

## 基于网络药理学和分子对接探讨大黄治疗脓毒症的作用机制

王清亮<sup>1</sup>, 钱义明<sup>2</sup>, 姚天文<sup>2</sup>

1. 上海市静安区中医医院, 上海 200072

2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437

**摘要:**目的 基于网络药理学及分子对接技术探究大黄治疗脓毒症的作用机制。方法 通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 获取大黄的有效活性成分及其作用靶点; 应用 Cytoscape 3.9.1 构建大黄-活性成分-靶点的网络图; 检索 GeneCards、OMIM、Drugbank、TTD 数据库, 得到脓毒症相关靶点; 通过建立维恩图获得中药与疾病交叉的关键靶点; 应用 STRING 平台构建关键靶点蛋白质相互作用 (PPI) 网络图; 使用 DAVID 数据库对关键靶点进行基因本体 (GO) 生物学富集分析及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。最后, 应用 PyMOL 软件和 AutoDock Vina 软件对大黄活性成分及其关键靶点进行分子对接验证。**结果** 获得大黄 10 种有效活性成分, 其中重要的成分包括  $\beta$ -谷甾醇、芦荟大黄素、泽兰黄醇素等; 药物靶点与疾病靶点交集后获得 34 个关键靶点, 核心靶点有肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-1B (IL-1 $\beta$ )、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、原癌基因 (MYC)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (CASP3)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、过氧化物酶体增殖物激活受体 G (PPARG)、转录因子 AP-1 (JUN)、雌激素受体 1 (ESR1)、半胱氨酸蛋白酶 8 (CASP8)。GO 富集分析表明大黄的关键靶点主要富集于 306 个生物过程、29 个细胞组成和 61 个分子功能; KEGG 通路富集分析确定了 111 条相关信号通路, 包括磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路、糖尿病并发症相关的晚期糖基化终末化产物 (AGE)-晚期糖基化终末产物受体 (RAGE) 信号通路等; 分子对接结果显示, 大黄的主要活性成分芦荟大黄素与关键蛋白 TNF、IL-1 $\beta$ 、TP53、MYC、CASP3 拥有良好的结合能力。**结论** 大黄通过多成分、多靶点和多通路治疗脓毒症。

**关键词:** 大黄; 脓毒症; 网络药理学; 分子对接; 作用机制; 芦荟大黄素; 肿瘤坏死因子

中图分类号: R914 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2023)06-1344-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.06.007

## Mechanism of *Rhei Radix et Rhizoma* in treatment of sepsis based on network pharmacology and molecular docking

WANG Qing-liang<sup>1</sup>, QIAN Yi-ming<sup>2</sup>, YAO Tian-wen<sup>2</sup>

1. Jing'an District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200072, China

2. Yueyang Hospital of Integrative Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

**Abstract: Objective** To explore the therapeutic effect and mechanism of *Rhei Radix et Rhizoma* on sepsis based on network pharmacology and molecular docking. **Methods** Active components and action targets of *Rhei Radix et Rhizoma* were obtained by using TCMSP database. The target network diagram "drug - component - target" of *Rhei Radix et Rhizoma* in treating sepsis was constructed by using Cytoscape 3.9.1. The sepsis disease targets were screened with GeneCards, OMIM, Drugbank, and TTD databases. The intersection gene targets were found by establishing Venn map of drug target genes and disease targets. The intersection genes were imported into STRING database to construct a protein-protein interaction (PPI) network. The genetic ontology (GO) biological process and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were carried out through DAVID database. Finally, molecular docking technology was used to verify the result between ingredients and targets. **Results** A total of 10 active components of *Rhei Radix et Rhizoma* were obtained by TCMSP, including  $\beta$ -sitosterol, aloe-emodin, and eupatin.

收稿日期: 2023-01-03

基金项目: 上海市青年科技英才扬帆计划 (21YF1448300); 上海市卫生健康委中医药传承和科技创新项目 (ZYCC2019005)

作者简介: 王清亮, 女, 主治医师, 硕士, 主要研究方向为中医内科学。E-mail: drwangyil0110@126.com

\*通信作者: 姚天文 E-mail: yaotianwendc@126.com

The number of targets that intersect with sepsis was 34. TNF, IL-1B, TP53, MYC, CASP3, PTGS2, PPARG, JUN, ESR1, CASP8 may be the key targets of rhubarb in treatment of sepsis. GO enrichment analysis showed that the key targets of *Rhei Radix et Rhizoma* were mainly enriched in 306 biological processes, 29 cell components and 61 molecular functions. KEGG pathway enrichment analysis identified 111 related signaling pathways, including PI3K-Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, and AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications. The results of molecular docking showed that aloe-emodin, the main active component of *Rhei Radix et Rhizoma*, had good binding ability with the key proteins TNF, IL-1 $\beta$ , TP53, MYC, and CASP3. **Conclusions** *Rhei Radix et Rhizoma* treats sepsis through multi-component, multi-target and multi-pathway treatment.

