

【实验研究】

基于网络药理学与分子对接技术的异钩藤碱抗肺纤维化的作用机制探究

边梦霓¹, 杨 征², 董永和¹, 邱 敏^{1*}, 高志祥^{1*}

1. 包头医学院 药学院, 内蒙古 包头 014040

2. 包头医学院第一附属医院 心内二科, 内蒙古 包头 014017

摘 要: **目的** 应用网络药理学与分子对接的方法阐明异钩藤碱抗肺纤维化的作用机制。**方法** 使用 Swiss Target Prediction、DisGeNET 等数据库预测异钩藤碱和肺纤维化的潜在靶点。通过拓扑分析筛选核心靶点, 并对其基因本体论 (GO) 功能和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。对筛选出的关键靶点进行分子对接实验验证结合活性。**结果** 靶点预测得到 100 个异钩藤碱和肺纤维化共同作用靶点, GO 功能分析表明调节炎症反应、正向调节成纤维细胞增殖等多种生物过程参与肺损伤后的纤维化进程; 得到了 MAPK1、MAPK3、EGFR、VEGFA、PI3KCA、PI3KCD、AKT1、TNF 等 8 个异钩藤碱治疗肺纤维化的预测靶点和以 PI3K-Akt 信号通路为主的潜在作用途径。分子对接结果表明异钩藤碱可以与选定的 8 个靶点进行结合。**结论** 异钩藤碱可以通过调节肺纤维化的某些生物过程, 介导以 PI3K-Akt 信号通路为主的途径发挥肺损伤后的保护作用, 为后续开展异钩藤碱抗肺纤维化的实验研究提供理论依据。

关键词: 异钩藤碱; 肺纤维化; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2022) 03-0418-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.03.003

Exploring mechanism of isorhynchophylline in treatment of pulmonary fibrosis through network pharmacology and molecular docking

BIAN Mengni¹, YANG Zheng², DONG Yonghe¹, QIU Min¹, GAO Zhixiang¹

1. Department of Pharmacy, Baotou Medical College, Baotou 014040, China

2. Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014017, China

Abstract: **Objective** Application of network pharmacology and molecular docking to elucidate the mechanism of isorhynchophylline against pulmonary fibrosis. **Methods** The potential targets of isorhynchophylline and pulmonary fibrosis were first predicted through Swiss Target Prediction, DisGeNET, and other databases. Then the core targets were screened by topological analysis and subjected to Gene Ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Finally, molecular docking was performed to verify the binding activity. **Results** Target prediction yielded 100 predicted targets where isorhynchophylline and pulmonary fibrosis act together, and GO functional analysis indicated that multiple biological processes such as regulation of inflammatory response and positive regulation of fibroblast proliferation are involved in the fibrosis process after lung injury. Ultimately, MAPK1, MAPK3, EGFR, VEGFA, PI3KCA, PI3KCD, AKT1, TNF eight predicted targets of isorhynchophylline for the treatment of pulmonary fibrosis and a potential pathway based on the PI3K-Akt signaling pathway were identified. In addition, molecular docking results showed that isorhynchophylline could bind to the selected eight targets. **Conclusion** Isorhynchophylline may exert protective effects after lung injury by modulating certain biological processes of lung fibrosis and mediating a pathway dominated by the PI3K-Akt signaling pathway, providing a theoretical basis for subsequent experiments on the anti-pulmonary fibrosis of isorhynchophylline.

Key words: isorhynchophylline; pulmonary fibrosis; network pharmacology; molecular docking; mechanism

收稿日期: 2021-11-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81160560); 内蒙古自然科学基金项目 (2011MS1131, 2015MS0809, 2019MS08061, 2020MS08071, 2020MS08077, 2021MS08126); 自治区大学生创新创业训练计划项目 (S202119127007)

第一作者: 边梦霓 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中蒙药药理学。E-mail: 2863553505@qq.com

***共同通信作者:** 邱 敏 (1979—), 女, 硕士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中蒙药药理学。E-mail: 102006095@btmc.edu.cn

高志祥 (1967—), 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中蒙药毒理学。E-mail: 101992072@btmc.edu.cn

肺纤维化是一种不可逆的间质性肺疾病,严重的肺炎和不断恶化的纤维化导致肺结构重塑,患者最终因呼吸衰竭死亡^[1-4]。肺纤维化早期病理特点为显著的炎症反应,炎性细胞在肺部弥漫性浸润,大量释放炎症因子和促纤维化因子。随后促纤维化因子促进成纤维细胞活化并向肌成纤维细胞表型转化,生成大量胶原蛋白,纤维化组织取代正常组织,肺泡结构坍塌,最终导致肺通气功能丧失^[5-8]。肺纤维化的致病因素很多,其中包括吸烟和环境因素,如空气中的灰尘、颗粒物等,肺纤维化患者确诊后的中位生存期仅为2~5年^[9-10]。目前最有效且能提高生存率的方法为肺移植,但存在价格昂贵和供体有限的限制。因此,探索有效的抗肺纤维化药物是非常迫切的任务^[11-12]。

异钩藤碱是从茜草科植物钩藤中分离得到的1种四环氧吡咯生物碱,近年研究表明异钩藤碱可通过抗炎、抗氧化和抑制肺动脉平滑肌细胞增殖等发挥抗肺动脉高压作用^[13-14]。Zhu等^[15]研究发现异钩藤碱可减少肺部粒细胞的聚集和胶原的形成并且能显著抑制促炎因子的产生,但异钩藤碱对肺损伤后的保护作用研究甚少。

网络药理学集成了多种信息源,并采用了生物信息学和网络分析等计算和实验方法,在药物靶标识别、作用机制研究方面具有很强的应用价值^[16-18]。本课题组前期研究发现异钩藤碱具有抗肺纤维化的作用^[9],本研究拟通过网络药理学方法进一步明确异钩藤碱与抗肺纤维化疾病作用的关系和发挥作用的信号通路,为后续深入研究提供思路与参考。

1 方法

1.1 异钩藤碱和肺纤维化靶点的收集

使用 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>)和 BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)数据库以“异钩藤碱(isorhynchophylline)”为关键词收集异钩藤碱的目标靶点。在 DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)数据库中以“肺纤维化(pulmonary fibrosis)”为关键词,确定与肺纤维化相关的靶点。将得到的靶点通过 UniProt 转换为标准的基因和 UniProt ID,删除重复靶点后,将异钩藤碱和肺纤维化所得相关靶点输入 Cytoscape 3.7.1 软件中构建网络关系图。

