

基于网络药理学的血必净注射液治疗急性肺损伤作用机制研究

左莉华^{1,2}, 周霖^{1,2}, 师莹莹^{1,2}, 李卓伦^{1,2}, 刘丽伟^{1,2}, 姜晓芳³, 王丹⁴, 燕树勋⁵, 孙志^{1,2*}, 张晓坚^{1,2*}

1. 郑州大学第一附属医院 药学部, 河南 郑州 450052

2. 河南省精准临床药学重点实验室, 河南 郑州 450052

3. 郑州大学第一附属医院 中医药学部, 河南 郑州 450052

4. 郑州大学第一附属医院 骨科一病区, 河南 郑州 450052

5. 河南中医药大学第一附属医院 内分泌科二病区, 河南 郑州 450000

摘要: **目的** 预测血必净注射液抗急性肺损伤主要活性成分的作用靶点, 探索其“多成分-多靶点-多通路”的复杂网络调节机制。**方法** 针对血必净注射液中 38 个主要活性成分, 利用反向分子对接技术预测活性成分的作用靶点, 并与通过文献挖掘及多种数据库检索得到的急性肺损伤疾病相关靶点进行比对; 采用 Cytoscape 软件构建蛋白互作网络并进行拓扑分析, 筛选血必净注射液抗急性肺损伤的关键靶点, 借助 DAVID 数据库对得到的关键靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路注释分析。**结果** 网络分析结果显示, 血必净注射液中 38 个化合物直接或间接作用于 143 个关键靶点, 共涉及 71 个生物学过程、29 种细胞组分、40 种分子功能及 25 条 KEGG 通路 ($P < 0.05$, $FDR < 0.05$), 说明血必净注射液主要通过通过对基因调控、蛋白合成、炎症反应等过程的调节和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 等信号通路的干预发挥抗急性肺损伤作用。**结论** 血必净注射液发挥抗急性肺损伤的作用体现了中药多成分、多靶点、多途径的协同作用特点, 为深入阐明血必净注射液治疗急性肺损伤的作用机制提供了重要的科学依据。

关键词: 血必净注射液; 急性肺损伤; 网络药理学; 反向分子对接; 丝裂原活化蛋白激酶; 磷脂酰肌醇 3-激酶; 蛋白激酶 B
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)15-3541-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.15.011

Mechanism of Xuebijing Injection in anti-acute lung injury based on network pharmacology

ZUO Li-hua^{1,2}, ZHOU Lin^{1,2}, SHI Ying-ying^{1,2}, LI Zhuo-lun^{1,2}, LIU Li-wei^{1,2}, JIANG Xiao-fang³, WANG Dan⁴, YAN Shu-xun⁵, SUN Zhi^{1,2}, ZHANG Xiao-jian^{1,2}

1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

2. Laboratory of Accurate Clinical Pharmaceutical of Henan Province, Zhengzhou 450052, China

3. Department of Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

4. Ward one, Department of Orthopedics, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

5. Ward two, Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective To predict the action targets of anti-acute lung injury active ingredients of Xuebijing Injection, and investigate the “multi-components, multi-targets, and multi-pathways” mechanism. **Methods** Reverse molecular docking was used to forecast its targets of 38 main active components of Xuebijing Injection. The relevant targets of acute lung injury were searched through literature mining and multiple databases and compared with the predicted component targets. The protein interaction network was constructed by Cytoscape software, and topological analysis was performed to screen the key targets of anti-acute lung injury of Xuebijing Injection. And GO enrichment analysis and KEGG analysis were carried out on the key targets through DAVID database. **Results** The network analysis indicated that 38 active ingredients affected 143 key target proteins directly or indirectly, involved in 71 biological processes,

收稿日期: 2018-01-25

基金项目: 郑州大学第一附属医院创新基金项目 (2015)