**Key words:** *Rhei Radix et Rhizoma*; sepsis; network pharmacology; molecular docking; mechanism; aloe-emodin; TNF

脓毒症是指感染引起的宿主反应失调所导致的致命性器官功能障碍<sup>[1]</sup>, 是一种全身炎症反应综合征, 易进展为脓毒症休克, 具有高发病率、高死亡率和高治疗费用等特点<sup>[2]</sup>。脓毒症不仅是临床常见的危急重症之一, 而且是急诊及重症监护病房(ICU)患者的主要死亡原因之一。据统计, 全球每年约有 3 150 万人患有脓毒症, 死亡人数高达 530 万<sup>[3]</sup>。我国脓症患者病死率为 35.5%, 严重脓症病死率高达 50%以上<sup>[4]</sup>。西医对脓毒症的治疗主要以液体复苏、抗感染、抗凝、糖皮质激素、肾脏替代等方法为主<sup>[5]</sup>, 但是存在反复感染、病原菌多药耐药性等诸多问题, 致使临床治疗难度增加<sup>[6]</sup>。

近年来, 中医药的干预逐渐成为脓毒症治疗中重要且有效的手段, 能显著降低脓毒症患者的死亡率。脓毒症证属中医学热病范畴, 《内经》提出“热者寒之”, 故在选用药物方面多以清热解毒药物为主<sup>[7]</sup>。大黄是清热解毒的代表药, 具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒等功效。现代药理学研究表明, 大黄通过抗炎、改善血管内皮功能、改善肾损伤、改善心肌损伤、调节胃肠道功能等作用在治疗脓毒症中发挥疗效<sup>[8-13]</sup>。但是, 大黄治疗脓毒症的相关物质基础和作用机制尚不明确。

网络药理学是一门基于系统生物学理论和生物系统网络分析设计药物的新兴学科, 同时也是一种分析复方或单药潜在作用机制的新技术<sup>[14]</sup>。近年来, 网络药理学已广泛应用于中医药领域的各项研究中, 旨在阐明药物的分子机制, 为预测单药或者复方提供一定的指导, 并且能够从宏观角度探讨药物与疾病的密切关系<sup>[15]</sup>。因此, 本研究采用网络药理学方法, 通过构建“药物-成分-靶点-疾病”之间复杂的网络, 初步探讨大黄治疗脓毒症的物质基础及作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 大黄活性成分的筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台

(TCMSP) 筛选大黄的活性成分。在 TCMSP 的搜索框中输入关键词“大黄”, 检索大黄的有效成分数据。由于口服生物利用度(OB)和药物相似性(DL)是药物参与人体吸收、分配、代谢和排泄过程的重要评价指标<sup>[16]</sup>。因此, 研究中以 OB 和 DL 为筛选条件。为了更全面地获得大黄的有效成分, 设定 OB $\geq$ 30%, DL $\geq$ 0.18 的条件进行活性成分的筛选。

### 1.2 大黄活性成分的作用靶点筛选

以“大黄”为关键词, 在 TCMSP 数据库中搜索“related targets”, 寻找大黄活性成分对应的靶蛋白。然后, 以人类(Homo sapiens)为选择物种, 通过 UniProt (<https://www.uniprot.org/>) 获得靶蛋白对应的靶基因名称。接着利用 Cytoscape 软件(版本 3.9.1) 构建大黄、活性成分、靶基因之间的网络图。

### 1.3 脓毒症相关靶基因筛选

以“脓毒症”为关键词, 分别输入到 GeneCards (<https://www.genecards.org>)、OMIM (<https://www.omim.org>)、DrugBank (<http://go.drugbank.com>) 和 TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>) 数据库检索与脓毒症相关的基因靶点。然后, 通过 Excel 软件进行疾病对应的相关目标基因的汇总分析, 并删除重复的基因, 构建脓毒症的靶点数据库。最后, 通过韦恩图网站成功获得中药与疾病交叉的关键靶点 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)。

### 1.4 构建蛋白相互作用(PPI)网络图

将大黄与脓毒症交叉的关键靶点输入到 STRING 数据库 (<http://string-db.org/>) 中的“multiple proteins”模块, 并设置交互作用最小值为 0.4, 将物种设置为人类(Homo sapiens), 检索目标基因的 PPI 网络, 将 PPI 网络导入 Cytoscape 软件(版本 3.9.1), 用 cytoHubba 模块分析, 构建关键靶点的 PPI 网络。

### 1.5 基因功能与通路富集分析

将大黄与脓毒症交叉的关键靶点输入到 DAVID 数据库 (<http://david.ncicrf.gov/>), 将物种设

置为人类 (Homo sapiens), 进行关键靶点的基因本体 (GO) 生物学富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。其中, GO 生物学富集分析由生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF) 组成。以  $P < 0.05$  为筛选标准, 按照富集基因数从大到小排序, 分别纳入 GO 分析中排名前 10 位和 KEGG 通路分析中排名前 20 位的项目开展进一步分析。