1.2 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络图的构建与拓扑分析

使用在线 Venn 作图软件([http://bioinformatics.](http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/)

psb.ugent.be/webtools/Venn/)进行交集分析,将异钩藤碱和肺纤维化的交集基因导入 STRING (<http://string-db.org/>,第10版)数据库中,建立 PPI 网络图。设置“medium confidence>0.4”,获得两两目标之间的相关性得分。将来自 STRING 中的数据导入 Cytoscape 3.7.1 中,进行网络图的构建与拓扑分析。通过 Cytoscape 的插件“Network Analyzer”来测量拓扑参数,筛选度(degree)、介数中心性(betweenness centrality)和中心接近度(closeness centrality)3个参数大于中位数的节点提取为核心网络。

1.3 基因本体论(GO)功能分析和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

对“1.2”项得到的核心网络中的靶点使用 DAVID 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>)进行 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析。随后,整合 KEGG 所有涉及的靶点及其相应的信号传导通路构建靶点-通路网络,对靶点和信号通路进行进一步分析。

1.4 分子对接

整合异钩藤碱-肺纤维化核心靶点 PPI 网络图中度值排名前5的靶点和核心靶点-通路网络图中度值前5的靶点,即 MAPK1、MAPK3、EGFR、VEGFA、PI3KCA、PI3KCD、AKT1、TNF 作为异钩藤碱抗肺纤维化的潜在靶点,与异钩藤碱进行分子对接。从 RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>)数据库中获得靶点的 3D 结构,同时在 ZINC (<http://zinc.docking.org/>)数据库下载化合物的 3D 结构。根据以下标准确定靶点蛋白质:1)蛋白质结构由 X-晶体衍射获得;2)蛋白质晶体分辨率小于 0.3 nm(3 Å)。用 PYMOL 2.3.2 (<https://pymol.org/2/>)和 AutoDockTools 进行去水、加氢、添加加斯泰格电荷。使用 Autodock Vina 1.1.2 进行分子对接计算,并用 PYMOL 和 ligplus 对结果进行可视化处理。

2 结果

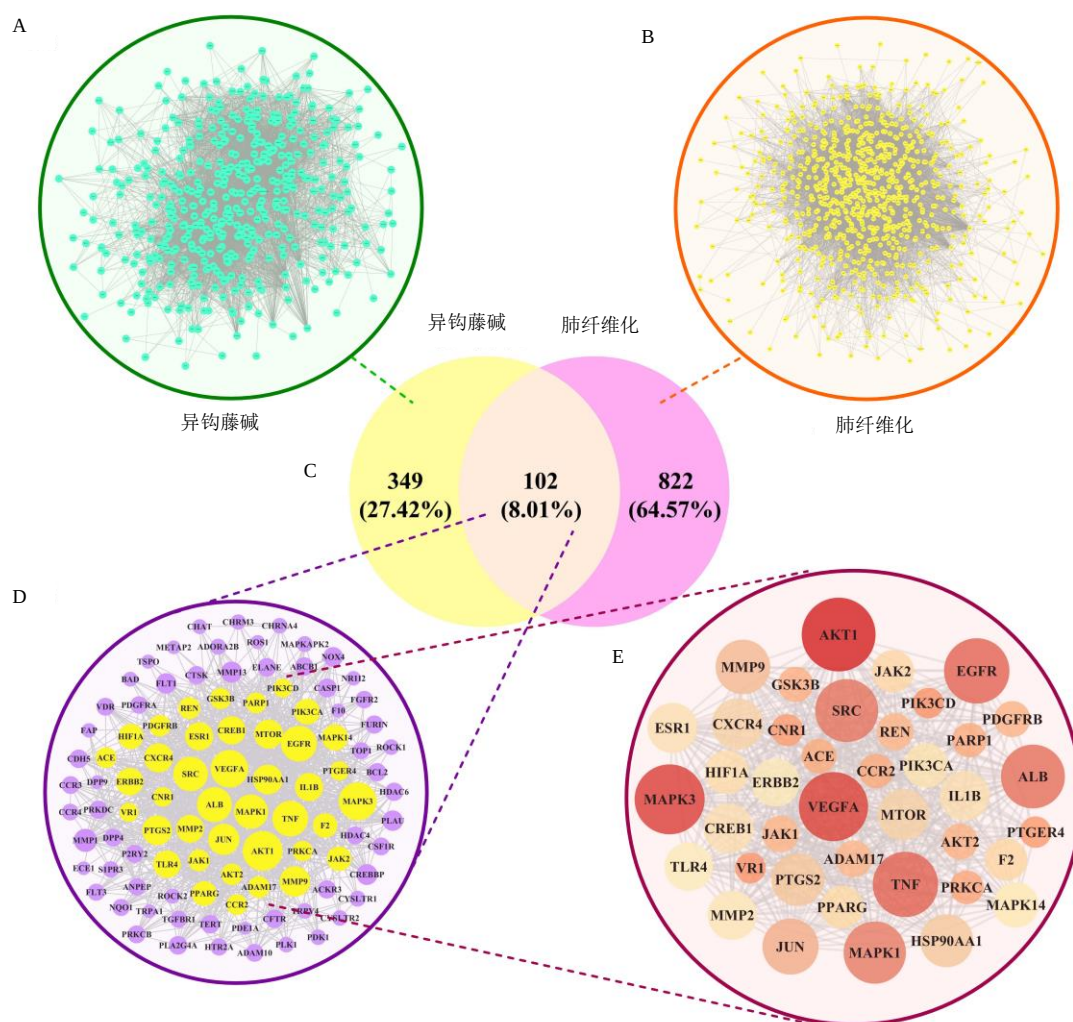
2.1 潜在目标的筛选

整合 SwissTargetPrediction 数据库、ChEMBL 数据库和 BATMAN-TCM 数据库中得分 ≥ 2.608 的预测靶点,删除重复数据后确定了异钩藤碱的 451 个预测靶点。使用 DisGeNET 数据库得到了 924 个与肺纤维化相关的靶点。根据以上数据使用 STRING 和 Cytoscape 3.7.1 软件构建了异钩藤碱和肺纤维化的各自 PPI 网络(图 1-A 和图 1-B)。异钩藤碱与肺纤维化交叉处的靶点是两者共同作用的靶点(图 1-C),可能是异钩藤碱作用于肺纤维化的潜在靶点。

