

基于网络药理学与分子动力学模拟探讨桉柠蒎肠溶胶囊调控铁死亡治疗中耳炎的分子机制



蔡来亮¹, 汤秋平²

1. 宁德市医院门诊药房 (福建宁德 352100)

2. 宁德市医院导管室 (福建宁德 352100)

【摘要】目的 基于网络药理学与分子对接技术探讨桉柠蒎肠溶胶囊调控铁死亡治疗中耳炎 (otitis media, OM) 的作用机制, 并通过分子动力学模拟进行验证。**方法** 基于公共数据库获取桉柠蒎肠溶胶囊及 OM 相关基因靶点, 取两者的交集靶点, 通过 Metascape 数据库进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 和基因本体论 (Gene Ontology, GO) 功能富集分析; 构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络筛选关键靶点。从 FerrDb 数据库获取铁死亡靶点, 取桉柠蒎肠溶胶囊、OM 和铁死亡相关靶点的交集靶点, 利用 Cytoscape 3.7.1 软件的 CytoNCA 插件筛选核心靶点并再次进行富集分析, 最后通过分子对接和分子动力学模拟验证桉柠蒎肠溶胶囊与铁死亡靶点的相互作用。**结果** 筛选得到桉柠蒎肠溶胶囊调控铁死亡治疗 OM 的 16 个作用靶点, 前 5 位核心靶点分别为 PPARG、HIF1A、MAPK3、PPARA、MAPK1。GO 与 KEGG 富集分析结果表明, 桉柠蒎肠溶胶囊主要通过调控细胞分化、丝裂原活化蛋白 (mitogen-activated protein, MAP) 激酶活性等治疗 OM, 其调控铁死亡依赖胞葬作用、程序性死亡配体-1/程序性死亡受体-1 (programmed death-ligand 1/programmed death-1, PD-L1/PD-1)、缺氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 及癌症的中心碳代谢等关键通路。分子对接结果显示, 桉柠蒎肠溶胶囊三种成分与 PPARG、HIF1A、PPARA、MAPK1 的结合能均小于 -5.0 kcal/mol, 其中桉油精与 PPARA、柠檬烯与 MAPK3、 α -蒎烯与 PPARG 结合能力最优, 分子动力学模拟得到均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD)、能量和均方根波动 (root mean square fluctuation, RMSF) 的结果证实结合高度稳定。**结论** 桉柠蒎肠溶胶囊中的桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯通过结合 PPARA、MAPK3 和 PPARG 等核心靶点, 调控胞葬作用、PD-L1/PD-1、HIF-1 与癌症的中心碳代谢等信号通路来治疗 OM, 为其临床应用于 OM 治疗提供了理论依据。

【关键词】 桉柠蒎肠溶胶囊; 中耳炎; 铁死亡; 网络药理学; 分子动力学模拟; 分子机制

【中图分类号】 R 764.21 **【文献标识码】** A

Exploring the molecular mechanism of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules in regulating ferroptosis for the treatment of otitis media based on network pharmacology and molecular dynamics simulation

CAI Lailiang¹, TANG Qiuping²

DOI: 10.12173/j.issn.1004-4337.202512022

通信作者: 汤秋平, Email: 17343559807@163.com

<https://slyyx.whuznhmedj.com/>

1. Outpatient Pharmacy, Ningde Municipal Hospital, Ningde 352100, Fujian Province, China

2. Catheterization Laboratory, Ningde Municipal Hospital, Ningde 352100, Fujian Province, China

Corresponding author: TANG Qiuping, Email: 17343559807@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore the mechanism of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules in treating otitis media (OM) by regulating ferroptosis based on network pharmacology and molecular docking techniques, and to verify this mechanism through molecular dynamics simulation. **Methods** The gene targets associated with eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules and OM were obtained based on public databases, and the intersection of the two sets of targets were acquired. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) and Gene Ontology (GO) functional enrichment analyses were performed using Metascape database. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed to screen key targets. Ferroptosis-related targets were retrieved from FerrDb database, and the intersection of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules, OM, and ferroptosis-related targets was selected. The core targets were screened using the CytoNCA plugin of Cytoscape 3.7.1 software and further enriched analysis was performed. Finally, molecular docking and molecular dynamics simulation were conducted to validate the interactions between eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules and the ferroptosis-related targets. **Results** 16 targets for eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules in treating OM via regulating ferroptosis were screened, with the top 5 core targets being PPARG, HIF1A, MAPK3, PPARG, and MAPK1. The results of GO and KEGG enrichment analysis indicated that eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules mainly treat OM by regulating cell differentiation, mitogen-activated protein (MAP) kinase activity, etc., and its regulation of ferroptosis depends on efferyctosis, programmed death ligand-1/programmed death receptor-1 (PD-L1/PD-1), hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1), and the central carbon metabolism of cancer. Molecular docking results demonstrated that three main components of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules exhibited binding energies below -5.0 kcal/mol with PPARG, HIF1A, PPARG and MAPK1, among which eucalyptol-PPARG, limonene-MAPK3, and α -pinene-PPARG showed the best binding ability. The results of molecular dynamics simulation, including root mean square deviation (RMSD), energy, and root mean square fluctuation (RMSF), confirmed that the binding was highly stable. **Conclusion** The active components of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules, including eucalyptol, limonene, and α -pinene, exert their therapeutic effects on OM by binding to core targets such as PPARG, MAPK3, and PPARG. These interactions regulate signaling pathways, including efferyctosis, PD-L1/PD-1, HIF-1 and the central carbon metabolism of cancer, thereby providing a theoretical basis for the clinical application of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules in the treatment of OM.