作者简介: 左莉华, 博士, 研究方向为中药成分分析。Tel: (0371)66862570 E-mail: zuolihua2013@126.com

*通信作者: 孙志, 博士, 研究方向为中药质量控制。Tel: (0371)66862570 E-mail: sunzhi2013@163.com

张晓坚, 主任药师, 研究方向为医院药学。Tel: (0371)66913047 E-mail: zhangxiaojian_yxb@163.com

29 cellular components, 40 molecular function, and 25 KEGG pathways. These active compounds might participate in regulating the processes of gene, protein, external stimulus, and interfering the mitogen-activated protein kinase (MAPK), phosphatidyl inositol 3-kinase (PI3K)-Akt, and other signaling pathways to play a role in resisting to acute lung injury. **Conclusion** The anti-acute lung injury effect of Xuebijing Injection showed the characteristics of traditional Chinese medicine in multi-components, multi-targets, and multi-pathways. This research provides a scientific basis for elucidation of the anti-acute lung injury pharmacological mechanism of Xuebijing Injection.

Key words: Xuebijing Injection; acute lung injury; network pharmacology; reverse molecular docking; mitogen-activated protein kinase; phosphatidyl inositol 3-kinase; Akt

血必净注射液是由红花、赤芍、川芎、丹参和当归 5 味药材组成的现代中药复方注射剂, 具有活血化瘀、抗炎解毒的功效^[1-2]。临床研究表明, 血必净注射液对于急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 具有很好的治疗效果^[3-4]。但是, 血必净注射液作为中药复方制剂, 其所含活性成分较多, 目前对其治疗 ALI 的机制研究较为匮乏, 且以往研究多为单一机制^[5-6], 不能从整体上反映中药多成分、多靶点协同作用的特点。因此, 亟需利用一种新的药理学研究思路以期从整体的角度对血必净注射液治疗 ALI 的作用机制进行全面分析。

网络药理学是从整体水平上研究药物治疗机制的一种新的有效手段, 为中药复杂作用规律研究提供了新的思路^[7-9]。其从相互联系的角度出发研究问题, 符合中药治疗疾病的核心思想, 因此, 将网络药理学应用于中药作用机制研究具有独特的优势和巨大的发展潜力^[10-11]。其中, 反向分子对接作为网络药理学中用于预测中药有效成分靶点并进一步阐明其作用机制的关键技术, 现已广泛应用于中医药领域中^[12-13]。该技术是以小分子化合物 (药物活性成分等) 为探针, 在已建立的海量靶点信息数据库内筛选可能与其相结合的生物大分子, 借助空间结合以及能量兼容稳定性特征快速识别并形成分子复合物, 进而达到预测药物治疗潜在作用靶点的目的^[14]。目前, 有关热毒宁注射液、脑心通胶囊等^[15-16]主要活性成分的潜在作用靶点研究均表明该技术已经成为传统中医药与现代科学衔接过程中不可或缺的重要桥梁。

因此, 本研究在前期明确血必净注射液复杂化学成分组成的基础上^[17], 以其主要活性成分为研究对象, 运用反向分子对接技术模拟预测血必净注射液有效成分的作用靶点, 深入探讨血必净注射液治疗 ALI 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP,

<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>); ChemBio 3D Ultra 12.0 软件; PharmMapper 数据库 (<http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper/>); Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>); Online Mendelian Inheritance in Man database (OMIM, <http://www.omim.org/>); Therapeutic Target Database (TTD, <http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>); Disease Gene Search Engine (DigSee, <http://210.107.182.61/geneSearch/>); CooLGeN (<http://ci.smu.edu.cn/CooLGeN/Home.php>); DAVID 数据库 (<http://bioinfo.Capitalbio.com/mas3/>); KEGG 数据库 (<http://www.genome.jp/kegg/>); Cystoscope 3.5.1 软件。