针对异钩藤碱和肺纤维化两者共同作用的靶点进行了进一步分析。首先使用STRING数据库建立了PPI关系,得到100个节点(SOAT1和KCNMB1不参与蛋白质相互作用)和1 123条边,显示了蛋白之间相互调节与作用的复杂关系(图1-D)。再利用Cytoscape 3.7.1软件进行拓扑分析以得到异钩藤碱治疗肺纤维化的关键靶点基因。根据度>16、介数中心性>0.001 6和中心接近度>0.528 0提取核心靶点构建网络(图1-E),得到40个节点和499条边。在此核心靶点网络图中最显著的几个靶点是AKT1(度值73)、MAPK3(度值68)、VEGFA(度值67)、EGFR(度值62)和TNF(度值62),它们可能在异钩藤碱治疗肺纤维化发挥至关重要的作用。

2.2 GO功能分析

通过DAVID Bioinformatics Resources 6.7对核心网络中的40个靶点进行了GO功能分析。按照“Count ≥ 2 ”和“EASE scores ≤ 0.05 ”的筛选条件,得到250个生物过程(BP),29个细胞成分(CC)和42个分子功能(MF),见图2。GO分析结果显示重要的BP有调节上皮细胞增殖和迁移(positive regulation of epithelial cell proliferation and migration)、细胞迁移(positive regulation of cell migration)、凋亡过程(negative regulation of apoptotic process)、炎症反应(regulation of inflammatory response)和成纤维细胞增殖(positive regulation of fibroblast proliferation)等(图2-A)。根据P值从小到大排列,前5个MF包括酶结合(enzyme

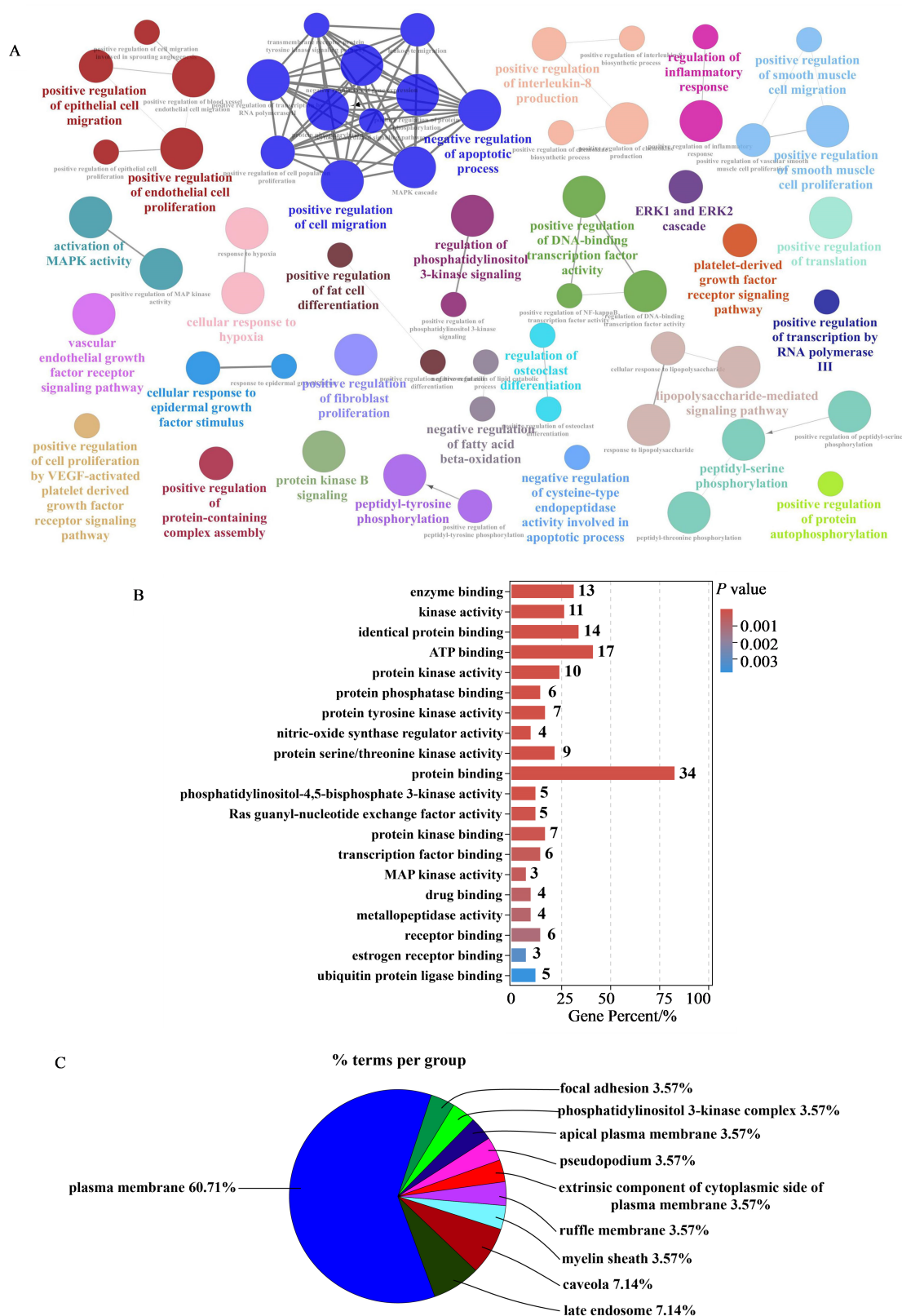


A-异钩藤碱靶点PPI网络;B-肺纤维化靶点PPI网络;C-异钩藤碱-肺纤维化靶点韦恩图;D-异钩藤碱-肺纤维化共同靶点PPI网络;E-异钩藤碱-肺纤维化核心靶点PPI网络

A-PPI network of targets of isorhynchophylline; B-PPI network of targets of pulmonary fibrosis; C-Venn diagram of isorhynchophylline-pulmonary fibrosis intersecting targets; D-PPI network of isorhynchophylline-pulmonary fibrosis intersecting targets; E-PPI network of core target of isorhynchophylline-pulmonary fibrosis

