 4 号筛,精密称取约 0.5 g,置于 250 mL 锥形瓶中,加入二氯甲烷 50 mL,超声(功率:600 W,频率:40 kHz) 2 次,每次 10 min,过滤,合并 2 次滤液,水浴蒸干,残渣加适量甲醇使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

1.3.4 方法学考察

① 系统适用性试验。精密量取混合对照品溶液、供试品溶液及空白溶剂(甲醇),按“1.3.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图(图 1)。结果显示,去甲泽拉木醛、雷公藤红素与扁塑藤素各峰之间的分离度均大于 1.5,理论塔板数均不低于 5 000。

表 1 样品信息

Table 1. Sample information

样品编号	样品名称	批号	产地
L1	雷公藤药材	2210YP1	浙江省金华市兰溪市
L2	雷公藤药材	2210YP2	浙江省金华市兰溪市
L3	雷公藤药材	2210YP3	浙江省金华市兰溪市
L4	雷公藤药材	2210YP4	浙江省绍兴市新昌县
L5	雷公藤药材	2210YP5	浙江省绍兴市新昌县
L6	雷公藤药材	2210YP6	浙江省绍兴市新昌县
L7	雷公藤药材	2210YP7	浙江省绍兴市新昌县
L8	雷公藤药材	2210YP8	浙江省绍兴市新昌县
K1	昆明山海棠药材	2210YP12	广西省桂林市灌阳县
K2	昆明山海棠药材	2211YP1	云南省楚雄彝族自治州楚雄市
K3	昆明山海棠药材	2211YP2	云南省楚雄彝族自治州楚雄市
K4	昆明山海棠药材	2211YP3	四川省攀枝花市米易县
K5	昆明山海棠药材	2211YP4	四川省攀枝花市米易县
K6	昆明山海棠药材	2211YP5	四川省凉山彝族自治州德昌县

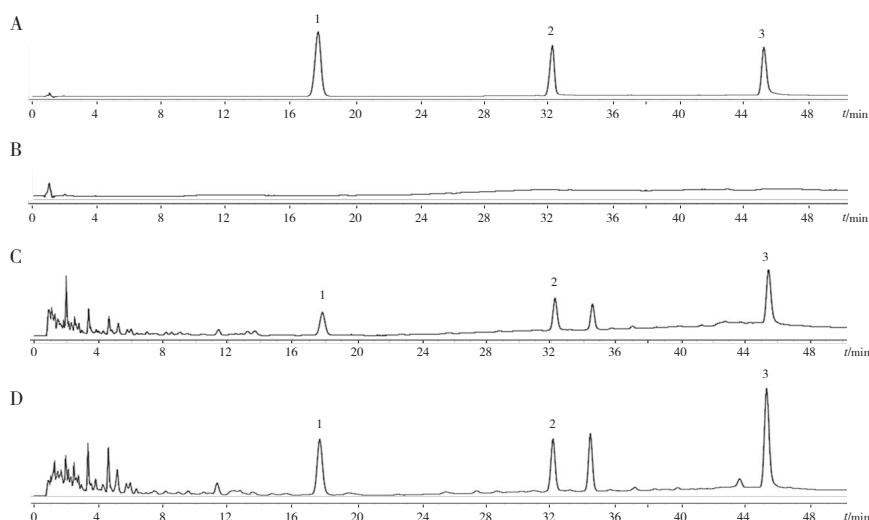


图1 HPLC色谱图

Figure 1. HPLC chromatograms

注：A. 对照品溶液；B. 空白溶剂；C. 供试品溶液；1. 去甲泽拉木醛；2. 雷公藤红素；3. 扁塑藤素。

② 标准曲线的绘制。取“1.3.2”项下混合对照品溶液，按“1.3.1”项下色谱条件分别进样1、2、5、10、15、20 μL ，记录峰面积，以进样量为横坐标 (X , μg)、峰面积为纵坐标 (Y) 计算回归方程，结果见表2。结果表明，各成分进样量与峰面积在相应范围内均有良好的线性关系。

表2 线性关系考察结果

Table 2. Results of linear relationship investigation

对照品	回归方程	r	线性范围 (μg)
去甲泽拉木醛	$Y=2\ 064.20X-1.16$	1.000 0	0.103 7~2.073 5
雷公藤红素	$Y=1\ 349.48X-12.27$	1.000 0	0.101 5~2.029 2
扁塑藤素	$Y=1\ 423.60X-13.96$	0.999 7	0.102 7~2.054 2

③ 精密度试验。取“1.3.2”项下混合对照品溶液，按“1.3.1”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积，计算得到去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素峰面积的 RSD 分别为0.10%、0.21%、0.22% ($n=6$)，表明仪器精密度良好。

④ 重复性试验。取同一批昆明山海棠样品 (样品编号：K4)，按“1.3.3”项下方法平行制备6份供试品溶液，并按“1.3.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算得到去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素的平均含量分别为0.756 7、0.787 0、1.731 6 mg/g ， RSD 分别为1.66%、0.82%、0.91% ($n=6$)，表明方法重复性良好。

⑤ 稳定性试验。取同一供试品溶液 (样品编号：K4)，分别于室温 [$(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$] 条件下放置0、3、6、12、24、36、48 h后按“1.3.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算得到去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素峰面积的