1.2 血必净注射液主要活性成分筛选

本研究基于前期鉴定的 160 个血必净注射液化学成分^[17], 从中选取含量较大且具有重要药理活性的 38 个成分为对象进行研究, 其中包含酚酸类和其他成分 18 个 (没食子酸、5-羟甲基糠醛、苦参碱、丹参素钠、丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、川芎嗪、绿原酸、咖啡酸、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、迷迭香酸、西红花苷、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹皮酚、阿魏酸乙酯)、黄酮类成分 9 个 (儿茶素、芦丁、金丝桃苷、槲皮素、木犀草苷、木犀草素、柚皮素、芹菜素、山柰酚)、单萜类成分 4 个 (氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酰芍药苷)、内酯类成分 4 个 (洋川芎内酯 I、藁本内酯、丁烯基苯肽、欧当归内酯 A) 和菲醌类成分 3 个 (丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II_A)。

1.3 基于反向分子对接的药物潜在靶点预测

采用 ChemBio 3D Ultra 12.0 软件绘制血必净注射液 38 个活性成分的三维立体结构图, 并将其三维结构以 *.mol2 文件格式存储。登录 PharmMapper 数据库服务器, 上传血必净注射液 38 个活性成分的 *.mol2 格式文件, 采用反向分子对接方法^[18], 以匹配度 (normalization fit score) 大于 0.5 作为潜在作用靶点的搜寻条件, 得到虚拟筛选结果。具体参数

设置为 Generate Conformers: Yes; Maximum Generated Conformations: 100; Select Targets Set: Human Protein Targets Only (v2010, 2241); Number of Reserved Matched Targets (Max 1000): 300。此外, 由于筛选得到的药物靶点命名不规范, 因此本研究利用 UniProt 数据库中的 UniProtKB 搜索功能将所有检索得到的潜在靶点转换为规范名称。

1.4 血必净注射液抗 ALI 的关键靶点筛选

1.4.1 ALI 的相关疾病靶点筛选 通过挖掘文献数据和 OMIM、TTD、DigSee、CoolGen 多种数据库检索, 得到 ALI 的相关靶点。将反向预测得到的药物靶点信息与 ALI 疾病靶点信息进行比对分析。

1.4.2 基于药物和疾病靶点的蛋白互作网络 (protein protein interaction, PPI) 构建 根据“1.3”项下筛选到的药物潜在靶点和“1.4.1”项下得到的 ALI 相关靶点信息, 采用 Cytoscape 3.5.1 软件构建 PPI, 并整合提取其交集网络进行拓扑结构分析。以网络节点中的拓扑结构特征值“连接度 (degree)”为指标, 即选择 degree 大于其中位数值 2 倍以上的节点作为关键候选靶点; 提取分析这些候选节点网络关系, 计算每个节点的“连接度”“接近中心性 (closeness centrality, CC)”和“中介中心度 (betweenness centrality, BC)”共 3 个拓扑结构特征值并进行二次筛选, 最终选择以上 3 个特征值均大于其相应中位数的节点作为关键靶点。

1.5 靶点通路的注释和分析

通过 DAVID 数据库对上述预测得到的关键靶点信息进行 GO 富集分析和 KEGG 通路注释分析。血必净注射液药效成分对应的关键靶点 (基因) 直接映射到通路上, 而通过药物靶点富集得到的通路则是药物发挥主要调节作用的重要途径, 由此便可得到血必净注射液治疗 ALI 的相关生物学过程及代谢通路信息。

2 结果

2.1 血必净注射液活性成分潜在靶点预测

利用反向分子对接技术筛选出大量药物作用潜在靶点, 并根据匹配度将其由高到低进行排序, 删除重复后共得到 349 个匹配度大于 0.5 的潜在靶点, 其中 35 个作用靶点频率大于 25, 见表 1。通过频率发现, 血必净注射液的主要活性成分主要是作用于周期蛋白依赖激酶 2 (CDK2)、磷酸二酯酶 4B (PDE4B) 和碳酸酐酶 2 (CA2) 等靶点群来发挥其治疗作用。

2.2 血必净注射液治疗 ALI 的关键靶点筛选

本研究基于多个数据库及挖掘文献数据共搜寻到 ALI 相关靶点 341 个。将 341 个疾病相关靶点与反向分子对接的成分靶点进行比对, 共得到 8 个血必净注射液抗 ALI 的潜在作用靶点, 见表 2。