【Keywords】 Eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules; Otitis media; Ferroptosis; Network pharmacology; Molecular dynamics simulation; Molecular mechanism

中耳炎 (otitis media, OM) 是由于病毒或细菌引起中耳结构的炎性病变, 以耳痛、听力减退和耳内流脓为常见症状, 严重时甚至可能导致颅内感染^[1-2]。目前, 临床上常使用抗菌药物、激素或手术等手段对 OM 进行治疗, 但疗效有限, 且存在易复发、副作用大或耐药性等问题^[3-4]。因此, 亟需寻找 OM 新型治疗靶点药物以突破疗效瓶颈。研究表明, 铁死亡是一种由铁依赖性脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡形式, 与 OM 病

理进程密切相关^[5]。在 OM 微环境中, 促炎因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 通过上调铁调素导致铁超载, 同时活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 过量产生引发谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) /谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 抗氧化系统失衡, 共同加剧耳黏膜上皮细胞的铁死亡进程^[6-8]。这提示铁死亡可能参与了 OM 的病理进

展,其通路相关分子或可成为 OM 治疗的潜在靶点。

桉柠蒎肠溶胶囊的主要活性成分为桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯,三者通过协同作用发挥解热、抗炎、抗菌、平喘和镇痛等多重药理作用^[9]。桉柠蒎肠溶胶囊的主要成分来源于天然植物提取物,具有较低的毒副作用和较高的安全性^[10]。研究其在 OM 中的应用不仅能为患者提供更温和的治疗选择,还可能推动天然药物在耳鼻喉科领域的临床转化。桉柠蒎肠溶胶囊可能通过抑制炎症介质释放和调节免疫反应缓解 OM 的炎症过程,具体作用机制有待进一步验证。桉柠蒎肠溶胶囊可通过多种活性成分治疗 OM,但也导致网络复杂,难以全面解析。网络药理学的应用为探究药物、靶点、疾病三者间的联系提供了新的研究手段,为进一步诊断并治疗疾病等构建了新的桥梁^[11]。本研究通过网络药理学、分子对接技术及分子动力学模拟,旨在从铁死亡调控视角揭示桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 的分子机制,为其临床应用于 OM 治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 桉柠蒎肠溶胶囊活性成分对应靶点筛选

将桉柠蒎肠溶胶囊主要成分桉油精(eucalyptol)、柠檬烯(limonene)和 α -蒎烯(α -pinene)的英文名称输入 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中进行检索,获得相应 2D 结构;再将其 2D 结构分别导入 Swiss Target Prediction 数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>),选择“species”为“homo sapiens”,采用默认概率阈值(probability ≥ 0.1),获得潜在药物作用靶点。

1.2 OM 靶点筛选

以“otitis media”为关键词在 GeneCards 数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>)进行检索,筛选相关性得分 >1 的靶点^[12-13],通过 OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)的“Relevance score”值进行筛选。整合数据库获得的靶点,并去除重复靶点,得到 OM 相关靶点。

1.3 基于铁死亡调控基因的桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 作用靶点分析

从 FerrDb 数据库(<http://www.zhounan.org/ferrdb/>)获取铁死亡相关靶点,利用微生信平台

(<https://bioinformatics.com.cn/>)对桉柠蒎肠溶胶囊、OM 和铁死亡相关靶点进行分析,得到三者交集靶点。通过 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,最低要求的交互得分设置为中等置信度 0.400^[14],其他参数保持默认,去除网络中不连接的节点,以 TSV 格式导出。利用 Cytoscape 3.7.1 软件绘制 PPI 网络图,并采用 CytoNCA 插件计算中介中心性(betweenness centrality, BC)、接近中心性(closeness centrality, CC)及度值(Degree),基于这些参数筛选获得核心靶点。

1.4 京都基因与基因组百科全书和基因本体论功能富集分析

将得到的核心靶点上传至 Metascape 数据库(<https://metascape.org/gp/>),进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)和基因本体论(Gene Ontology, GO)富集分析,并借助微生信平台对结果进行可视化。

1.5 分子对接

通过 CB-Dock2 在线平台进行分子对接,以桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯作为配体,基于 PPI 网络中的 CytoNCA 算法得到前 5 个关键基因蛋白作为受体。从 PubChem 数据库获得配体的 3D 结构,经 Chem3D 能量优化后转为 PDB 格式,从 RCSB PDB 数据库下载智人(homo sapiens)源靶蛋白的 5 个关键基因晶体结构(要求分辨率 <2.5 Å),下载后去除共晶配体及非结合水分子。采用盲对接模式,并通过曲率腔算法识别结合位点,利用 AutoDock Vina 计算结合能,选取最优构象,CB-Dock2 内置三维视图提供了分子对接结果的交互模式。

1.6 分子动力学模拟

采用 YASARA 10.3.16 软件对受体和配体结构进行预处理,包括去除无关原子、添加氢原子及赋予质子态(pH=7.4)以优化结构。在 YASARA 软件内重新执行分子对接,同时保持网格搜索的穷尽性,以筛选结合能最佳且构象合理的复合物。随后,基于 AMBER 力场将复合物置于明确的溶剂环境中,并建立立方模拟盒,使用周期性边界条件(“环绕所有原子”模式+5 Å 缓冲, $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$);根据软件默认设置添加水和离子。在系统进行能量