RSD 分别为0.24%、1.06%、0.59% ($n=7$)，表明供试品溶液在室温下放置48 h稳定性良好。

⑥ 加样回收率试验。精密称定已知含量 (甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素分别为0.734 6、0.750 8、1.689 7 mg/g) 的样品约0.5 g，共6份，于每份样品中精密加入适量对照品 (甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素分别为0.368 4、0.374 2、0.845 9 mg)，按“1.3.3”项下方法制备供试品溶液，并按“1.3.1”项下色谱条件进样测定，记录各成分峰面积，计算得到去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素的平均回收率分别为94.61%、100.05%、93.96%， RSD 分别为3.12%、2.58%、2.45% ($n=6$)，表明该方法准确度良好。

1.3.5 样品测定

各批次样品按“1.3.3”项下方法制备供试品溶液，并按“1.3.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算各成分含量。

1.4 三萜成分治疗白癜风的候选关键miRNA筛选

1.4.1 成分有效靶点的筛选

在 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 中对3种三萜成分进行检索，下载对应的2D结构，通过 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 和 PharmMapper 数据库 (<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 预测成分作用靶点，并通过 UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 转化为标准的 Gene Symbol，未匹配到 Gene Symbol 的靶

点予以剔除,同时在 HERB (A High-throughput Experiment- and Reference-guided Database of Traditional Chinese Medicine) 数据库 (herb.ac.cn/) 中查找成分对应靶点,整合各数据库靶点信息,作为成分的有效靶点。

1.4.2 白癜风疾病靶点的获取

通过 GeneCard (<https://www.genecards.org/>)、在线人类孟德尔遗传 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM, <https://www.omim.org/>) 及 DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) 数据库,以“vitiligo”作为关键词进行检索,获得白癜风相关靶点。其中 GeneCard 数据库中选择得分值大于2倍中位数的基因。

1.4.3 蛋白质-蛋白质相互作用网络的构建及关键靶点的筛选

对成分有效靶点和白癜风疾病靶点进行 Venny 分析,将两者的交集靶点作为3种三萜成分治疗白癜风的潜在作用靶点。并将交集靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 的“Multiple Proteins”栏目中,物种选择“Homo sapiens”,选取置信度高于0.7的数据,导出蛋白质-蛋白质互作 (protein-protein interaction, PPI) 关系列表。采用 Cytoscape 3.10.1 软件绘制 PPI 网络图,同时利用 CytoHubba 插件分析网络拓扑参数,以“节点连接度”(degree)、“介度中心性”(betweenness centrality)、“紧密中心性”(closeness centrality) 的中位数为卡值,选取同时满足大于3个卡值的基因,作为3种三萜成分治疗白癜风的关键靶点。

1.4.4 GO与KEGG富集分析

通过 DAVID (The Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery) 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>),完成3种三萜成分治疗白癜风的关键靶点在生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 的 GO 功能富集分析以及 KEGG 通路富集分析,以 $P < 0.05$ 作为筛选条件,获得差异显著的功能和信号通路。

1.4.5 分子对接分析方法

① 成分结构的处理。将3种三萜成分的结构式导入 Chem 3D 19.0 软件中,选择 MM 2 (Molecular Mechanics 2) 力场进行能量最小化处理,得到最稳定的空间构象。

② 靶蛋白的收集与处理。通过蛋白质结构数据库 (Protein Data Bank, PDB, <http://www.rcsb.org>) 筛选关键靶点的人源晶体结构,选取得分最高的含有原配体的蛋白晶体复合结构,使用 PyMol 软件将原配体抽离,并进行去多余蛋白构象、去水等预处理,作为分子对接的受体。

③ 活性口袋的定义。使用 AutoDock Vina 将从蛋白中抽离出的原配体重新对接回去,运用 PyMol 软件计算对接前后分子构象的均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD),若小于2.0,表明该部位适合进行分子对接,活性口袋定义成功。

④ 活性口袋的位置参数获取。使用 AutoDock Vina 确定活性口袋的中心和大小,将蛋白晶体结构原配体的中心作为活性口袋的中心,大小包裹原配体所在活性位点所有关键残基。

⑤ 三萜成分与关键靶点蛋白对接。使用 AutoDock Vina 进行三萜成分与关键靶点蛋白的对接工作。对受体蛋白进行加氢、计算电荷等预处理后,设置活性口袋位置参数,将活性成分对接到活性口袋处,计算结合能。若结合能小于0 kcal/mol,则表明配体分子可与受体分子自发结合,即可认为该成分与靶点蛋白对接成功。

1.4.6 候选关键miRNA的筛选

采用 TargetScan 数据库 (http://www.targetscan.org/vert_72/) 和 miRDB 数据库 (<http://www.mirdb.org/miRDB/>) 对关键靶点进行 miRNA 预测。选择最具代表性的转录本,得到在保守位点结合的 miRNA,筛选保留 seed match 为 8 mer 的 miRNA。选取 TargetScan 数据库中语境评分百分位数和 miRDB 预测值均不低于80的 miRNA,运用 Cytoscape 3.10.1 软件构建“成分-靶点-miRNA”网络。