### 1.6 活性成分与关键靶点的分子对接

选择 PPI 网络图中 degree 值排名前 5 位的靶点作为受体, 并选择相应的活性成分作为配体进行分子对接的相关验证。首先, 利用 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 获得活性成分的二维结构图, 然后通过 Chem3D 软件 (版本 14.0) 转化为三维结构图。接着, 从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中获取目标蛋白对应的晶体形态, 并导入 PyMOL 软件 (版本 2.5) 中去除水分子。然后, 用 AutoDockTools 软件 (版本 1.5.7) 处理活性成分和靶点蛋白, 并以 pdbqt 格式分别作为配体和受体保存。最后, 利用 PyMOL 软件和 AutoDock Vina 软件 (版本 1.1.2) 进行分子对接工作, 并对结果进行分析。

## 2 结果

### 2.1 获取大黄活性成分

在 TCMSP 数据库中以“大黄”为关键词进行搜索, 初步获得大黄化学成分为 92 种。以  $OB \geq 30\%$  和  $DL \geq 0.18$  为筛选条件, 并剔除了没有相应目标蛋白的成分, 共得到满足条件的 10 种潜在活性成分, 分别是泽兰黄醇 (eupatin)、大黄素二葡萄糖苷 (physcion diglucoside)、大黄酸 (rhein)、决明酮-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 [torachryson-8-*O*- $\beta$ -D-(6'-oxayl)-glucoside]、决明内酯 (toralactone)、大黄素-1-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (emodin-1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside)、胡萝卜苷 (daucosterol\_qt)、 $\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol)、芦荟大黄素 (aloe-emodin)、(-)-儿茶素 [(-)-catechin], 见表 1。

### 2.2 获取大黄活性成分的靶点及构建药物 - 成分 - 靶点网络图

将大黄 10 个有效化学成分输入 TCMSP 平台, 得到 110 个相应成分作用的蛋白靶点, 合并后删除重复项, 最终获得 61 个蛋白靶点。通过 Uniprot 蛋白质数据库将大黄有效成分的蛋白靶点转换成对应的基因, 并将活性成分和对应的基因导入 Cytoscape

表 1 大黄的潜在有效活性成分

Table 1 Potential active ingredients of *Rhei Radix et Rhizoma*

Mol ID	活性成分	OB/%	DL
MOL002235	eupatin	50.80	0.41
MOL002259	physciondiglucoside	41.65	0.63
MOL002268	rhein	47.07	0.28
MOL002280	torachryson-8- <i>O</i> - $\beta$ -D-(6'-oxayl)-glucoside	43.02	0.74
MOL002281	toralactone	46.46	0.24
MOL002288	emodin-1- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	44.81	0.80
MOL002297	daucosterol_qt	35.89	0.70
MOL000358	$\beta$ -sitosterol	36.91	0.75
MOL000471	aloe-emodin	83.38	0.24
MOL000096	(-)-catechin	49.68	0.24

3.9.1 软件, 构建大黄 - 活性成分 - 靶点网络图。如图 1 所示, 大黄活性成分与靶点之间由 69 个节点 (1 个中药节点、7 个活性成分节点和 61 个对应靶点节点) 和 94 条边组成。degree 值排名前 3 位的化合物分别是  $\beta$ -谷甾醇、芦荟大黄素和泽兰黄醇素。

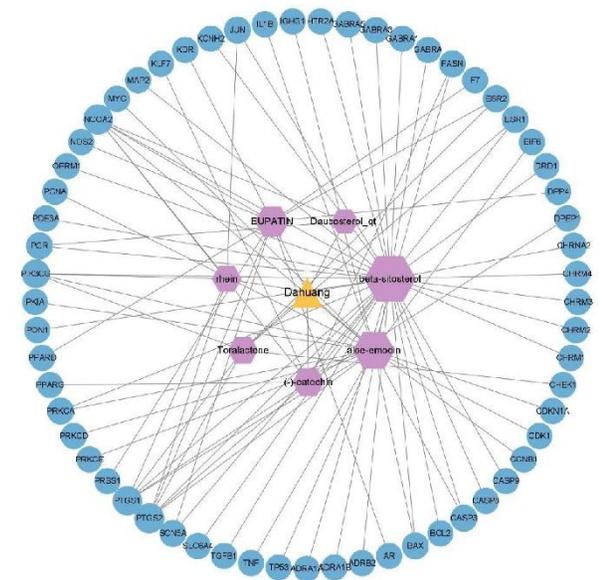


图 1 大黄 - 活性成分 - 靶点网络图

Fig. 1 *Rhei Radix et Rhizoma* - active ingredients - target network diagram

### 2.3 脓毒症相关的靶基因

利用 GeneCards、OMIM、DrugBank 和 TTD 数据库筛选与脓毒症相关的靶基因, 并删除重复项目, 共获得 2 806 个靶基因。将 2 806 个疾病靶点与大黄活性成分的 61 个作用靶点取交集后获得 34 个关键靶点, 见图 2。

### 2.4 大黄与脓毒症靶点 PPI 网络图

在 STRING 数据库的“multiple proteins”模块

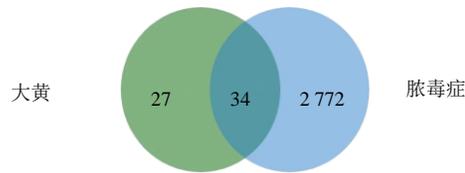


图 2 大黄与脓毒症相交的关键靶点韦恩图

Fig. 2 Venn Diagram of key targets intersecting *Rhei Radix et Rhizoma* with sepsis