最小化和平衡后，进行 100 ns (100 000 ps) 分子动力学模拟，实时记录均方根偏差 (root mean square deviation, RMSD)、能量和均方根波动 (root mean square fluctuation, RMSF) 等参数。使用 GraphPad Prism 9.0 软件对分子动力学模拟所得数据进行可视化分析，并绘制相关图表。

2 结果

2.1 桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 的作用靶点

通过 Swiss Target Prediction 数据库获得 144 个桉柠蒎肠溶胶囊作用靶点，基于 GeneCards 和 OMIM 数据得到 3 354 个 OM 作用靶点，在 FerrDb 数据库获得 563 个铁死亡相关靶点，将三者的靶点数据集导入微生信平台，绘制韦恩图，得到交集靶点 16 个，见图 1-A。将其绘制成 PPI 网络图，共获得 16 个节点、51 条边 (图 1-B)。根据 BC、CC 及 Degree 值获得前 5 位核心靶点，分别为 PPARG、HIF1A、MAPK3、PPARA、MAPK1，

见表 1。GO 功能分析结果显示，64 个生物过程 (biological process, BP) 主要富集在 miRNA 转录调控、发育和细胞分化等；12 个细胞组分 (cellular component, CC) 主要与细胞膜、细胞突起相关结构、细胞质区域和细胞器等有关；22 个分子功能 (molecular function, MF) 主要富集在核受体活性、JUN (Jun proto-oncogene) 激酶活性、丝裂原活化蛋白 (mitogen-activated protein, MAP) 激酶活性及 DNA 结合转录激活子活性调控等。KEGG 富集分析结果显示，交集靶点主要富集在癌症通路、肿瘤中程序性死亡配体-1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 表达和程序性死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 检查点通路、辅助性 T 细胞 17 (T helper 17, Th17) 细胞分化、缺氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 信号通路、自噬、活性氧等 19 条相关通路，见图 1-C 和图 1-D。

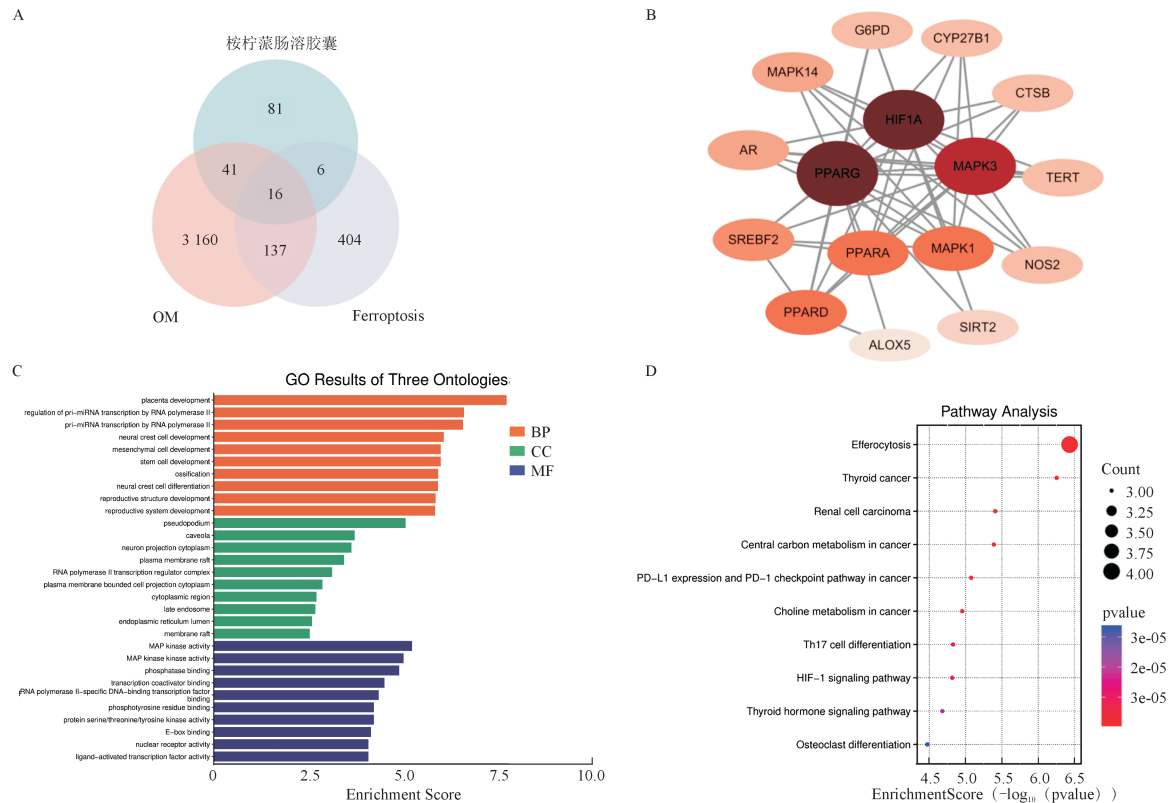


图 1 基于铁死亡调控基因的桉柠蒎肠溶胶囊治疗中耳炎作用靶点分析

Figure 1. Analysis of the therapeutic targets of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules based on ferroptosis regulatory genes in the treatment of otitis media

注：A. 桉柠蒎肠溶胶囊、中耳炎与铁死亡作用靶点的交集靶点韦恩图；B. 16 个交集靶点的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 图，颜色深浅代表基因排名，排名越靠前颜色越深；C. 前 5 位核心靶点的基因本体论富集分析；D. 前 5 位核心靶点的京都基因与基因组百科全书富集分析。OM, otitis media, 中耳炎；ferroptosis, 铁死亡；BP, biological process, 生物过程；CC, cellular component, 细胞组分；MF, molecular function, 分子功能。