1.5 雷公藤与昆明山海棠药材改善白癜风的药效评价方法

对“成分-靶点-miRNA”网络进行拓扑分析,得到成分的各项拓扑参数。其中,degree 值为最具代表性的拓扑参数,该值可表征成分与各靶点之间的关联程度,能体现成分在生化过程中的地位,是用来反映成分活性的关键参数。故基于重要拓扑参数 degree 值的大小,根据公式(1)计算成分的活性权重,并依据公式(2)计算药材改善白癜风的药效综合得分。

$$D_i = \frac{D_i}{\sum_1^n D_i} \quad (1)$$

式中, D_i 表示成分 i 的 degree 值; D_i' 表示归一化 degree 值, 即成分 i 的 degree 值占所有成分 degree 值总和的比值。

$$E_j = \sum D_i' \cdot C_{ij} \quad (2)$$

式中, E_j 表示药材 j 的综合药效得分; C_{ij} 表示药材 j 中成分 i 的含量。

2 结果

2.1 雷公藤与昆明山海棠中三萜成分含量对比分析

雷公藤与昆明山海棠的三萜成分含量检测结果见表 3。对三萜成分含量原始数据进行归一化处理完成主成分分析 (principal component analysis, PCA), 图 2 为雷公藤和昆明山海棠样

表3 雷公藤与昆明山海棠中的三萜成分含量 ($\bar{x} \pm s$, mg/g, $n=3$)

Table 3. Content of three triterpenoids in *Tripterygium wilfordii* and *Tripterygium hypoglaucum* ($\bar{x} \pm s$, mg/g, $n=3$)

样品编号	去甲泽拉木醛	雷公藤红素	扁塑藤素
L1	2.881 7 ± 0.002 9	3.459 5 ± 0.003 7	0.076 1 ± 0.000 0
L2	3.773 2 ± 0.002 7	4.395 3 ± 0.005 5	0.109 8 ± 0.000 1
L3	3.249 1 ± 0.004 8	3.584 9 ± 0.004 2	0.112 9 ± 0.000 5
L4	4.120 1 ± 0.006 8	4.106 2 ± 0.005 2	0.071 1 ± 0.000 9
L5	4.306 1 ± 0.004 2	4.403 8 ± 0.002 0	0.069 7 ± 0.000 2
L6	2.914 4 ± 0.001 4	3.949 8 ± 0.007 0	0.062 1 ± 0.000 4
L7	2.806 0 ± 0.018 1	4.629 7 ± 0.019 5	0.063 3 ± 0.000 6
L8	2.343 0 ± 0.001 4	3.646 2 ± 0.012 8	0.047 4 ± 0.000 8
K1	1.561 9 ± 0.001 7	2.192 3 ± 0.000 8	0.035 2 ± 0.000 5
K2	1.410 7 ± 0.001 5	1.701 8 ± 0.001 0	0.465 6 ± 0.001 2
K3	0.113 9 ± 0.000 1	0.610 7 ± 0.000 9	未检出
K4	0.631 3 ± 0.001 3	1.197 6 ± 0.003 1	2.003 8 ± 0.005 0
K5	0.745 5 ± 0.000 4	1.157 6 ± 0.000 6	0.430 9 ± 0.001 4
K6	0.727 1 ± 0.001 6	0.618 6 ± 0.001 5	0.943 5 ± 0.004 2

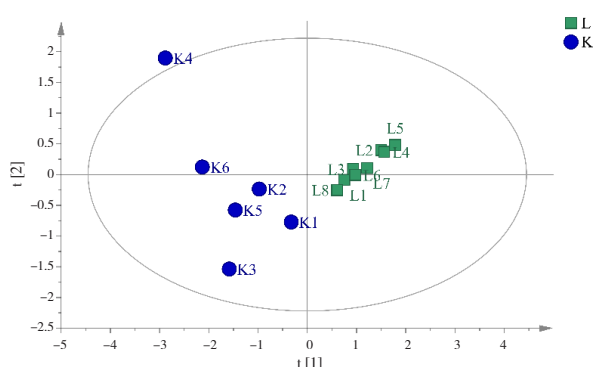


图2 PCA得分散点图

Figure 2. PCA scatter plot

注: L. 雷公藤; K. 昆明山海棠。

2.2 三萜成分治疗白癜风的潜在作用靶点获取

在 SwissTargetPrediction、PharmMapper 和

品的 PCA 得分散点图, 模型稳定性 (R^2X) 为 0.980, 模型预测率 (Q^2) 为 0.838。样品虽有产地差异, 但物种差异对成分含量的影响更为明显, 图 2 中的样品明显按物种区分为雷公藤和昆明山海棠药材两大类, 表明三萜成分在两者间的含量分布整体存在明显差异。样品含量检测数据符合正态分布且方差齐, t 检验结果表明, 雷公藤中的去甲泽拉木醛和雷公藤红素含量均显著高于昆明山海棠 ($P \leq 0.001$), 而扁塑藤素差异无统计学意义 ($P=0.121$)。雷公藤样品中去甲泽拉木醛含量均高于 2 mg/g, 而昆明山海棠样品中含量最高的仅为 1.561 9 mg/g; 雷公藤红素在雷公藤样品中含量范围为 3.459 5~4.629 7 mg/g, 而在昆明山海棠样品中的范围仅为 0.610 7~2.192 3 mg/g。相较于昆明山海棠, 雷公藤中含有更高含量的三萜成分。