中输入 34 个关键靶点, 并获得 PPI 网络图。如图 3A 所示, 去掉游离节点后, PPI 网络图共有 30 个节点, 168 条边。如图 3B 所示, 使用 cytoHubba 模块分析, 将关键靶点按 degree 值大小进行排序, 选择排名前 10 位的靶点作为研究目标, 它们分别为肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、原癌基因 (MYC)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (CASP3)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPARG)、转录因子 AP-1 (JUN)、雌激素受体 1 (ESR1)、半胱氨酸蛋白酶 8 (CASP8)。网络图中节点 degree 值越高, 颜色越深; 相反, degree 值越低, 颜色越浅。

## 2.5 GO 生物学富集分析

将关键靶点输入 DAVID 数据库中进行 GO 富集分析, 结果表明大黄的关键靶点主要富集于 306 个生物过程 (BP)、29 个细胞组成 (CC) 和 61 个分子功能 (MF)。以  $P < 0.05$  为筛选标准, 根据关键靶点的数量, 分别列出了 GO 分析中排名前 10 的 BP、CC、MF 过程, 见图 4。BP 包括药物反应、细胞因子介导的信号通路、RNA 聚合酶 II 启动子对转录的正向调控、对外来刺激的反应、凋亡过程的正调控、凋亡过程、DNA 模板化转录正调控、雌二醇反应、脂多糖反应、基因表达负调控。CC 包括细胞核、胞质溶胶、质膜、细胞质、核浆、线粒体、大分子复合物、内质网、胞外区、细胞膜。MF 包括蛋白质结合、相同蛋白质结合、金属离子结合、酶结合、大分子复合物结合、蛋白质同源二聚化活性、转录因子结合、转录因子活性和序列特异性 DNA 结合、蛋白酶结合、泛素蛋白连接酶结合。

## 2.6 KEGG 代谢通路富集分析

在 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析, 共富集得到 111 条信号通路。以  $P < 0.05$  为筛选标准, 根据关键靶点的数量, 选取富集结果排名前 20 的信号通路并作可视化展示。气泡越大, 颜色越深,

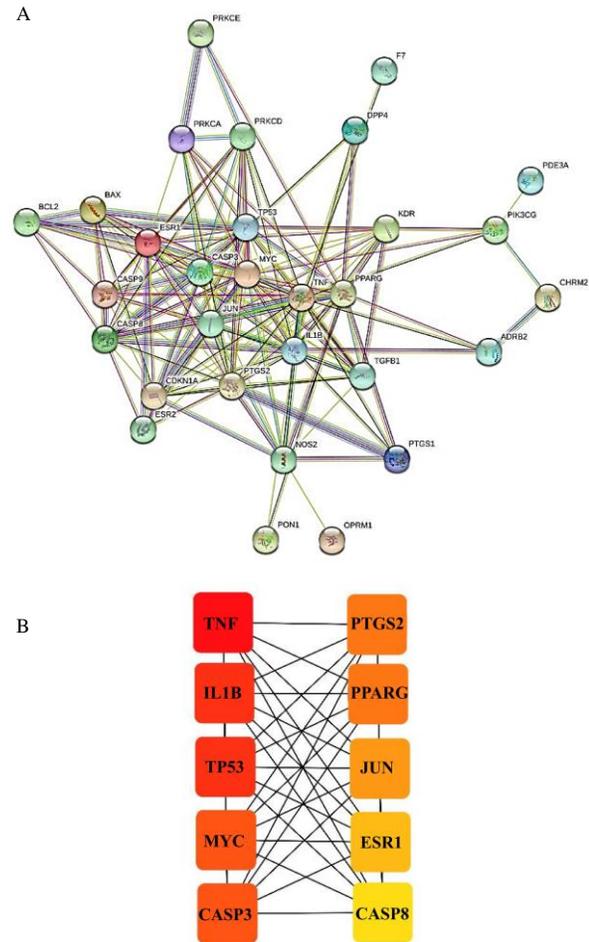


图 3 大黄与脓毒症交集靶点的 PPI 网络图 (A) 和核心靶点图 (B)

Fig. 3 PPI network diagram (A) and core target diagram (B) of the intersection target of rhubarb and sepsis

说明该信号通路富集关键靶点的数量越多, 显著程度越大。排名前 20 位的信号通路主要涉及癌症的作用通路、乙型肝炎通路、脂质和动脉粥样硬化通路、人类巨细胞病毒感染通路、神经退行性变多种疾病的通路、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染通路、EB 病毒感染通路、糖尿病并发症相关的晚期糖基化终末化产物 (AGE)-晚期糖基化终末产物受体 (RAGE) 信号通路、肺结核通路、小细胞肺癌相关通路、沙门氏菌感染通路、癌症相关蛋白聚糖通路、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路、大肠癌相关通路、志贺氏菌病通路、癌症相关微小 RNA 通路、甲型流感通路、I 型单纯疱疹病毒感染通路以及 I 型人类免疫缺陷病毒感染通路, 见图 5。