2.2 分子对接结果

分子对接结果显示，桉油精、柠檬烯及α-蒎烯与PPARG、HIF1A、PPARA、MAPK1结合能均小于-5.0 kcal/mol，其中桉油精与PPARA、柠

檬烯与MAPK3、α-蒎烯与PPARG结合活性最强，见表2、图2。这提示桉柠蒎肠溶胶囊有效成分可能分别通过作用于上述核心靶点治疗OM。

表 1 桉柠蒎肠溶胶囊调控铁死亡治疗中耳炎的前 5 位核心靶点
Table 1. The top 5 core targets of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules in regulating ferroptosis for the treatment of otitis media

靶点	Degree 值	中介中心性	接近中心性
PPARG	15	64.73	1.00
HIF1A	13	34.07	0.88
MAPK3	12	22.07	0.83
PPARA	7	3.33	0.65
MAPK1	7	3.38	0.65

表 2 桉柠蒎肠溶胶囊与核心靶点分子对接结合能 (kcal/mol)
Table 2. Binding energy of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules to core target molecules (kcal/mol)

药物核心成分	核心靶点				
	HIF1A	MAPK1	PPARA	MAPK3	PPARG
桉油精	-5.3	-5.4	-6.0	-5.2	-5.8
柠檬烯	-5.2	-5.7	-5.4	-6.2	-5.9
α-蒎烯	-5.6	-5.6	-5.6	-4.9	-5.8

注：HIF1A (PDB ID: 1H2K)；MAPK1 (PDB ID: 1PME)；PPARA (PDB ID: 1I7G)；MAPK3 (PDB ID: 7NRB)；PPARG (PDB ID: 2Q59)；PDB ID, Protein Data Bank identifier, 是蛋白质数据库中的唯一标识符，用于区分不同的蛋白质结构数据。

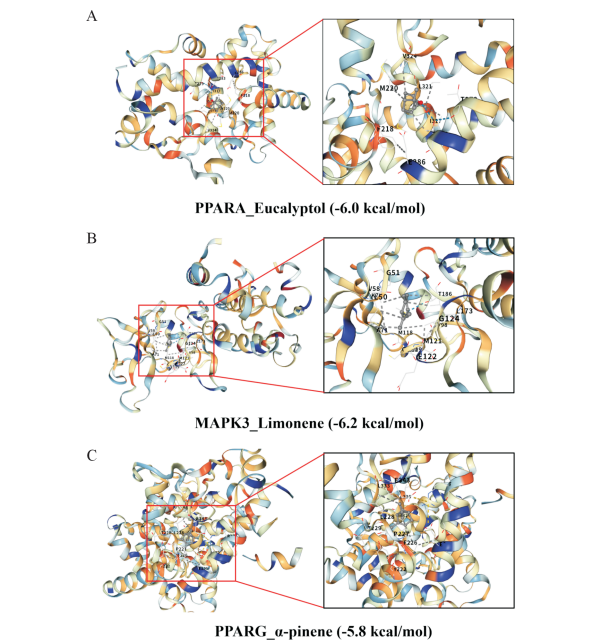


图2 分子对接的3D对接示意图
Figure 2. 3D docking schematic diagram of molecular docking

注：A. 桉油精 (eucalyptol) -PPARA；B. 柠檬烯 (limonene) -MAPK3；C. α-蒎烯 (α-pinene) -PPARG。

2.3 分子动力学模拟结果

为进一步验证分子对接结果的可靠性，采用分子动力学模拟方法对桉油精-PPARA、柠檬烯

-MAPK3 及 α-蒎烯-PPARG 三种复合物进行 100 ns 的动力学模拟，从结构稳定性、残基柔性及结合能等维度进行系统评估。

2.3.1 均方根偏差

如图3-A所示，桉油精与PPARA蛋白骨架的RMSD值稳定在1.6~2.8 Å区间，曲线走势高度重合，体现其结合的紧密性与结构稳定性。柠檬烯与MAPK3蛋白骨架的RMSD值维持在1.5~3.5 Å，波动幅度较小，说明柠檬烯与MAPK3的结合模式在模拟过程中未发生显著构象重构。α-蒎烯与PPARG蛋白骨架的RMSD值稳定在1.5~4.0 Å，虽存在小幅波动，但整体仍处于稳定区间，表明α-蒎烯与PPARG的结合具有良好的动力学稳定性。三种复合物体系的RMSD曲线均在模拟50 ns后趋于平稳，未出现剧烈波动或持续漂移，表明各配体-靶蛋白复合物在模拟过程中逐渐达到热力学平衡状态，分子对接初始构象具有合理性。

2.3.2 均方根波动

如图3-B所示，RMSF曲线反映了蛋白各残基的运动柔性，桉油精-PPARA复合物体系中大部分残基RMSF值低于3 Å，仅在N端与C末端区域出现局部峰值，核心结合区域残基运动受