HERB 数据库中预测去甲泽拉木醛、雷公藤红素、扁塑藤素的相应靶点, 合并去重后得到 132 个化合物作用靶点。在 GeneCard、OMIM 和 DrugBank 基因数据库中, 以“vitiligo”为关键词进行检索, 合并去重后得到 672 个与白癜风相关的人源靶点。通过在线绘图网站微生信 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 绘制韦恩图 (图 3), 将三萜成分作用靶点和白癜风相关靶点进行交集分析, 最终获得三萜成分治疗白癜风的 28 个潜在作用靶点。

2.3 PPI网络的构建与分析

在 STRING 数据库中, 对三萜成分治疗白癜风的潜在作用靶点进行蛋白互作分析, 并通过 Cytoscape 软件绘制 PPI 网络图。如图 4 所示, 该网络包含 28 个节点, 50 条边, 节点平均度数

是3.57。图中节点越大，表明 degree 值越大，即该靶点与其他靶点作用越紧密。靶点与靶点之间的连接线越粗，表明综合评分越高，即两者的关系越紧密。以网络拓扑参数 degree、betweenness centrality 和 closeness centrality 的中位数为卡值，筛选得到7个同时满足大于3个卡值的靶点，作为三萜成分治疗白癜风的关键靶点。关键靶点及相应拓扑参数见表4。

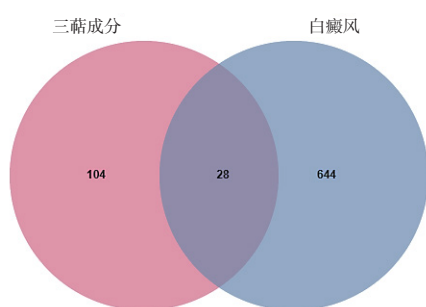


图3 三萜成分-白癜风疾病靶点韦恩图

Figure 3. The venn diagram of the targets both in triterpenoids targets and vitiligo targets

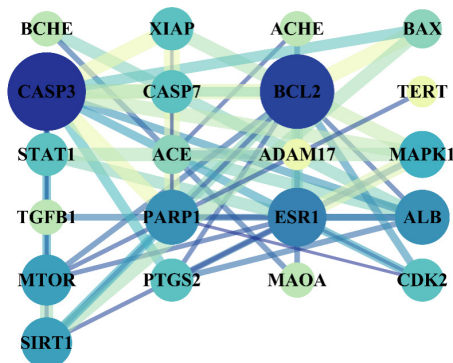


图4 PPI网络图

Figure 4. PPI network diagram

表4 关键靶点及拓扑参数

Table 4. Key targets and topological parameters

靶点	degree	betweenness centrality	closeness centrality
ALB	7	0.418 2	0.588 2
BCL2	12	0.193 2	0.645 2
ESR1	8	0.100 0	0.571 4
CASP3	13	0.283 3	0.666 7
SIRT1	6	0.011 2	0.476 2
mTOR	6	0.103 7	0.476 2
PARP1	7	0.014 3	0.476 2

注：ALB：白蛋白（albumin）；BCL2：B细胞淋巴瘤因子2（B cell lymphoma 2）；ESR1：雌激素受体1（estrogen receptor 1）；CASP3：胱天蛋白酶3（Caspase-3）；SIRT1：沉默信息调节因子1（silent information regulator 1）；mTOR：帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin）；PARP1：聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶1（poly ADP-ribose polymerase-1）。

2.4 关键靶点的GO与KEGG富集分析

通过 DAVID 数据库对三萜成分治疗白癜风的7个关键靶点进行GO和KEGG分析（图5和图6）。根据 $P < 0.05$ ，GO富集得到37个BP（如DNA损伤反应、对过氧化氢的反应等）、10个CC（如细胞核、细胞质等）、5个MF（如相同蛋白结合、酶结合等）。KEGG富集得到13条相关通路，其中涉及基因数最多且最具显著性意义的通路为miRNAs in cancer，提示三萜成分治疗白癜风极有可能与miRNA的调节密切相关。富集得到的通路涉及BCL2、ESR1、CASP3、SIRT1、mTOR、PARP1共计6个关键靶点，用于后续进一步的研究。运用Cytoscape 3.10.1软件构建“疾病-成分-靶点-通路”网络（图7），该网络包含21个节点，47条边，可以看出3种三萜成分可作用于多靶点、多通路发挥治疗白癜风的作用。