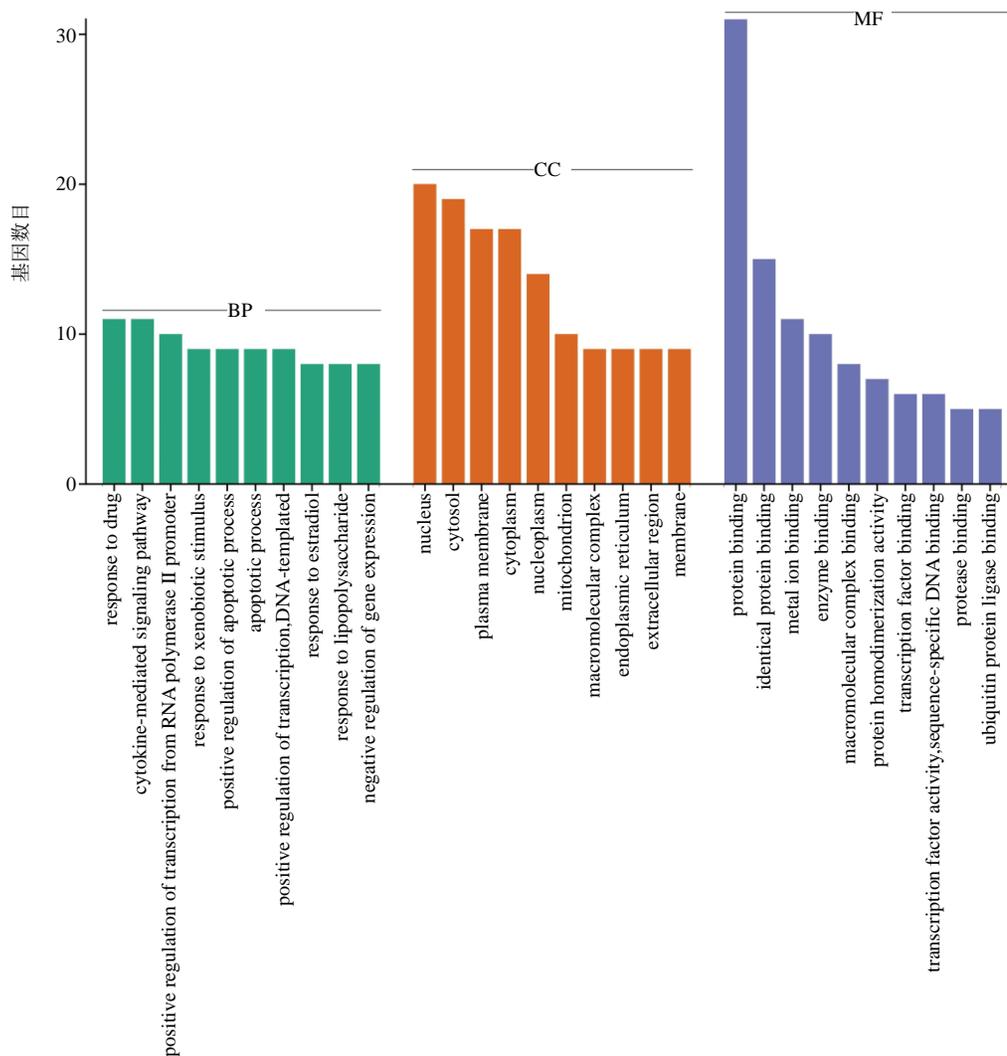


图 4 关键靶点的 GO 生物学富集分析

Fig. 4 GO biological enrichment analysis of key targets

2.7 大黄主要活性成分与关键靶点的分子对接

由于 TNF、IL-1β、TP53、MYC、CASP3 在 PPI 网络中具有最高的 degree 值，因此选择它们作为分子对接的蛋白受体。芦荟大黄素是大黄的主要活性成分，如表 2 所示，TNF、IL-1β、TP53、MYC、CASP3 与芦荟大黄素的结合能量值分别为-5.0、-6.1、-5.7、-6.7、-7.0 kcal/mol (1 cal=4.4J)，说明大黄的主要活性成分与靶蛋白之间具有较强的结合活性。进一步分析分子对接的结果，可以发现芦荟大黄素与 CASP3 结合能量最低，说明两者具有最好的亲和力。

进一步研究发现，TNF 中的氨基酸残基 LEU-44 和 PHE-48 通过氢键与芦荟大黄素紧密结合；IL-1β 通过氨基酸残基 SER-114 与芦荟大黄素形成氢键结合位点；TP53 还通过 2 个氨基酸残基 (LEU-

111 和 ASP-268) 与芦荟大黄素形成多个氢键结合位点；此外，MYC 通过 2 个氨基酸残基 (SER-952 和 GLU-930) 与芦荟大黄素形成多个结合位点；CASP3 通过 3 个氨基酸残基 (LEU-136、ILE-265 和 SER-198) 与芦荟大黄素形成多个结合位点，见图 6。