图1 蛋白质-蛋白质相互作用网络图

Fig. 1 Protein-protein interaction network diagram



A-生物过程;B-前20个分子功能;C-细胞成分

A-biology process; B-Top 20 molecular functions; C-cellular component

图2 GO功能分析结果

Fig. 2 GO function analysis results

binding)、激酶活性(kinase activity)、同质蛋白结合、ATP结合和蛋白激酶活性(图2-B)。聚类分析后富集的CC是质膜(plasma membrane)和小窝(caveola)等(图2-C)。

2.3 KEGG 信号通路富集分析

通过KEGG通路富集分析进一步研究了异钩

藤碱抗肺纤维化的通路。40个核心靶点按照 $P < 0.05$ 共得到104个信号通路,前20个显著富集通路见图3。其中包括HIF-1信号通路、TNF信号通路、VEGF信号通路和PI3K-Akt信号通路等经典通路。

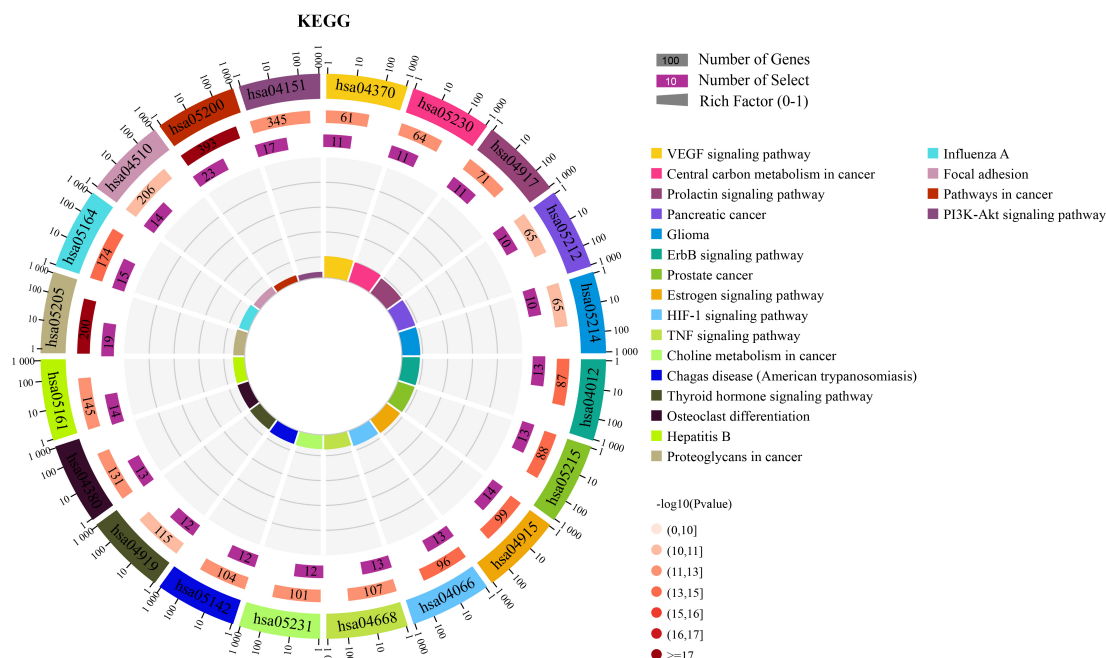


图3 KEGG富集分析

Fig. 3 KEGG enrichment analysis

在上述结果的基础上,整合所有涉及的靶点及其相应的信号传导通路构建靶点-通路网络图,得到141个节点和842条边(图4)。结果显示在这些潜在的靶点中相关性最高的MAPK3(度值77)、MAPK1(度值77)、PIK3CA(度值65)、PIK3CD(度值65)、AKT1(度值64)存在于多个途径中,参与多重调控,潜在价值高。此外,发现PI3K-Akt信号通路的 P 值较小且富集靶点多,推测异钩藤碱极大可能会通过PI3K-Akt信号通路发挥抗肺纤维化的作用。

2.4 分子对接结果

选择PPI网络和KEGG网络中的关键节点MAPK1、MAPK3、EGFR、VEGFA、PI3KCA、PI3KCD、AKT1、TNF进行分子对接研究。如图5所示,MAPK1与ALA-35、CYS-166、ASP-111、LYS-114残基形成氢键;MAPK3与SER-225残基形成氢键;EGFR与ASP-770、ASN-771、ALA-1000、ARG-776残基形成氢键;VEGFA与GLU-42残基形成氢键;PIK3CA与LYS-290、LEU-262残基形成氢键;PIK3CD与GLN-792、GLN-795残基形成氢键;

AKT1与ASP-292、THR-82、THR-81、GLN-79、ARG-273残基形成氢键;TNF与TYR-114、LYS-98残基形成氢键。对接结果显示几种蛋白均与异钩藤碱有较好的结合能力,虽VEGFA与异钩藤碱的结合能最低,但仍然存在结合的可能性。异构藤碱与各靶点分子对接的结合能见表1。

3 讨论

肺纤维化作为一种不可逆的肺损伤疾病一直是当前医学的一道难题,目前经FDA批准上市的药物只有吡非尼酮和宁达尼布,可以有效减缓肺纤维化疾病进展,但存在胃肠道反应和光敏性等不良反应^[20]。因此,寻找治疗肺纤维化更有效、更安全的药物是迫切需要解决的问题。异构藤碱作为有效的抗炎、抗氧化应激的多功能化合物近年来被发现可用于治疗肺部疾病。本实验通过PPI网络构建、GO功能分析和KEGG通路富集分析探索了异构藤碱治疗肺纤维化的治疗靶点和参与的信号通路。使用分子对接分析了异构藤碱和靶点的结合能力。最终得到了8个作用靶点和以PI3K-Akt信号通路为主的潜在作用途径。