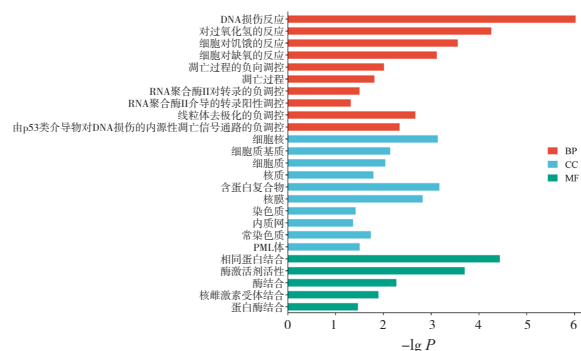


图5 GO功能富集分析图

Figure 5. GO function enrichment analysis

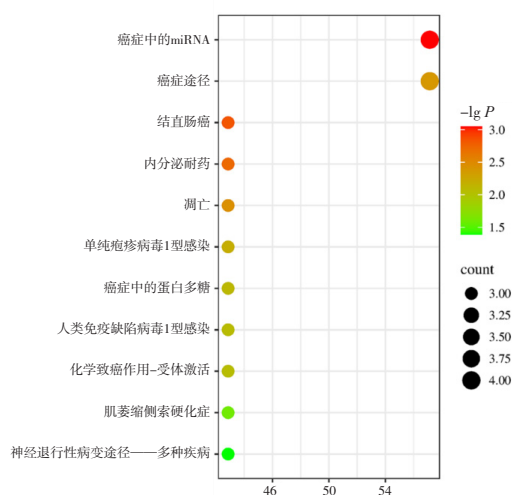


图6 KEGG通路富集气泡图

Figure 6. KEGG pathway enrichment analysis

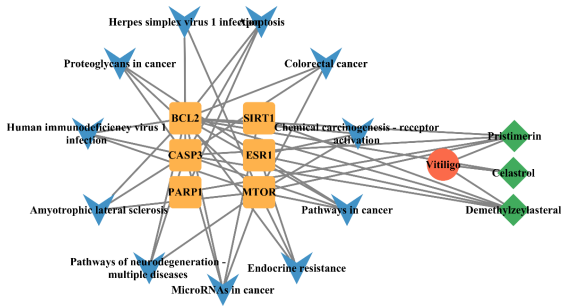


图7 “疾病-成分-靶点-通路”网络图
Figure 7. “Disease-compound-target-pathway” network diagram

2.5 分子对接结果

从PDB数据库中搜索得到6个关键靶点的人源蛋白，将原配体与靶点蛋白在活性口袋处进行对

接，对接参数与RMSD值见表5。所有原配体与靶点蛋白对接前后构象的RMSD值均小于2，表明原配体所在部位适合用于分子对接，活性口袋定义成功。将6个关键靶点的人源蛋白与3种三萜成分进行对接，结合能均小于0 kcal/mol，表明关键靶点与三萜成分均能成功对接（表6）。去甲泽拉木醛和扁塑藤素均对CASP3具有最高的结合亲和力，去甲泽拉木醛与CASP3蛋白的结合亲和力主要通过His-237、Phe-381B残基之间的相互作用，扁塑藤素与His-237残基间也可通过氢键结合；雷公藤红素与mTOR之间的结合能绝对值最大，主要是通过ALA-206残基间的作用相结合（图8）。由此可以推测，3种三萜成分能够与白癜风的靶点良好结合，在治疗过程中发挥作用。

表5 活性口袋对接参数与RMSD值计算结果

Table 5. Docking parameters of active pockets and calculation results of RMSD value

关键靶点	PDB id	中心参数			大小参数			RMSD
		X	Y	Z	X	Y	Z	
BCL2	9ew8	-2.959	2.431	-0.780	40	40	40	1.031
ESR1	9bqe	-2.822	-29.519	22.815	40	40	46	1.781
CASP3	1re1	37.485	93.628	19.138	40	40	40	1.176
SIRT1	5y4h	53.599	49.239	-1.853	40	46	40	1.885
mTOR	1pbk	17.860	22.550	25.863	40	40	40	1.159
PARP1	9ckf	-26.218	-17.627	-1.271	40	40	40	1.177

表6 分子对接结合能

Table 6. Molecular docking binding energy

靶点	PDB id	结合能 (kcal/mol)		
		去甲泽拉木醛	雷公藤红素	扁塑藤素
1pbk	mTOR	-7.0	-7.9	-6.6
1re1	CASP3	-7.7	-7.8	-7.8
5y4h	SIRT1	-6.1	-6.1	-5.9
9bqe	ESR1	-5.3	-7.4	-5.7
9ckf	PARP1	-6.3	-7.8	-7.6
9ew8	BCL2	-4.3	-4.9	-4.8

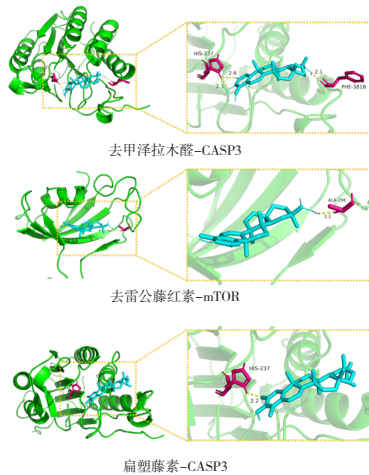


图8 构象可视化的结合模式

Figure 8. Combination mode of conformational visualization

2.6 三萜成分治疗白癜风的候选关键miRNA筛选

根据TargetScan数据库中的语境评分百分位数和miRDB预测值，筛选得到127个三萜成分治疗白癜风的miRNA，运用Cytoscape 3.10.1软件构建“成分-靶点-miRNA”网络图（图9），观察三萜成分、作用靶点及对应的miRNA三者之间的相关作用。表7中所列hsa-miR-7-5p、hsa-miR-133a-5p、hsa-miR-4795-3p等17个miRNA在TargetScan数据库中的语境评分百分位数和miRDB预测值均不低于95，被筛选为三萜成分治疗白癜风的候选关键miRNA。Brahmbhatt等^[13]研究表明，上调SIRT1可抑制miR-211的表达，保护