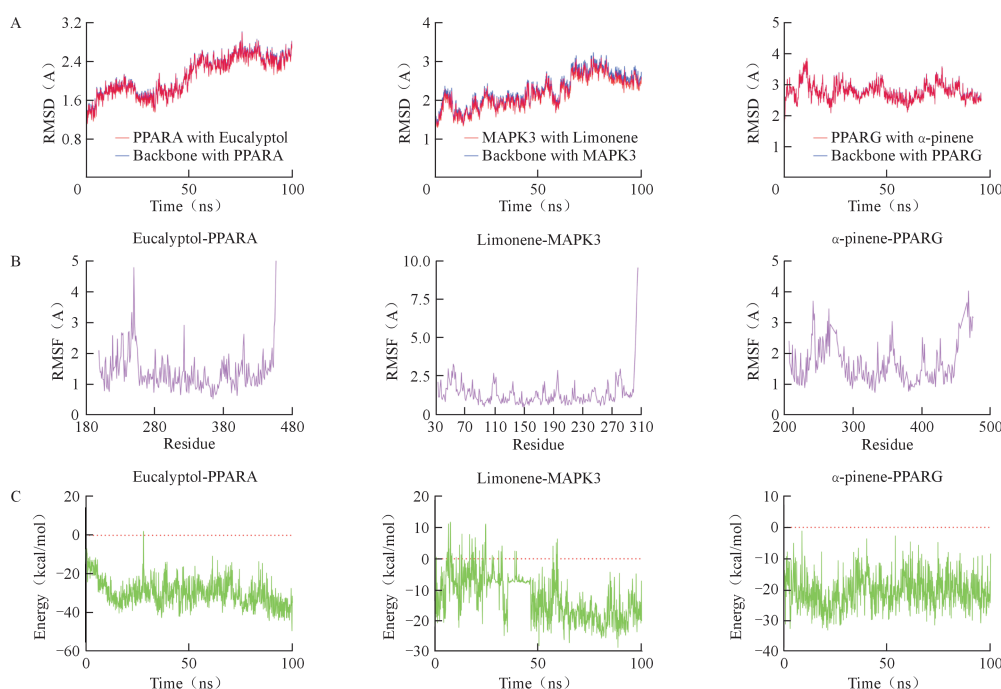


图3 桉柠蒎肠溶胶囊与核心靶点蛋白的分子动力学模拟结果

Figure 3. Molecular dynamics simulation results of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules and the core target protein

注: A. 桉油精 (eucalyptol)、柠檬烯 (limonene) 及 α -蒎烯 (α -pinene) 与核心靶点蛋白 100 ns 的均方根偏差 (RMSD) 变化曲线; B. 均方根波动 (RMSF) 变化曲线; C. 结合能变化。

限, 与分子对接预测的紧密结合模式一致。柠檬烯-MAPK3 复合物体系残基 RMSF 值整体维持在 $0 \sim 5 \text{ \AA}$, 仅在 300 位附近存在柔性热点, 其余区域残基运动稳定, 验证了对接构象中配体与功能区域的稳定结合。 α -蒎烯-PPARG 复合物体系中核心结合区域残基 RMSF 值多低于 $3 \text{ \AA}$, 仅在末端区域出现局部升高, 表明配体结合后有效限制了蛋白核心功能区域的构象波动, 与对接结果相互印证。这进一步佐证了结合位点的结构刚性。

2.3.3 结合能

如图 3-C 所示, 结合能分析从能量层面验证了分子对接结果的可靠性, 三种复合物的结合能均以负值为主, 说明配体与靶蛋白的结合为自发放热过程, 体系能量稳定, 与分子对接预测的结合亲和力趋势一致。其中, 桉油精-PPARA、 α -蒎烯-PPARG 复合物体系结合能稳定在 $-40 \sim 0 \text{ kcal/mol}$, 波动幅度较小, 体现了较强且持续的结合亲和力; 柠檬烯-MAPK3 复合物体系结合能在 $-30 \sim 10 \text{ kcal/mol}$ 区间波动, 虽存在瞬时弱结合状态, 但整体仍以稳定结合为主, 进一步支持了分子对接结果的合理性。

3 讨论

本研究通过网络药理学、分子对接技术及分子动力学模拟方法对桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 的分子机制进行系统分析。结果显示, 桉柠蒎肠溶胶囊调控铁死亡治疗 OM 的靶点共 16 个, 其中 PPARG、HIF1A、MAPK3、PPARA 及 MAPK1 为核心靶点。研究发现, 在噪声性听力损失模型中, PPARA 和 PPARG 表达水平在耳蜗内逐渐降低, 同时伴随氧化应激和炎症标志物的增加^[15]。此外, PPARG 通过调控脂肪酸代谢和脂质过氧化, 在铁死亡中发挥关键作用。研究表明, PPARG 能够促进铁死亡相关基因 (如 *SLC7A11* 和 *GPX4*) 的表达, 从而增强细胞对铁死亡的敏感性^[16]。PPARA 主要参与脂肪酸氧化和能量代谢的调控, 可通过调节脂质代谢间接影响铁死亡^[17]。PPARA 和 PPARG 在铁死亡中可能通过不同机制发挥作用, 而它们在 OM 中的作用尚不明确, 需要进一步研究以明确其具体机制和潜在治疗意义。有研究发现, 从内耳微环境角度来看, 耳蜗中的多种应激因素 (如噪声、衰老、炎症) 可诱导局部缺氧状态, 从而上调 HIF-1 α 的表达,