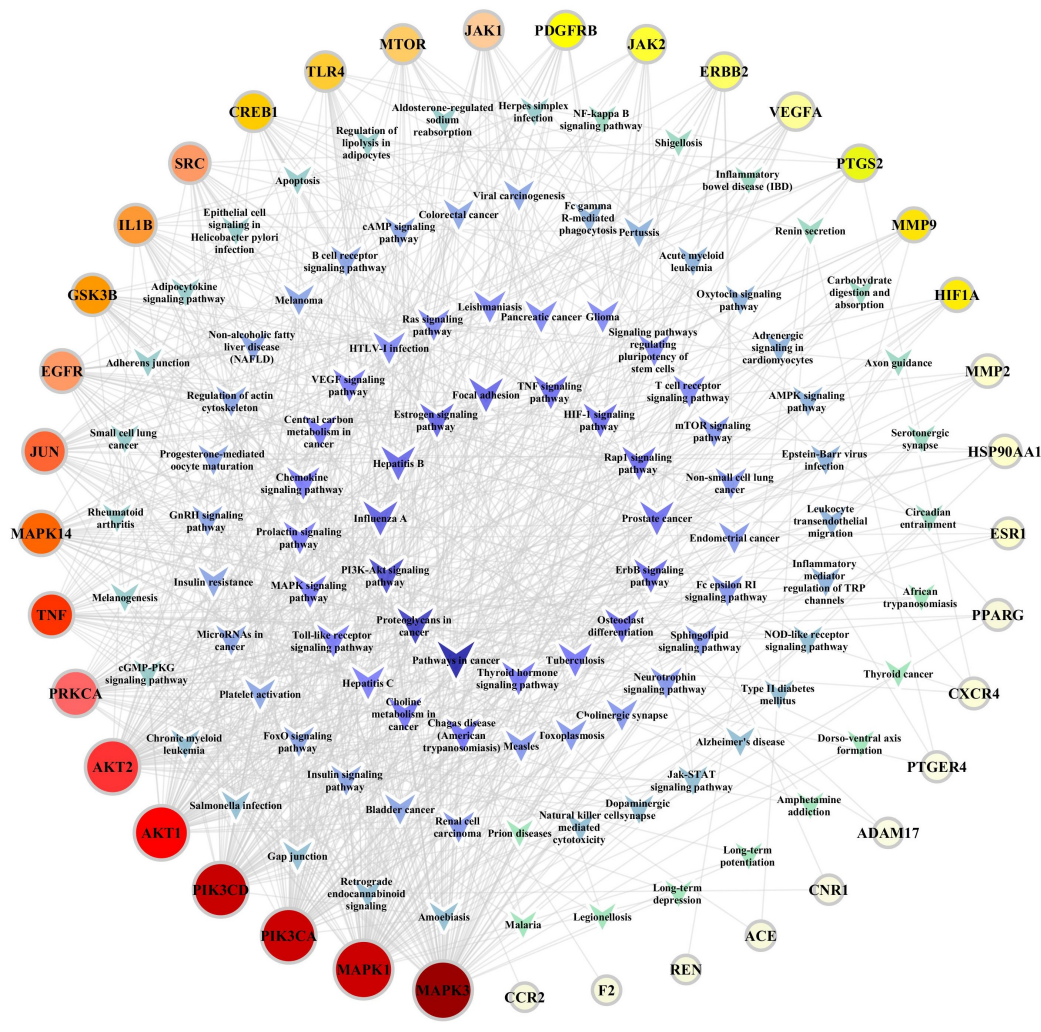


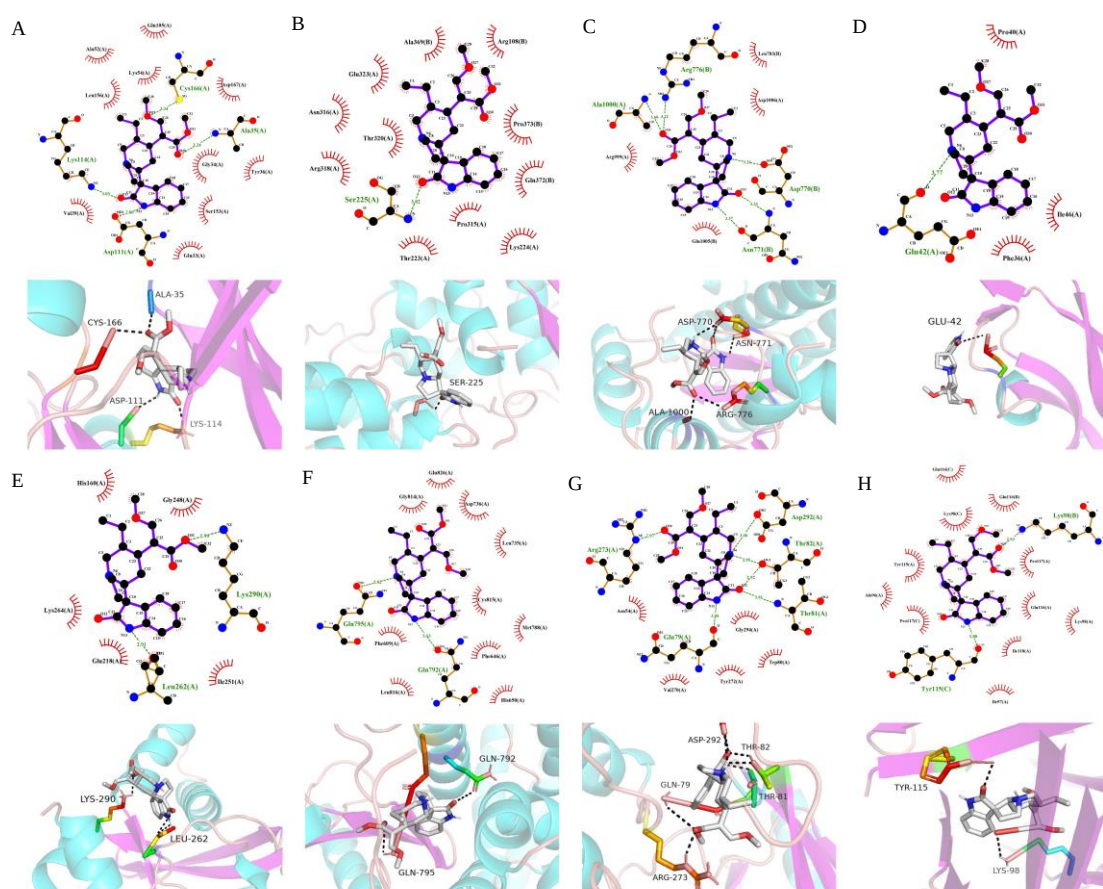
图4 核心靶点-通路网络图

Fig. 4 Core target-pathway network diagram

在核心靶点富集的GO分析结果中发现正向调节上皮细胞迁移和内皮细胞增殖、调节炎症反应、正向调节成纤维细胞增殖、调节凋亡过程和细胞迁移这些生物过程与肺纤维化发展息息相关。众所周知,目前广泛认为肺纤维化最具科学性的诱发原因是持续的肺泡上皮细胞受损,细胞受损后刺激炎症介质释放,如IL-1、IL-6、TNF- α 、TGF- β 等,诱发炎症反应。与此同时机体的修复程序启动,肺泡上皮细胞的再生参与伤口的愈合,上皮细胞增殖减少和凋亡增加^[21]导致上皮细胞再生障碍^[22],同时上皮细胞无法正常迁移也会促进病理性瘢痕形成^[23]。参与组织修复的除了上皮细胞还有成纤维细胞。感受到组织受损时,响应号召成纤维细胞增殖并迁移,迅速转化为肌成纤维细胞发挥修复功能^[24]。活化的成纤维细胞和肌成纤维细胞生成以I型胶原为主的胶原蛋白,修复失调,成纤维细胞过度增殖和