白癜风表皮中紫外线介导的 DNA 损伤。Sahoo 等^[14]的研究确立了 miR-211 为白癜风细胞中细胞代谢的关键调节因子，可调控氧化磷酸化和线粒体能量代谢。miR-211 的异常调控，会导致白癜风细胞氧消耗率降低、脂质代谢异常以及活性氧生成增加，造成细胞损伤^[15]。与健康组织相比，白癜风患者病变组织中的 miR-9 升高而黏附分子降低；可通过抑制 miR-9 表达，使病灶周围黑素细胞向病灶组织迁移，促进白癜风复色^[16]。由此可以看出，miRNA 对于白癜风的治疗具有重要作用。

2.7 雷公藤与昆明山海棠药材改善白癜风的药效综合评价

按“1.5”项下公式计算雷公藤和昆明山海棠样品的药效综合得分，结果见表 8。样品得分符合正态分布且方差齐，*t* 检验结果表明，雷公藤的药效综合得分显著高于昆明山海棠 ($P < 0.01$)。雷公藤样品的平均药效综合得分为 1.947 2，是昆明山海棠样品的 2.40 倍。评价

结果提示，雷公藤和昆明山海棠虽为同属植物，亲缘关系较近，但两者改善白癜风的药效强弱存在一定差异，雷公藤相较于昆明山海棠更适合用于白癜风的治疗。后续可通过相应的药理实验对评价结果做进一步验证。

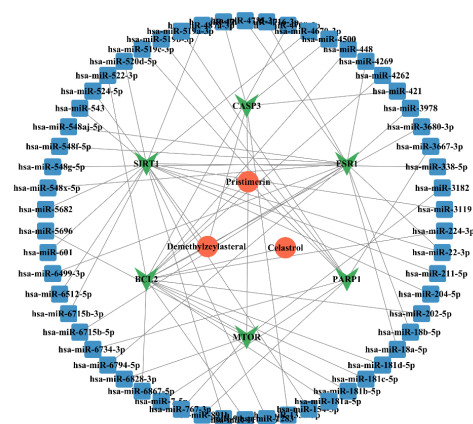


图9 “成分-靶点-miRNA” 网络图
Figure 9. “Compound-target-miRNA” network diagram

表7 三萜成分治疗白癜风的候选关键miRNA

Table 7. Candidate key miRNAs for the treatment of vitiligo with triterpenoid components

miRNA	语境评分	语境评分百分位数	加权语境评分	miRDB预测值
hsa-miR-7-5p	-0.43	99	-0.01	98
hsa-miR-133a-5p	-0.51	99	-0.51	96
hsa-miR-4795-3p	-0.29	98	-0.29	99
hsa-miR-154-3p	-0.35	98	-0.35	97
hsa-miR-487a-3p	-0.33	98	-0.33	97
hsa-miR-6715b-5p	-0.32	98	-0.32	96
hsa-miR-9-5p	-0.36	98	-0.36	95
hsa-miR-891b	-0.44	98	-0.09	95
hsa-miR-448	-0.3	97	-0.3	99
hsa-miR-4708-5p	-0.3	97	-0.3	98
hsa-miR-22-3p</				

3 讨论

在试验前期,对含量测定所用供试品溶液的制备方法进行了系统考察,包括提取溶媒、提取时间及提取次数等关键参数。在建立 HPLC 分析条件过程中,考察了不同流动相体系(乙腈-纯水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-0.1%甲酸水、乙腈-0.1%冰醋酸水)、不同流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)以及不同柱温(25、30、35℃)。在确定采用磷酸水溶液体系后,进一步考察了不同磷酸浓度(0.05%、0.1%、0.15%),并对洗脱梯度进行了反复优化。最终,综合各色谱峰的峰形、分离度及出峰时间等因素,确定了最佳色谱条件。

白癜风病发与黑色素细胞功能异常密切相关,减轻黑色素细胞的损伤即可使病症得到改善。虞海燕等^[17]研究表明,白癜风患者的黑色素细胞中 mTOR 蛋白水平明显低于正常对照组。苦参碱可促进 SIRT1 蛋白表达,降低 mTOR 磷酸化水平,减少白癜风小鼠黑色素细胞的丢失^[18]。京尼平苷能上调 H₂O₂ 诱导的体外氧化应激模型中 BCL2 的表达,降低黑色素细胞的氧化损伤程度^[19]。故药物可通过调节相关靶点功能,保护黑色素细胞不被破坏,进而发挥治疗白癜风的作用。

miRNAs in cancer 为本研究通过 KEGG 富集得到的关键通路。查阅文献^[20]发现,miRNA 可调控人类的各项生命活动,其在白癜风发病机制中具有重要作用。临床检验结果显示,miR-155、miR-1238-3p、miR-202-3p、miR-630 和 miR-766-3p 在白癜风患者外周血中的表达量均异于健康对照组,且表达量与病程相关。杨敏等^[21]通过体外实验发现,miR-125b-5p 可调控小眼畸形相关转录因子(microphthalmia-associated transcription factor, MITF)的表达,提高黑色素细胞的增殖率,同时减少细胞凋亡。miR-223-3p 可靶向作用于叉头框蛋白 O3(forkhead box O3, FOXO3),亦可对表皮黑色素细胞的生物学行为进行调控^[22]。本研究仅通过生物信息技术对雷公藤属植物中三萜成分治疗白癜风的作用机制进行预测,后续进行药理实验验证时可重点关注其对 miRNA 的功能调控情况。