这为理解 HIF-1 α 在耳部疾病中的作用提供了重要线索^[18-20]。MAPK3 和 MAPK1 是细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) /丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路中的关键成员, 它们在同一个通路中协同作用, 共同调控细胞的多种生物学功能^[21]。在顺铂诱导的耳蜗细胞损伤中, 抑制 MAPK 通路可减轻铁死亡和炎症反应^[22]。ERK1/2 激活可能通过调控铁死亡相关机制影响 OM 等疾病进程。分子对接结果显示, 桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯分别与多个铁死亡核心靶点的结合能均小于 -5.0 kcal/mol, 提示铁死亡参与桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 的分子机制。为进一步探究桉柠蒎肠溶胶囊调控铁死亡治疗 OM 的作用靶点, 对结合能最佳的成分和关键靶点进行分子动力学模拟, 结果显示, 柠檬烯与 MAPK3、 α -蒎烯与 PPARG 形成的复合物在 100 ns 模拟中均达热力学平衡, RMSD 曲线平稳, 提示分子对接初始构象可靠, 配体-靶蛋白结合模式稳定。RMSF 分析表明, 核心结合区域残基柔性显著低于末端, 提示配体结合可维持结合口袋结构刚性, 为活性成分发挥提供了结构基础。结合能均为负值, 提示结合为自发放热过程, 其中桉油精与 PPARG、 α -蒎烯与 PPARG 结合亲和力更强、更持久, 柠檬烯与 MAPK3 整体结合稳定。这些结果进一步验证了分子对接的可靠性, 5 个核心靶点通过协同或独立调控铁死亡通路, 共同参与桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 的病理机制。

GO 功能和 KEGG 通路富集分析结果显示, 桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 的 BP 主要涉及细胞分化、MAP 激酶活性、磷酸酶结合、转录共激活因子结合等, 其调控铁死亡关键通路包括胞葬作用、PD-L1/PD-1、HIF-1、癌症的中心碳代谢等信号通路。OM 的细胞分化主要涉及免疫细胞的异常活化和分化, 特别是 CD4⁺T 细胞向 Th2 细胞的分化。这种分化失衡通过促进促炎细胞因子释放和炎症介质激活, 导致中耳炎症的持续和慢性化^[23]。桉柠蒎肠溶胶囊可能通过调节 T 细胞的分化和 Th2 细胞的过度分化, 减少炎症介质释放和浸润, 从而改善中耳的免疫环境和炎症损伤^[9, 24]。胞葬作用通过促进炎症消退和组织修复维持稳态^[25-26]。若耳蜗或听觉神经细胞凋亡后清除不足, 可能加剧继发性坏死和炎症级联反应, 这有

待进一步研究证实。研究表明, PD-1/PD-L1 通路相关亚型与铁死亡状态相关, 铁死亡通过氧化应激和脂质过氧化机制参与耳蜗细胞损伤进程^[27-28]。OM 常伴随局部炎症和缺氧, 而缺氧可激活 HIF-1 信号通路, 上调 *SLC7A11* 和 *GPX4* 的表达, 增强细胞抗氧化能力, 从而抑制铁死亡^[29]。渗出性中耳炎患者存在 Th17/调节性 T 细胞比例失衡, 白细胞介素-17A (interleukin-17A, IL-17A) 通过抑制 GSH-GPX4 抗氧化系统, 激活脂质过氧化反应, 促进铁死亡, 加剧中耳黏膜炎症^[30]。中心碳代谢产生的代谢物如还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 通过调节 GPX4 活性和铁稳态影响铁死亡^[31-32]。桉柠蒎肠溶胶囊以铁死亡调控为核心, 通过 GO 功能层面的免疫细胞分化调节、KEGG 通路层面的胞葬作用、PD-L1/PD-1、HIF-1 信号通路与中心碳代谢调控, 多维度干预炎症反应、氧化应激及组织损伤过程, 从而发挥治疗 OM 的作用, 为桉柠蒎肠溶胶囊治疗 OM 的作用靶点及分子机制提供了重要理论依据。

综上, 桉柠蒎肠溶胶囊中的桉油精、柠檬烯和 α -蒎烯通过结合 PPARG、MAPK3 和 PPARG 等核心靶点, 调控胞葬作用、PD-L1/PD-1、HIF-1 与中心碳代谢信号通路来治疗 OM。分子动力学模拟从结构与能量层面证实了桉柠蒎肠溶胶囊中活性成分与对应靶蛋白可形成稳定复合物, 为该作用机制的合理性提供了动力学支撑, 为后续机制研究奠定了基础。本研究受限于当前研究设计与技术手段, 未开展细胞及动物实验。因此, 核心靶点及其介导通路的生物学功能仅为生物信息学预测结果, 缺乏实验数据支撑, 后续将在现有预测结果的基础上, 开展体内外实验加以验证。

参考文献

- 1 谷淑静, 张冰. 柴芩清窍汤联合桉柠蒎肠溶胶囊治疗急性分泌性中耳炎临床观察[J]. 实用中医药杂志, 2024, 40(11): 2264-2266. [Gu SJ, Zhang B. Clinical observation on Chaiqin Qingqiao Decoction combined with eucalyptus, limonene and pinene enteric-coated capsules in the treatment of acute otitis media with effusion[J]. Journal of Practical Traditional Chinese Medicine, 2024, 40(11): 2264-2266.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/CiBQZXJpb2RpY2FsQ0hJU29scjkyMDI2MDcyNzAzMTgxMhIQc3I6eXl6ejlwMjQxMTA2OBoINXVmOWIpb3c%3D>.