生成肌成纤维细胞的上皮细胞、内皮细胞、间质细胞异常增殖使得胶原生成过多^[25];同时肌成纤维细胞发挥作用后没有依照凋亡程序正常凋亡,继续进行组织重建造成胶原沉积。因此,本研究结果显示异钩藤碱可能通过调节以上生物过程介导肺纤维化的发展。

KEGG富集分析的结果显示, P 值小且靶点富集多的除了癌症通路(pathways in cancer)和癌症中的蛋白多糖(proteoglycans in cancer)外便是PI3K-Akt信号通路。已有不少研究表明,PI3K/Akt信号通路与肺纤维化发展息息相关^[26-27]。肺纤维化时激活PI3K/Akt信号通路抑制上皮-间质转化^[28],促进成纤维细胞增殖^[29],并通过作用于下游蛋白mTOR抑制支气管上皮细胞的自噬^[30]推动肺纤维化发展。PI3K/Akt信号通路可作为异钩藤碱抗肺纤维化的主要作用通路进行研究,但肺纤维化作用机制繁



异钩藤碱分别与 MAPK1(A)、MAPK3(B)、EGFR(C)、VEGFA(D)、PI3KCA(E)、PI3KCD(F)、AKT1(G)、TNF(H)进行分子对接的结果,分别以 2D 和 3D 的形式展示

Results of molecular docking of isorhynchophylline with MAPK1 (A), MAPK3 (B), EGFR (C), VEGFA (D), PI3KCA (E), PI3KCD (F), AKT1 (G), and TNF (H), respectively, and were presented in 2D and 3D

图5 分子对接结果

Fig. 5 Results of molecular docking

表1 异钩藤碱与潜在靶点分子对接结果

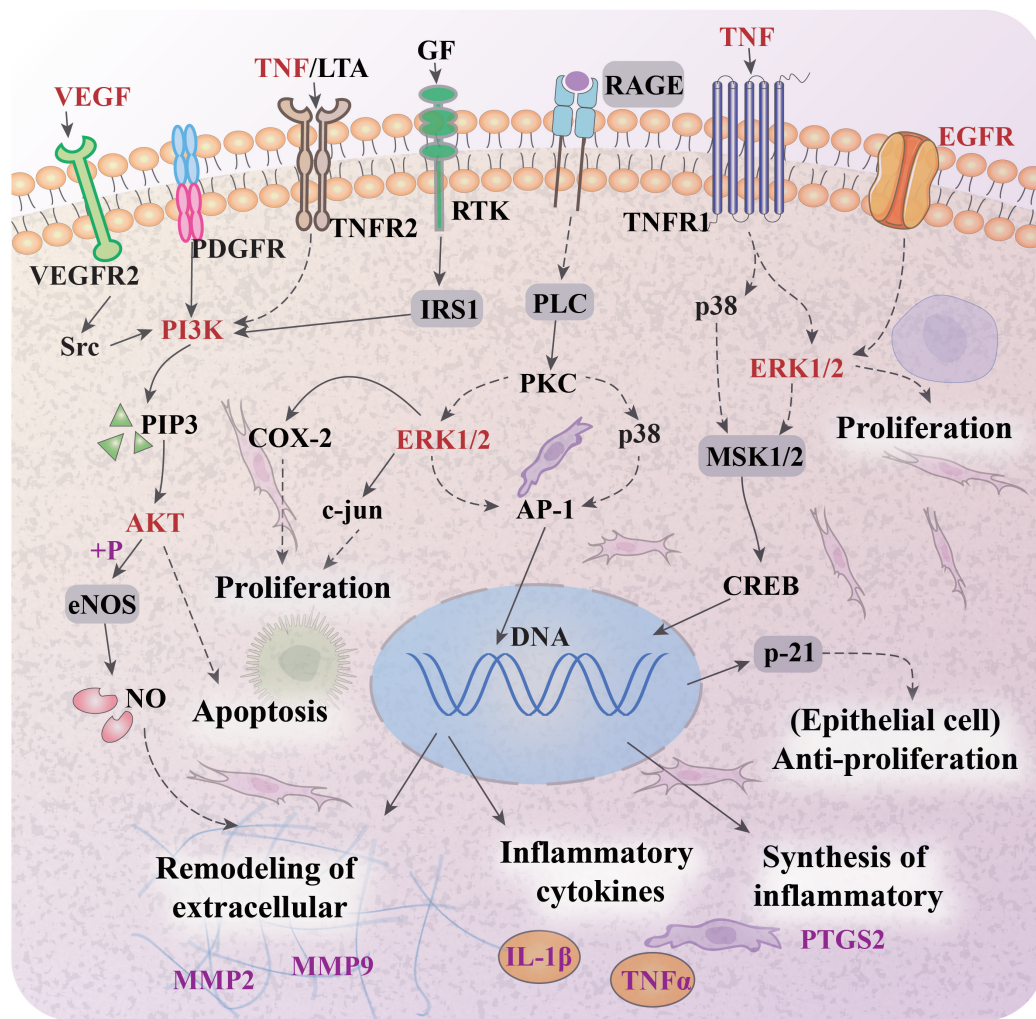
Table 1 Results of molecular docking of isorhynchophylline with potential targets

化合物	靶点	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
异钩藤碱	MAPK1	-33.1
异钩藤碱	MAPK3	-33.1
异钩藤碱	EGFR	-32.6
异钩藤碱	VEGFA	-21.3
异钩藤碱	PI3KCA	-23.0
异钩藤碱	PI3KCD	-32.6
异钩藤碱	AKT1	-33.9
异钩藤碱	TNF	-33.9