为了进一步揭示预测靶标抗 ALI 的潜在机制, 利用 Cytoscape 3.5.1 软件构建药物成分的 PPI 及疾病靶点的 PPI, 结果发现共有 7 577 个药物预测靶点及 7 101 个 ALI 治疗靶点具有蛋白-蛋白相互作用 (其中包括 4 659 个重叠靶点), 这意味着 61.49% 的药物靶点和 65.61% 的 ALI 治疗靶点具有直接或间接的相互作用。取 2 个蛋白互作网络的交集靶点并计算每个点的拓扑结构特征值, 得到整个网络节点“连接度”的中位数为 35, 因此选择“degree ≥ 70 ”的节点作为候选靶点 (大于等于 2 倍的中位数值), 共筛选到 1 119 个候选靶点; 接着对候选靶点的相互作用信息进行提取分析, 并以“连接度”“中介中心度”和“接近中心性”大于其相应中位数为筛选条件进一步选择合适的节点, 即 degree ≥ 112 , BC ≥ 18 114.120, CC ≥ 0.196 , 最终共得到血必净注射液治疗 ALI 的关键靶点 143 个 (图 1)。

2.3 核心靶点的 GO 富集分析及通路富集分析

2.3.1 核心靶点的 GO 富集分析 将血必净注射液抗 ALI 的交集网络中的 143 个关键靶点通过 DAVID 数据库进行 GO 富集分析, 即从生物过程、细胞组分和分子功能 3 个不同角度对基因功能进行注释。GO 富集分析 [$P < 0.05$, 错误发现率 (FDR) < 0.05] 结果显示, 血必净注射液活性成分预测的作用靶标基因主要富集在 71 个生物学过程、29 种细胞组分和 40 种分子功能。按照显著性由高到低进行排序, 图 2 列出了排序前 16 的生物过程富集结果, 图 3~4 分别列出了排序前 20 的细胞组分和分子功能富集结果。血必净注射液抗 ALI 的关键靶点的生物功能包括基因、蛋白及小分子代谢过程的调节和外部刺激反应的调节等; 这些靶点在细胞组分中与核质、胞核、细胞间黏连相关性最大; 在分子功能中与蛋白结合、酶结合相关性最大。

2.3.2 核心靶点的 KEGG 通路富集分析 将血必净注射液抗 ALI 的 143 个关键靶点通过 DAVID 数据库进行 KEGG 富集分析, 共得到 25 条具有显著意义的通路 ($P < 0.05$, FDR < 0.05), 见表 3, 通过剔除疾病、广义通路后, 最终发现与血必净注射液治疗 ALI 相关度最高的通路为 PI3K-Akt signaling

表 1 血必净注射液 38 个成分的潜在作用靶点 (出现频数 ≥ 25)Table 1 Predicted targets of 38 components of Xuebijing Injection (frequency ≥ 25)

序号	靶点名称	基因名	Uniprot ID	频数
1	cyclin-dependent kinase 2	CDK2	P24941	36
2	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4B	PDE4B	Q07343	35
3	carbonic anhydrase 2	CA2	P00918	34
4	cyclin-A2	CCNA2	P20248	33
5	complement factor B	CFB	P00751	32
6	serine/threonine-protein kinase Chk1	CHEK1	O14757	32
7	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4D	PDE4D	Q08499	32
8	proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	SRC	P12931	32
9	aldose reductase	AKR1B1	P15121	30
10	cholinesterase	BCHE	P06276	29
11	epidermal growth factor receptor	EGFR	P00533	29
12	ephrin type-B receptor 4	EPHB4	P54760	29
13	estrogen receptor	ESR1	P03372	29
14	prothrombin	F2	P00734	29
15	beta-secretase 1	BACE1	P56817	28
16	mitogen-activated protein kinase 10	MAPK10	P53779	28
17	3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1	PDPK1	O15530	28
18	angiotensinogen	ANG	P01019	27
19	cyclin-dependent kinase 6	CDK6	Q00534	27
20	alpha-amylase 1	AMY1A	P04745	27
21	serine/threonine-protein kinase pim-1	PIM1	P11309	27
22	progesterone receptor	PGR	P06401	27
23	mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14	Q16539	27
24	androgen receptor	AR	P10275	26
25	dipeptidyl peptidase 4	DPP4	P27487	26
26	macrophage migration inhibitory factor	MIF	P14174	26
27	stromelysin-1	MMP3	P08254	26
28	nitric oxide synthase, endothelial	NOS3	P29474	26
29	phenylalanine-4-hydroxylase	PAH	P00439	26
30	amine oxidase [flavin-containing] B	MAOB	P27338	25
31	mitogen-activated protein kinase 8	MAPK8	P45983	25
32	cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha	PRKACA	P17612	25
33	purine nucleoside phosphorylase	PNP	P00491	25
34	tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	PTPN1	P18031	25
35	transthyretin	TTR	P02766	25