雷公藤与昆明山海棠种间界限模糊,在分类学上一直存在争议,有将两者视作同种中药使用的情况。但据文献^[23-24]报道,雷公藤与昆明山

海棠的药效物质基础存在一定差异。本研究结果显示,相较于昆明山海棠,雷公藤中三萜成分含量整体较高。生物信息学分析结果提示,雷公藤与昆明山海棠改善白癜风的药效强弱具有明显差异。故两者在使用时应加以区分,混用将导致疗效的不稳定。本研究所用样品的产地、批次有限,后续可从多个产地收集更多批次的药材对结果做进一步的验证。

参考文献

- Ezzedine K, Lim HW, Suzuki T, et al. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference[J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2012, 25(3): E1-13. DOI: 10.1111/j.1755-148X.2011.00997.x.
- 李曼,王芳,王利娟,等.精神神经因素在白癜风发生、发展和预防中的作用[J].*中国皮肤性病学杂志*, 2019, 33(3): 351-354. [Li M, Wang F, Wang LJ, et al. Role of psychological and neural factors in the onset, development and prevention of vitiligo[J]. *The Chinese Journal of Dermatovenereology*, 2019, 33(3): 351-354.] DOI: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.201712077.
- 杨杰,胡楠,吴景东.白癜风发病机制及中西医治疗研究进展[J].*实用中医内科杂志*, 2025, 39(4): 115-118. [Yang J, Hu N, Wu JD. Pathogenesis of vitiligo and research progress on traditional Chinese and Western medicine treatment[J]. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine*, 2025, 39(4): 115-118.] DOI: 10.13729/j.issn.1671-7813.Z20241755.
- 刘钟.白癜风循环外泌体 miR-370-3p 调控 CXCL12 分泌影响黑色素细胞迁移的研究[D].武汉:华中科技大学,2024. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10487-1025252870.htm>.
- 胡雯,张祥月,王红娟,等.miR-223-3p 对 H₂O₂ 诱导的人表皮黑色素细胞氧化应激反应和生物学功能的影响[J].*中国皮肤性病学杂志*, 2023, 37(8): 870-877. [Hu W, Zhang XY, Wang HJ, et al. Effect of micro-RNA-223 expression on oxidative stress and biological function in human epidermal melanocytes induced by H₂O₂[J]. *The Chinese Journal of Dermatovenereology*, 2023, 37(8): 870-877.] DOI: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202301007.
- 徐晨,康晓静.MicroRNAs 与白癜风相关性的研究进展[J].*免疫学杂志*, 2018, 34(10): 917-920. [Xu C, Kang XJ. The correlation between microRNAs and vitiligo[J]. *Immunological Journal*, 2018, 34(10): 917-920.] DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20180142.
- 高艳,胡雯,康晓静.miRNAs 在白癜风治疗靶点中的研究进展[J].*中国皮肤性病学杂志*, 2022, 36(6): 720-723, 728. [Gao Y, Hu W, Kang XJ. Research progress of miRNAs in the therapeutic target of vitiligo miRNAs[J]. *The Chinese Journal of Dermatovenereology*, 2022, 36(6): 720-723, 728.] DOI: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202106165.
- 房高鸽,王通,倪乾越,等.中药单体及复方治疗白癜风的作用机制研究进展[J].*中国药房*, 2025, 36(10): 1271-1276. [Fang GG, Wang T, Ni QY, et al. Research progress on the action