杂,涉及生物过程广泛,并非只有一条信号通路参与反应。因此,将KEGG富集分析结果前20条通路进行整合,集合上述所有分析,发现多条可能发挥重要作用的途径,如图6所示。

结合核心网络分析和KEGG结果寻找到异钩藤碱抗肺纤维化可能作用于的8个靶点。在核心网络中,根据度、介数中心性和中心接近度得到 AKT1、MAPK3、VEGFA、EGFR、TNF 共5个预测靶点,以上3种参数的数值越大表明该靶点在网络中发挥越重要的作用。KEGG通路和涉及靶点网络图中提取了度最高的 MAPK3、MAPK1、PIK3CA、PIK3CD、AKT1 5个靶点,这5个靶点存在于多条信号通路中,被认为是较为重要的靶点。结合两者的结果,把 MAPK1、MAPK3、EGFR、VEGFA、PI3KCA、PI3KCD、AKT1、TNF 8个靶点确定为异钩藤碱作用于肺纤维化的靶点。

使用分子对接的方法初步测试了这些靶点和异钩藤碱的亲和力。结果显示异钩藤碱与这8个靶点均有较好的结合能力,因此异钩藤碱可能通过与这些蛋白结合发挥抗肺纤维化作用。研究发现博



红色字体表示网络药理学预测的作用靶点,灰色框中的蛋白表示不属于异钩藤碱抗肺纤维化核心靶点,剩余蛋白全部来自异钩藤碱抗肺纤维化核心靶点

Red font indicates network pharmacology predicted targets of action, proteins in gray box indicate that they do not belong to core targets of isorhynchophylline anti-pulmonary fibrosis, remaining proteins are all from core targets of isorhynchophylline anti-pulmonary fibrosis

图6 异钩藤碱抗肺纤维化潜在作用机制

Fig. 6 Potential mechanism of Isorhynchophylline in treatment of pulmonary fibrosis

来霉素诱导的肺纤维化模型中ERK(MAPK1/3)信号表达上调,肺上皮-间质转化(EMT)表型增强,抑制ERK表达可以有效抑制上皮-间质转化^[31]。同时ERK过表达会刺激 α -SMA和胶原蛋白I的表达,导致细胞外基质堆积^[32]。EGFR在肺纤维化中也发挥很重要的作用,EGFR酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIs)可减少转化生长因子- α (TGF- α)诱导的肺胶原沉积和细胞外基质堆积^[33]。同时EGFR信号转导对成纤维细胞也有一定的影响,抑制EGFR信号转导会使成纤维细胞增殖受到抑制,从而减缓肺纤维化进程^[34]。VEGFA作为一种血管生成剂,发现在肺纤维化患者肺组织中蛋白表达水平显著上调^[35]。异常的血管生成是肺纤维化的病理现象之一,抑制

VEGF可通过调节肺部的血管生成介导肺纤维化发展^[36-37]。PI3K(PIK3CA/PIK3CD)作为PI3K-Akt信号通路的关键蛋白,通过激活信号传导同样是肺纤维化发展中重要的一员^[38-39]。与此同时,Akt1可通过调节肺部巨噬细胞凋亡^[40]或巨噬细胞中的IL-13表达参与肺纤维化发展^[41]。TNF- α 是炎症调节剂,不仅可以通过召集白细胞等炎性细胞聚集促进炎症,同时刺激巨噬细胞趋化因子的产生,而且还能刺激上皮细胞增殖导致上皮增厚和肺纤维化^[42],更重要的是TNF- α 可以促进胶原的沉积^[43]。以上蛋白直接或间接参与肺纤维化进程,都是治疗肺纤维化的潜在靶点。

通过本研究明确了异钩藤碱治疗肺纤维化的

作用靶点和潜在的作用途径,进一步证实作用关系的药效学实验和作用机制通路的研究课题组正在开展,本研究为后续深入研究异钩藤碱抗肺纤维化的作用和机制探讨提供基础依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Aryal S, Nathan S D. An update on emerging drugs for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2018, 23(2): 159-172.
- [2] Hadjicharalambous M R, Lindsay M A. Idiopathic pulmonary fibrosis: Pathogenesis and the emerging role of long non-coding RNAs [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 524.
- [3] Lederer D J, Martinez F J. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(19): 1811-1823.
- [4] Stone R C, Chen V, Burgess J, et al. Genomics of human fibrotic diseases: Disordered wound healing response [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22): 8590.
- [5] Baumgartner K B, Samet J M, Coultas D B, et al. Occupational and environmental risk factors for idiopathic pulmonary fibrosis: A multicenter case-control study. Collaborating Centers [J]. *Am J Epidemiol*, 2000, 152(4): 307-315.
- [6] Caminati A, Madotto F, Cesana G, et al. Epidemiological studies in idiopathic pulmonary fibrosis: Pitfalls in methodologies and data interpretation [J]. *Eur Respir Rev*, 2015, 24(137): 436-444.
- [7] George P M, Patterson C M, Reed A K, et al. Lung transplantation for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(3): 271-282.
- [8] Zhang W B, Chen C X, Sim S M, et al. *In vitro* vasodilator mechanisms of the indole alkaloids rhynchophylline and isorhynchophylline, isolated from the hook of *Uncaria rhynchophylla* (Miquel) [J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2004, 369(2): 232-238.
- [9] Zhou J Y, Zhou S W. Isorhynchophylline: A plant alkaloid with therapeutic potential for cardiovascular and central nervous system diseases [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(4): 617-626.
- [10] Xian Y F, Su Z R, Chen J N, et al. Isorhynchophylline improves learning and memory impairments induced by D-galactose in mice [J]. *Neurochem Int*, 2014, 76: 42-49.
- [11] Xian Y F, Fan D, Ip S P, et al. Antidepressant-like effect of isorhynchophylline in mice [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(2): 678-685.
- [12] Guo H P, Zhang X, Cui Y Q, et al. Isorhynchophylline protects against pulmonary arterial hypertension and suppresses PASMCs proliferation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 450(1): 729-734.
- [13] Zhu J Y, Wang W Q, Wu X. Isorhynchophylline exerts anti-asthma effects in mice by inhibiting the proliferation of airway smooth muscle cells: The involvement of miR-200a-mediated FOXC1/NF- κ B pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(4): 1055-1060.
- [14] 于 潇, 祝琳琳, 刘 婕, 等. 钩藤中单萜吲哚类生物碱成分及其药理活性的研究进展 [J]. *中草药*, 2021, 52(19): 6052-6065.
- [15] Yu X, Zhu L L, Liu J, et al. Research progress on monoterpenoid indole alkaloids in *Uncariae Ramulus Cum Uncis* and their pharmacological activities [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52(19): 6052-6065.
- [16] Zhou Z, Su Y H, Fa X N. Isorhynchophylline exerts anti-inflammatory and anti-oxidative activities in LPS-stimulated murine alveolar macrophages [J]. *Life Sci*, 2019, 223: 137-145.
- [17] Hopkins A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11): 682-690.
- [18] Boezio B, Audouze K, Ducrot P, et al. Network-based approaches in pharmacology [J]. *Mol Inform*, 2017, 36(10): 2017Oct;36(10).
- [19] 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.
- [20] Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of *Network Pharmacology Evaluation Method Guidance* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [21] Qiu M, Yang Z, Bian M N, et al. Protective effects of isorhynchophylline against silicon-dioxide-induced lung injury in mice [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48(1): 1125-1134.
- [22] Gulati S, Luckhardt T R. Updated evaluation of the safety, efficacy and tolerability of pirfenidone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Drug Healthc Patient Saf*, 2020, 12: 85-94.
- [23] Maeyama T, Kuwano K, Kawasaki M, et al. Upregulation of Fas-signalling molecules in lung epithelial cells from patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Eur Respir J*, 2001, 17(2): 180-189.
- [24] Thannickal V J, Toews G B, White E S, et al. Mechanisms of pulmonary fibrosis [J]. *Annu Rev Med*, 2004, 55: 395-417.
- [25] Selman M, Pardo A. Role of epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis: From innocent targets to serial killers [J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3(4): 364-372.
- [26] Hinz B, Phan S H, Thannickal V J, et al. Recent developments in myofibroblast biology: Paradigms for connective tissue remodeling [J]. *Am J Pathol*, 2012, 180