表 2 血必净注射液治疗 ALI 的潜在作用靶点

Table 2 Potential direct action targets of anti-acute lung injury of Xuebijing Injection

序号	靶蛋白	靶基因	Unipro ID
1	dihydrofolate reductase	DHFR	P00374
2	complement factor B	CFB	P00751
3	activated CDC42 kinase 1	TNK2	Q07912
4	intercellular adhesion molecule 2	ICAM2	P13598
5	triggering receptor expressed on myeloid cells 1	TREM1	Q9NP99
6	leukotriene A-4 hydrolase	LTA4H	P09960
7	histamine N-methyltransferase	HNMT	P50135
8	protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2	TGM2	P21980

pathway、MAPK signaling pathway 和 focal adhesion 等通路。

为进一步探索血必净注射液抗 ALI 靶点在 PI3K-Akt 信号通路中的相互关系, 将相关靶点映射到该通路中 (图 5), 发现共有 23 个候选靶标参与到该通路过程中。该通路炎症反应关系密切, 血必净注射液可能是通过血清-糖皮质激素诱导型蛋白激酶 1 (serum and glucocorticoid-induced kinase-1, SGK1)、蛋白激酶 B (Akt) 等靶点来激活 PI3K-Akt 信号通路从而发挥抗 ALI 作用。已有相关研究^[19]发现激活的 PI3K/Akt 信号通路是通过 SGK1 促进肺泡上皮细胞钠离子通道 (alveolar epithelial sodium channel, ENaC) 的表达, 进而发挥肺保护作用。