- 2 Bruchhage KL, Lupatsii M, Möllenkolk F, et al. Hearing rehabilitation and microbial shift after middle ear surgery with vibrant soundbridge in patients with chronic otitis media[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2023, 280(7): 3107–3118. DOI: [10.1007/s00405-022-07795-9](https://doi.org/10.1007/s00405-022-07795-9).
- 3 Zeybek Sivas Z, Yıldırım N. The possible role of biofilm formation in recidivism of cholesteatomatous and noncholesteatomatous chronic suppurative otitis media[J]. *Otol Neurotol*, 2025, 46(3): e74–e80. DOI: [10.1097/mao.0000000000004424](https://doi.org/10.1097/mao.0000000000004424).
- 4 Taha AB. Bacteriological profile, antibiotic susceptibility, and biofilm formation in children with chronic suppurative otitis media[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2025, 188: 112208. DOI: [10.1016/j.ijporl.2024.112208](https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2024.112208).
- 5 Yuan C, Ma T, Liu M, et al. Ferroptosis, oxidative stress and hearing loss: mechanistic insights and therapeutic opportunities[J]. *Heliyon*, 2024, 10(20): e38553. DOI: [10.1016/j.heliyon.2024.e38553](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e38553).
- 6 Jia H, Fan H, Liang J, et al. Caffeine improves hypoxia/reoxygenation induced neuronal cell injury through inhibiting cellular ferroptosis: an in vitro study[J]. *Neurol Res*, 2025, 47(4): 242–250. DOI: [10.1080/01616412.2025.2470714](https://doi.org/10.1080/01616412.2025.2470714).
- 7 Lee J, Hong SM, Choi YS, et al. Narrative review of free radicals and reactive oxygen species in otitis media[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 14(1):3. DOI: [10.3390/antiox14010003](https://doi.org/10.3390/antiox14010003).
- 8 Yan B, Xie D, Wu Y, et al. Ferroptosis is involved in PGPS-induced otitis media in C57BL/6 mice[J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 217–218. DOI: [10.1038/s41420-022-01025-1](https://doi.org/10.1038/s41420-022-01025-1).
- 9 黄惠玲, 杨凌鹏, 朱友莲, 等. 糖皮质激素联合桉柠蒎肠溶软胶囊治疗分泌性中耳炎的临床效果[J]. *中国当代医药*, 2024, 31(10): 31–34. [Huang HL, Yang LP, Zhu YL, et al. Clinical effect of glucocorticoid combined with eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules in the treatment of secretory otitis media[J]. *China Modern Medicine*, 2024, 31(10): 31–34.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-4721.2024.10.008](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-4721.2024.10.008).
- 10 田婷, 陶春平, 於容铸. 桉柠蒎肠溶软胶囊治疗分泌性中耳炎的效果[J]. *系统医学*, 2024, 9(15): 145–147, 155. [Tian T, Tao CP, Yu RZ. Effectiveness of eucalyptol-pinene enteric capsule in the treatment of secretory otitis media[J]. *Systems Medicine*, 2024, 9(15): 145–147.] DOI: [10.19368/j.cnki.2096-1782.2024.15.145](https://doi.org/10.19368/j.cnki.2096-1782.2024.15.145).
- 11 Li X, Li X, Wang L, et al. Advancing traditional Chinese medicine research through network pharmacology: strategies for target identification, mechanism elucidation and innovative therapeutic applications[J]. *Am J Chin Med*, 2025, 53(7): 2021–2042. DOI: [10.1142/s0192415x25500752](https://doi.org/10.1142/s0192415x25500752).
- 12 Cunningham M, Guardiani E, Kim HJ, et al. Otitis media[J]. *Future Microbiol*, 2012, 7(6): 733–753. DOI: [10.2217/fmb.12.38](https://doi.org/10.2217/fmb.12.38).
- 13 Zhang JY, Nie XK, Chen ZC, et al. Mechanism study on inhibition of EPHA2 expression impaired skin barrier function by gefitinib[J]. *Exp Dermatol*, 2025, 34(8): e70145. DOI: [10.1111/exd.70145](https://doi.org/10.1111/exd.70145).
- 14 赵多明, 李建花, 王晓怀, 等. 基于网络药理学联合分子对接技术探究陷胸和胃汤治疗胃癌的作用机制[J]. *西部中医药*, 2025, 38(9): 68–74. [Zhao DM, Li JH, Wang XH, et al. The mechanism of Xianxiong Hewei Tang in the treatment of gastric cancer based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. *Western Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2025, 38(9): 68–74.] DOI: [10.12174/j.issn.2096-9600.2025.09.13](https://doi.org/10.12174/j.issn.2096-9600.2025.09.13).
- 15 Paciello F, Pisani A, Rolesi R, et al. Noise-induced cochlear damage involves ppar down-regulation through the interplay between oxidative stress and inflammation[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(8): 1188. DOI: [10.3390/antiox10081188](https://doi.org/10.3390/antiox10081188).
- 16 Chen S, Zheng W, Wang Y, et al. Paeoniflorin attenuates cisplatin induced ototoxicity by inhibiting ferroptosis mediated by HMGB1/NRF2/GPX4 pathway[J]. *Food Chem Toxicol*, 2025, 202: 115550. DOI: [10.1016/j.fct.2025.115550](https://doi.org/10.1016/j.fct.2025.115550).
- 17 Lin Z, Liu J, Long F, et al. The lipid flippase SLC47A1 blocks metabolic vulnerability to ferroptosis[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 7965. DOI: [10.1038/s41467-022-35707-2](https://doi.org/10.1038/s41467-022-35707-2).
- 18 She W, Gao Z, Zhu W, et al. Up-regulation of HIF-1 α in refractory sudden sensorineural hearing loss[J]. *Acta Otorhinolaryngol Ital*, 2024, 44(5): 333–341. DOI: [10.14639/0392-100x-n3017](https://doi.org/10.14639/0392-100x-n3017).
- 19 Huang S, Zhao Y, Liu J. HIF-1 α enhances autophagy to alleviate apoptosis in marginal cells in the stria vascular in neonatal rats under hypoxia[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2022, 149: 106259. DOI: [10.1016/j.biocel.2022.106259](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2022.106259).
- 20 Liang S, Dong S, Liu W, et al. Accumulated ROS activates HIF-1 α -induced glycolysis and exerts a protective effect on sensory hair cells against noise-induced damage[J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 806650. DOI: [10.3389/fmolb.2021.806650](https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.806650).
- 21 李亚玲, 白彝华, 凡洋, 等. 铁死亡与炎症信号通路之间相互作用的研究进展[J]. *中国临床研究*, 2024, 37(12): 1928–1931. [Li YL, Bai YH, Fan Y, et al. Research progress on the interaction between ferroptosis and inflammatory signaling pathways[J]. *Chinese Journal of Clinical Research*, 2024, 37(12): 1928–1931.] DOI: [10.13429/j.cnki.cjcr.2024.12.022](https://doi.org/10.13429/j.cnki.cjcr.2024.12.022).
- 22 Liao J, Wu X, Zeng Q, et al. STM2457 decreases m6A methylation to reduce cisplatin-induced ototoxicity via MAPK signaling[J]. *Biochem Pharmacol*, 2025, 235: 116820. DOI: [10.1016/j.bcp.2025.116820](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2025.116820).
- 23 梁越, 张莉, 亓晓宇, 等. 分泌性中耳炎患者外周血和耳积液 PAF、HMGB1 和 Th1/Th2 细胞失衡的相关性分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2025, 24(10): 1078–1082. [Liang Y, Zhang L, Qi XY, et al. Correlation analysis of PAF, HMGB1 and Th1/Th2 cell imbalance in peripheral blood and ear effusion of patients with secretory otitis media[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2025, 24(10): 1078–1082.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-4695.2025.10.019](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-4695.2025.10.019).
- 24 何碧瑶, 杨俊杰, 党龙姣, 等. 桉柠蒎肠溶软胶囊基于 AQP5-TLR4/MyD88/NF- κ B 通路缓解小鼠分泌性中耳炎研究[J]. *药物评价研究*, 2024, 47(8): 1820–1826. [He BY, Yang JJ, Dang LJ, et al. Eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules relieve otitis media with effusion in mice based on AQP5-TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *Drug Evaluation Research*, 2024, 47(8): 1820–1826.] DOI: [10.7501/j.issn.1674-6376.2024.08.015](https://doi.org/10.7501/j.issn.1674-6376.2024.08.015).
- 25 Zang H, Ji X, Yao W, et al. Role of efferocytosis in chronic pain — from molecular perspective[J]. *Neurobiol Dis*, 2025, 207: 106857. DOI: [10.1016/j.nbd.2025.106857](https://doi.org/10.1016/j.nbd.2025.106857).
- 26 Zhang YQ, Nie R, Feng ZY, et al. Efferocytosis in tissue engineering:

- a comprehensive review of emerging therapeutic strategies for enhanced tissue repair and regeneration[J]. *Bioact Mater*, 2025, 52: 155–181. DOI: [10.1016/j.bioactmat.2025.05.026](https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2025.05.026).
- 27 Zhang P, Yang J, Zhong X, et al. A novel PD-1/PD-L1 pathway-related seven-gene signature for the development and validation of the prognosis prediction model for breast cancer[J]. *Transl Cancer Res*, 2024, 13(3): 1554–1566. DOI: [10.21037/tcr-23-2270](https://doi.org/10.21037/tcr-23-2270).
- 28 Lv X, Yang C, Li X, et al. Ferroptosis and hearing loss: from molecular mechanisms to therapeutic interventions[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2025, 40(1): 2468853. DOI: [10.1080/14756366.2025.2468853](https://doi.org/10.1080/14756366.2025.2468853).
- 29 Liu XQ, Shi MZ, Bai YT, et al. Hypoxia and ferroptosis[J]. *Cell Signal*, 2024, 122: 111328. DOI: [10.1016/j.cellsig.2024.111328](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2024.111328).
- 30 Mohamed NM, Abdelhamid AM, Aref M, et al. Role of cytokines and Th17/Tregs imbalance in the pathogenesis of otitis media with effusion. Modulation of Notch1/Hes1/mTORC1/S6k1 signalling pathway underlies the protective effect of astaxanthin[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 128: 111521. DOI: [10.1016/j.intimp.2024.111521](https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.111521).
- 31 Ding Z, Li Z, Sun K, et al. Mitochondrial regulation of ferroptosis in cancer cells[J]. *Int J Biol Sci*, 2025, 21(5): 2179–2200. DOI: [10.7150/ijbs.105446](https://doi.org/10.7150/ijbs.105446).
- 32 Bhowmick S, Banerjee S, Shridhar V, et al. Reprogrammed immuno-metabolic environment of cancer: the driving force of ferroptosis resistance[J]. *Mol Cancer*, 2025, 24(1): 161. DOI: [10.1186/s12943-025-02337-3](https://doi.org/10.1186/s12943-025-02337-3).
- 收稿日期: 2025 年 12 月 09 日 修回日期: 2026 年 08 月 10 日
本文编辑: 张 苗 黄 笛

引用本文: 蔡来亮, 汤秋平. 基于网络药理学与分子动力学模拟探讨桉柠蒎肠溶胶囊调控铁死亡治疗中耳炎的分子机制[J]. 数理医药学杂志, 2026, 39(8): 589–597. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202512022](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202512022).
Cai LL, Tang QP. Exploring the molecular mechanism of eucalyptol, limonene and pinene enteric soft capsules in regulating ferroptosis for the treatment of otitis media based on network pharmacology and molecular dynamics simulation[J]. *Journal of Mathematical Medicine*, 2026, 39(8): 589–597. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202512022](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202512022).