3 讨论

脓毒症是全球医疗保健最重要的死亡原因之一，因此丰富脓毒症的治疗手段以及提高脓毒症的治疗效果备受临床医生的关注。随着中医药研究的不断发展和深入，中药单味药治疗脓毒症同样具有一定的优势。《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南 (2014)》中医药部分筛选出分别针对脓毒症腑实证、血瘀证及急性虚证治疗的单味药，并进行系统的介绍<sup>[17]</sup>。其中，中药大黄被建议应用于脓毒症腑实证的治疗中。本研究通过网络药理学的研究方

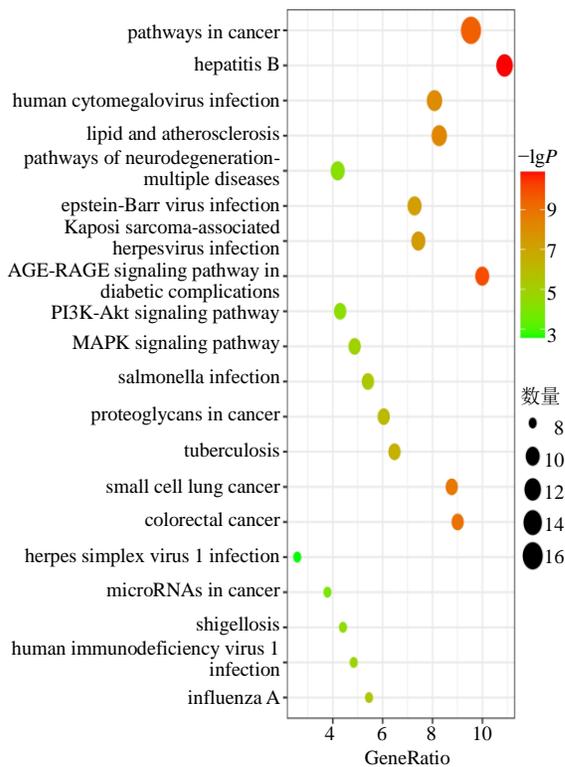


图 5 关键靶点的 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis of key targets

表 2 大黄主要活性成分与靶蛋白的分子对接

Table 2 Molecular docking of main active components of Rhubarb with target proteins

活性成分	靶蛋白	结合能量/(kcal·mol <sup>-1</sup> )
芦荟大黄素	TNF	-5.0
	IL-1 $\beta$	-6.1
	TP53	-5.7
	MYC	-6.7
	CASP3	-7.0

法, 构建“大黄-活性成分-靶点-通路”网络, 探讨大黄治疗脓毒症的物质基础及作用机制。

本研究以  $OB \geq 30\%$  和  $DL \geq 0.18$  作为筛选条件, 从 TCMSMP 数据库中筛选出大黄 10 种有效活性成分。从“活性成分-靶点”网络图中可以看出  $\beta$ -谷甾醇、芦荟大黄素、泽兰黄酮素等活性成分是网络中的重要节点, 它们通过 34 个关键基因更直观地展示了大黄与脓毒症之间的特异性关系。脓毒症的发病机制较为复杂, 涉及全身炎症网络、免疫功能紊乱、凝血功能紊乱、肠道细菌/内毒素移位及基因多态性等<sup>[18]</sup>。 $\beta$ -谷甾醇是一种植物甾醇, 具有多种有益的生理活性, 包括抗炎、抗氧化、抗真菌活

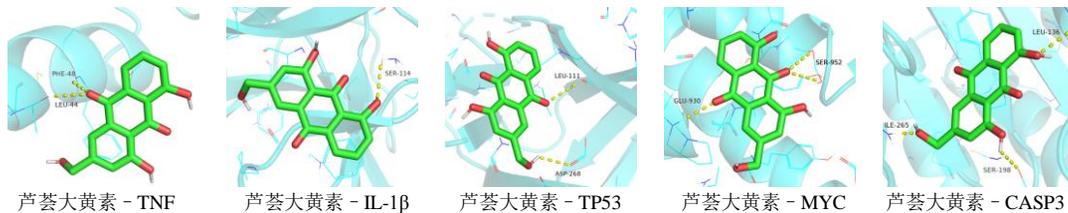


图 6 芦荟大黄素与关键靶点的分子对接

Fig. 6 Molecular docking of aloe emodin with key targets

性、抗高胆固醇血症、抗糖尿病活性、免疫调节的作用<sup>[19]</sup>。已有研究表明,  $\beta$ -谷甾醇通过调节 NF- $\kappa$ B 信号传导可以有效改善盲肠结扎和穿孔诱导的脓毒症模型大鼠的炎症反应和肝功能损伤, 被视为脓毒症患者的补充治疗<sup>[20]</sup>。芦荟大黄素具有显著的抗炎、抗病毒、抗寄生虫、抗癌、神经保护和保肝等药理作用<sup>[21]</sup>。研究发现, 芦荟大黄素介导的光动力疗法可以有效减少细菌生物膜形成、抑制促炎细胞因子、降低溶血活性和改善脓毒症的毒素表达, 并以剂量相关性的方式降低细菌存活率<sup>[22]</sup>。泽兰黄酮素是从蒿属植物中发现的多甲氧基类黄酮物质, 同样具有一定的抗炎和神经保护的作用<sup>[23]</sup>。因此, 推测这些活性成分可能是大黄治疗脓毒症的重要物质基础。