- mechanism of monomer components and compound formulations of traditional Chinese medicine in the treatment of vitiligo[J]. *China Pharmacy*, 2025, 36(10): 1271–1276.] DOI: [10.6039/j.issn.1001-0408.2025.10.21](https://doi.org/10.6039/j.issn.1001-0408.2025.10.21).
- 9 中国科学院中国植物志编辑委员会, 编. 中国植物志. 第 45 卷 3 分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 178.
 - 10 姚鑫, 吴强, 周勤华, 等. 雷公藤中萜类成分药理作用的分子机制研究进展 [J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(4): 118–121. [Yao X, Wu Q, Zhou QH, et al. Pharmacology effect of five terpenes from *Tripterygium wilfordii* Hook. f: five years of progress[J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2012, 28(4): 118–121.] DOI: [10.13412/j.cnki.zyyl.2012.04.024](https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.2012.04.024).
 - 11 常毓倩. 去甲泽拉木醛在白癜风中的治疗作用及机制研究[D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2022. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-91030-1023441498.htm>.
 - 12 陈一龙, 刘翔, 瞿显友, 等. 雷公藤属植物物种间的化学成分差异性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(2): 319–325. [Chen YL, Liu X, Qu XY, et al. Studies on difference of chemical compositions in plant species of *Tripterygium* genus[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2017, 42(2): 319–325.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjmm.20161222.011](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20161222.011).
 - 13 Brahmabhatt HD, Gupta R, Gupta A, et al. Long noncoding RNA MALAT1 suppresses miR-211 to confer protection from UV-mediated DNA damage in vitiligo epidermis by upregulating SIRT1[J]. *Br J Dermatol*, 2021, 184(6): 1132–1142. DOI: [10.1111/bjd.19666](https://doi.org/10.1111/bjd.19666).
 - 14 Sahoo A, Lee B, Boniface K, et al. MicroRNA-211 regulates oxidative phosphorylation and energy metabolism in human vitiligo[J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(9): 1965–1974. DOI: [10.1016/j.jid.2017.04.025](https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.04.025).
 - 15 Spiegelman VS, Elcheva IA. Metabo-miR: miR-211 regulates mitochondrial energy metabolism in vitiligo[J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(9): 1828–1830. DOI: [10.1016/j.jid.2017.06.012](https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.06.012).
 - 16 Su MY, Yi H, He XL, et al. miR-9 regulates melanocytes adhesion and migration during vitiligo repigmentation induced by UVB treatment[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 384(1): 111615. DOI: [10.1016/j.yexcr.2019.111615](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.111615).
 - 17 虞海燕, 岑建萍, 林晓霞, 等. 白癜风皮损旁黑色素细胞自噬相关蛋白表达的研究 [J]. *浙江医学*, 2019, 41(24): 2592–2595. [Yu HY, Cen JP, Lin XX, et al. Expressions of autophagy-related proteins in perilesional melanocytes of vitiligo in vitro[J]. *Zhejiang Medical Journal*, 2019, 41(24): 2592–2595.] DOI: [10.12056/j.isn.1006-2785.2019.41.24.2019-2478](https://doi.org/10.12056/j.isn.1006-2785.2019.41.24.2019-2478).
 - 18 叶峻宏, 韩宪伟, 吕雯, 等. 苦参碱调控 Sirt1/AMPK 自噬通路减少白癜风小鼠黑色素细胞丢失的机制研究 [J]. *中药材*, 2022, 45(11): 2749–2754. [Ye JH, Han XW, Lyu W, et al. Mechanism of matrine regulating Sirt1/AMPK autophagy pathway to reduce melanocyte loss in vitiligo mice[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2022, 45(11): 2749–2754.] DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2022.11.039](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2022.11.039).
 - 19 Lu W, Zhao Y, Kong Y, et al. Geniposide prevents H₂O₂-induced oxidative damage in melanocytes by activating the PI3K-Akt signalling pathway[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2018, 43(6): 667–674. DOI: [10.1111/ced.13409](https://doi.org/10.1111/ced.13409).
 - 20 黄尾全, 王丹丽, 吕安琪, 等. 白癜风患者外周血中 miR-155、miR-1238-3p、miR-202-3p、miR-630 和 miR-766-3p 的表达与病情进展的研究 [J]. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2020, 19 (5): 449–453. [Huang WQ, Wang DL, Lyu AQ, et al. Study on the expression of miR-155, miR-1238-3p, miR-202-3p, miR-630, and miR-766-3p in peripheral blood of vitiligo patients and their relationship with disease progression[J]. *Chinese Journal of Dermatovenereology of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2020, 19 (5): 449–453.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-0709.2020.05.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-0709.2020.05.018).
 - 21 杨敏, 李丽华, 陈赵慧. miR-125b-5p 调控白癜风黑色素细胞小眼畸形相关转录因子及增殖、凋亡机制 [J]. *医学理论与实践*, 2025, 38(15): 2529–2532, 2551. [Yang M, Li LH, Chen ZH. The mechanism of miR-125b-5p regulating microphthalmia associated transcription factors, proliferation and apoptosis of melanocytes in vitiligo[J]. *The Journal of Medical Theory and Practice*, 2025, 38(15): 2529–2532, 2551.] DOI: [10.19381/j.issn.1001-7585.2025.15.003](https://doi.org/10.19381/j.issn.1001-7585.2025.15.003).
 - 22 雷子贤. miRNA 在白癜风血浆中的差异表达及其功能研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2020. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10760-1021008242.htm>.
 - 23 雷晴, 万屏. 昆明山海棠与雷公藤急性毒性试验对比研究 [J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2009, 25(4): 259–261. [Lei Q, Wan P. Comparative study on the acute toxicity of the ethanol extract of *Tripterygium hypoglaucom* (Level) Hutch and *Tripterygium wilfordii* Hook in mice[J]. *China Journal of Leprosy and Skin Diseases*, 2009, 25(4): 259–261.] DOI: [10.3969/j.issn.1009-1157.2009.04.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1009-1157.2009.04.010).
 - 24 刘超. 基于遗传与化学的雷公藤与昆明山海棠比较研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2015. <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-84502-1015435393.htm>.
- 收稿日期: 2025 年 11 月 07 日 修回日期: 2026 年 01 月 09 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