- (4): 1340-1355.
- [25] Sonbol H S. Extracellular matrix remodeling in human disease [J]. *J Microsc Ultrastruct*, 2018, 6(3): 123-128.
- [26] Hu X T, Xu Q Y, Wan H X, et al. PI3K-Akt-mTOR/PFKFB₃ pathway mediated lung fibroblast aerobic glycolysis and collagen synthesis in lipopolysaccharide-induced pulmonary fibrosis [J]. *Lab Invest*, 2020, 100(6): 801-811.
- [27] Wan H X, Xie T T, Xu Q Y, et al. Thy-1 depletion and integrin $\beta 3$ upregulation-mediated PI3K-Akt-mTOR pathway activation inhibits lung fibroblast autophagy in lipopolysaccharide-induced pulmonary fibrosis [J]. *Lab Invest*, 2019, 99(11): 1636-1649.
- [28] Tan W J, Tan Q Y, Wang T, et al. Calpain 1 regulates TGF- $\beta 1$ -induced epithelial-mesenchymal transition in human lung epithelial cells via PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3): 1402-1409.
- [29] Miao K, Pan T, Mou Y, et al. Scutellarein inhibits BLM-mediated pulmonary fibrosis by affecting fibroblast differentiation, proliferation, and apoptosis [J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2020, 11: 2040622320940185.
- [30] Cong L H, Li T, Wang H, et al. IL-17A-producing T cells exacerbate fine particulate matter-induced lung inflammation and fibrosis by inhibiting PI3K/Akt/mTOR-mediated autophagy [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(15): 8532-8544.
- [31] Wang L, Zhang P, Li X P, et al. Low-molecular-weight fucoidan attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis: Possible role in inhibiting TGF- $\beta 1$ -induced epithelial-mesenchymal transition through ERK pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(4): 2590-2602.
- [32] Hu X L, Wang H T, Liu J Q, et al. The role of ERK and JNK signaling in connective tissue growth factor induced extracellular matrix protein production and scar formation [J]. *Arch Dermatol Res*, 2013, 305(5): 433-445.
- [33] Hardie W D, Davidson C, Ikegami M, et al. EGF receptor tyrosine kinase inhibitors diminish transforming growth factor- α -induced pulmonary fibrosis [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294(6): L1217-L1225.
- [34] Ishii Y, Fujimoto S, Fukuda T. Gefitinib prevents bleomycin-induced lung fibrosis in mice [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(5): 550-556.
- [35] Smadja D M, Nunes H, Juvin K, et al. Increase in both angiogenic and angiostatic mediators in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Pathologie-biologie*, 2014, 62(6): 391-394.
- [36] Ou X M, Li W C, Liu D S, et al. VEGFR-2 antagonist SU5416 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(1): 70-79.
- [37] Iyer A K, Ramesh V, Castro C A, et al. Nitric oxide mediates bleomycin-induced angiogenesis and pulmonary fibrosis via regulation of VEGF [J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(11): 2484-2493.
- [38] Zhao H, Li C D, Li L N, et al. Baicalin alleviates bleomycin-induced pulmonary fibrosis and fibroblast proliferation in rats via the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(6): 2321-2334.
- [39] Jiang F Y, Li S, Jiang Y, et al. Fluorofenidone attenuates paraquat-induced pulmonary fibrosis by regulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and autophagy [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 405.
- [40] Larson-Casey J L, Deshane J S, Ryan A J, et al. Macrophage Akt1 kinase-mediated mitophagy modulates apoptosis resistance and pulmonary fibrosis [J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 582-596.
- [41] Nie Y J, Hu Y D, Yu K K, et al. Akt1 regulates pulmonary fibrosis via modulating IL-13 expression in macrophages [J]. *Innate Immun*, 2019, 25(7): 451-461.
- [42] Sasaki M, Kashima M, Ito T, et al. Differential regulation of metalloproteinase production, proliferation and chemotaxis of human lung fibroblasts by PDGF, interleukin-1 β and TNF- α [J]. *Mediators Inflamm*, 2000, 9(3/4): 155-160.
- [43] Malaviya R, Laskin J D, Laskin D L. Anti-TNF α therapy in inflammatory lung diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 180: 90-98.

[责任编辑 刘东博]