PPI 网络图显示 TNF、IL-1 $\beta$ 、TP53、MYC、CASP3、PTGS2、PPARG、JUN、ESR1、CASP8 是 degree 值最高的前 10 个靶点, 它们受到大黄的多种活性成分调控, 在网络图中发挥关键作用。TNF 主要由单核巨噬细胞产生, 通过杀死肿瘤细胞来防止机体伤害。同时, 它也是一种重要的细胞因子, 具有广泛的生物学效应, 除了参与细胞增殖、分化、侵袭、转移、凋亡的同时, 还参与机体免疫应答和炎症反应<sup>[24]</sup>。IL-1 $\beta$  是细胞因子中炎症反应的促进剂, 可以有效促进炎症细胞的聚集、活化和炎症介质的释放。TP53、MYC、CASP3 通过参与细胞周期调控, 从而诱导细胞凋亡。PTGS2 是前列腺素内过氧化物合酶的一种同工酶, 主要负责参与炎症和有丝分裂的前列腺素生物合成。PPARG 参与基因编码

PPAR- $\gamma$ , PPAR- $\gamma$  是人肠道上皮抗炎反应的关键分子, 可通过间接激活 NF- $\kappa$ B 相关信号通路影响促炎细胞因子的产生<sup>[25]</sup>。CASP8 基因敲除小鼠会发生明显的回肠炎症, 表现为促炎分子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  的表达增强, 并增加结肠炎的易感性<sup>[26]</sup>。

GO 分析可以对基因产物进行有意义的注释。其中, BP 富集显示蛋白质在生物通路中的耦合作用和转运方式, CC 分析结果证实了关键蛋白参与了细胞环境。通过 MF 分析, 可以证明某些蛋白质受体的活性受到药物的调控。本研究中 GO 富集分析共得到 396 个条目, 结果显示, 大黄治疗脓毒症主要涉及药物反应、细胞因子介导的信号通路、RNA 聚合酶 II 启动子对转录的正向调控、对外来刺激的反应、凋亡过程的正调控等生物过程。KEGG 富集分析将基因组与细胞、物种相结合, 找出大黄治疗脓毒症的潜在信号通路。本研究中 KEGG 通路富集分析共得到 111 个条目, 结果显示, 大黄可能通过 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、糖尿病并发症相关的 AGE-RAGE 信号通路发挥对脓毒症的治疗作用。PI3K-Akt 信号通路参与脓毒症的炎症反应, 介导 NLRP3 炎性小体表达增加, 进而诱导其下游炎症因子释放增加从而加重脓毒症进展<sup>[27]</sup>。有研究表明, 可通过抑制 PI3K-Akt 的活性, 减少下游炎症细胞因子 NLRP3、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达, 进而改善肺组织细胞炎症<sup>[28]</sup>。MAPK 信号通路参与体内各种应激反应、介导炎症和凋亡相关通路、参与细胞的增殖和分化<sup>[29]</sup>。有研究表明, 脓毒症中促炎细胞因子的合成与 MAPK 信号通路密切相关, 各组损伤因素通过激活 MAPK 下游多种转录因子及蛋白分子而造成靶器官损伤<sup>[30]</sup>。可见, 靶向 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路可能是大黄治疗脓毒症的潜在研究方向。

最后, 大黄的主要活性成分与关键靶点的分子对接结果显示, 芦荟大黄素与关键蛋白 TNF、IL-1 $\beta$ 、TP53、MYC、CASP3 拥有良好的结合能力, 特别是与 CASP3 结合能量最低, 验证了大黄治疗脓毒症具有多靶点的特点。这一方面充分说明分子对接的结果与网络药理学结果相一致, 另一方面也为网络药理学研究结果提供了有力的依据, 更是在一定程度上证明以大黄为代表的单药或复方治疗脓毒症的可行性。

综上所述, 本研究依托网络药理学相关平台, 主要是以生物信息学与大量数据计算的结果为前

期基础, 对大黄治疗脓毒症的作用机制进行了初步探讨与归纳。结果表明, 大黄治疗脓毒症是通过多成分、多靶点和多通路发挥作用。同时, 预测大黄中的  $\beta$ -谷甾醇、芦荟大黄素、泽兰黄酮素等多种有效活性成分协同参与机体炎症、氧化、免疫反应等诸多过程, 作用于 TNF、IL-1 $\beta$  等关键靶点, 调控 PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、AGE-RAGE 信号通路的表达, 以达到治疗脓毒症的作用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Singer M, Deutschman C S, Seymour C W, *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801-810.
- [2] 肖莹莹, 周仙仕, 唐光华. 脓症患者中医证候与预后关系 [J]. *中医杂志*, 2016, 57(3): 224-227.
- [3] Fleischmann C, Scherag A, Adhikara N K, *et al.* Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193(3): 259-272.
- [4] Xie J, Wang H, Kang Y, *et al.* The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: A national cross-sectional survey [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48(3): e209-e218.
- [5] 曹钰, 柴艳芬, 邓颖, 等. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018) [J]. *临床急诊杂志*, 2018, 19(9): 567-588.
- [6] 刘毅, 宋诗铎, 王洪霞. ICU 医院感染相关脓毒症病原菌分布及耐药性分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2010, 20(3): 421-423.
- [7] 杨潇, 任凯, 贾婷婷, 等. 中医药治疗脓毒症的研究进展 [J]. *中国中医急症*, 2020, 29(5): 933-936.
- [8] 冯伟科, 于华芸, 王媛, 等. 小檗碱和大黄酸对 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应及 TLR2/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响 [J]. *山东医药*, 2018, 58(42): 24-27.
- [9] 贾合磊, 卢长青, 袁彬, 等. 大黄提取物对脓毒症大鼠急性肾损伤的保护作用和对 Keap1/Nrf2 信号通路的影响 [J]. *药物分析杂志*, 2021, 41(6): 979-985.
- [10] 徐瑞明, 邵峥谊, 王大为. 大黄素对脓毒症大鼠心肌损伤的保护作用 [J]. *西部医学*, 2020, 32(10): 1443-1446.
- [11] 龙玲, 赵浩天, 任珊, 等. 大黄素鼻饲对脓毒症急性胃肠功能损伤患者胃肠动力的改善作用 [J]. *山东医药*, 2020, 60(27): 35-37.
- [12] Xiang H, Zuo J X, Guo F Y, *et al.* What we already know about rhubarb: A comprehensive review [J]. *Chin Med*, 2020, 15: 88.
- [13] 陈家琪, 包丹丹, 张悦, 等. 附子-大黄药对治疗阳虚类疾病配伍机制研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(11):

- 3518-3530.
- [14] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [15] Jiang L, Shi Z, Yang Y, *et al.* Network pharmacology-based approach to investigate the molecular targets of rhubarb for treating cancer [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 9945633.
- [16] Gong F, Xie L, Chen B, *et al.* Exploration of Ziziphi Spinosae semen in treating insomnia based on network pharmacology strategy [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 9888607.
- [17] 智屹惠, 王坤根, 王灵聪. 《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》中医药部分解读 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 429-434.
- [18] 奚小土, 曾瑞峰, 丁邦晗, 等. 脓毒症中西医结合的临床困惑与思考 [J]. 中国中医急症, 2016, 25(7): 1323-1325.
- [19] Babu S, Jayaraman S. An update on  $\beta$ -sitosterol: A potential herbal nutraceutical for diabetic management [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110702.
- [20] Kasirzadeh S, Ghahremani M H, Setayesh N, *et al.*  $\beta$ -sitosterol alters the inflammatory response in CLP rat model of sepsis by modulation of NF- $\kappa$ B signaling [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 5535562.
- [21] Dong X, Zeng Y, Liu Y, *et al.* Aloe-emodin: A review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(2): 270-281.
- [22] Otieno W, Liu C, Ji Y. Aloe-emodin-mediated photodynamic therapy attenuates sepsis-associated toxins in selected gram-positive bacteria *in vitro* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2021, 31(9): 1200-1209.
- [23] Chou C H, Hsu K C, Lin T E, *et al.* Anti-inflammatory and tau phosphorylation-inhibitory effects of eupatin [J]. *Molecules*, 2020, 25(23): 5652.
- [24] 高世勇, 李丹. 肿瘤坏死因子与癌症相关研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36(9): 1209-1213.
- [25] Park S H, Choi H J, Yang H, *et al.* Endoplasmic reticulum stress-activated C/EBP homologous protein enhances nuclear factor- $\kappa$ B signals via repression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(46): 35330-35339.
- [26] Kaden-Volynets V, Günther C, Zimmermann J, *et al.* Deletion of the Casp8 gene in mice results in ileocolitis, gut barrier dysfunction, and malassimilation, which can be partially attenuated by inulin or sodium butyrate [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2019, 317(4): 493-507.
- [27] 杨蕊, 许华, 王兵, 等. PI3K/AKT信号通路在大鼠腹腔感染性脓毒症急性肾损伤中的作用 [J]. 天津医药, 2018, 46(6): 581-584.
- [28] 田婧, 王桂平, 于泳浩, 等. 脓毒症小鼠肺损伤时 PI3K/Akt 信号通路及 HO-1 表达的关系 [J]. 中华麻醉学杂志, 2020, 40(2): 242-245.
- [29] Yue S J, Zhang P X, Zhu Y, *et al.* A ferulic acid derivative FXS-3 inhibits proliferation and metastasis of human lung cancer A549 cells via positive JNK signaling pathway and negative ERK/p38, AKT/mTOR and MEK/ERK signaling pathways [J]. *Molecules*, 2019, 24(11): 2165.
- [30] Han R T, Kim S, Choi K, *et al.* Asthma-like airway inflammation and responses in a rat model of atopic dermatitis induced by neonatal capsaicin treatment [J]. *J Asthma Allergy*, 2017, 10: 181-189.

[责任编辑 高源]