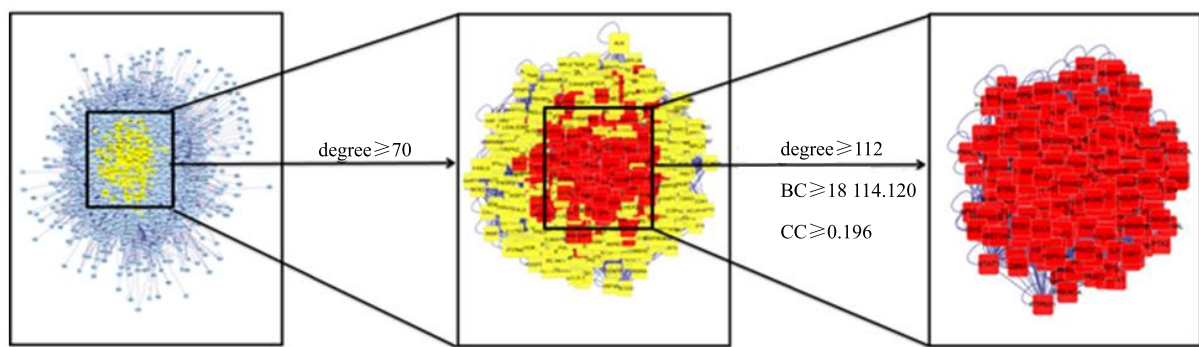


图 1 血必净注射液抗 ALI 的关键靶点筛选

Fig. 1 Screening of key targets of Xuebijing Injection against ALI

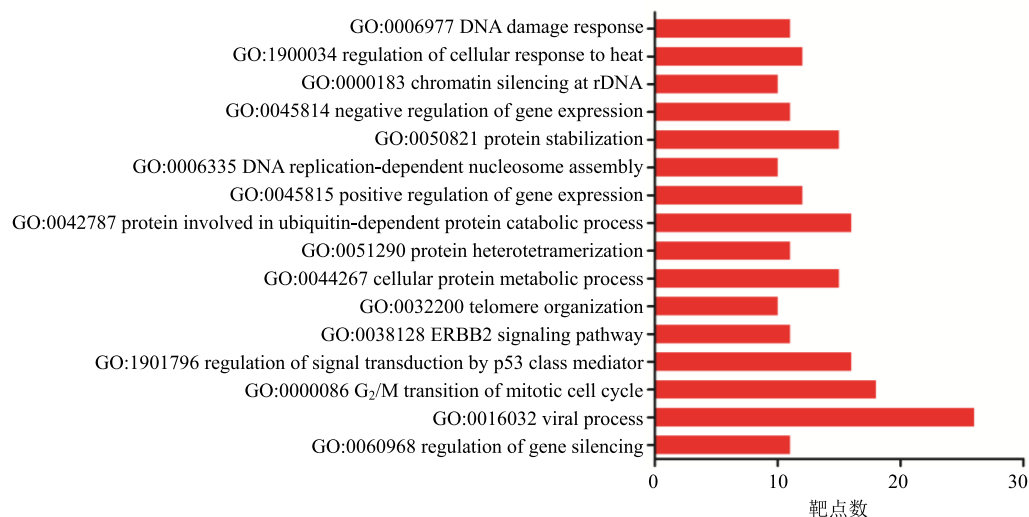


图 2 GO 富集分析的生物过程结果

Fig. 2 Biological process results of GO enrichment analysis

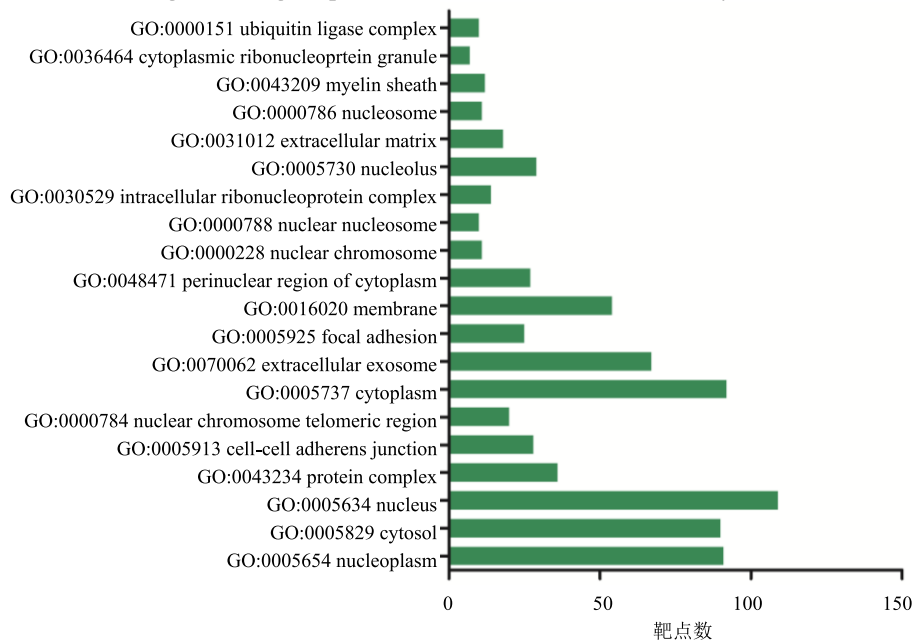


图 3 GO 富集分析的细胞组分结果

Fig. 3 Cellular component results of GO enrichment analysis

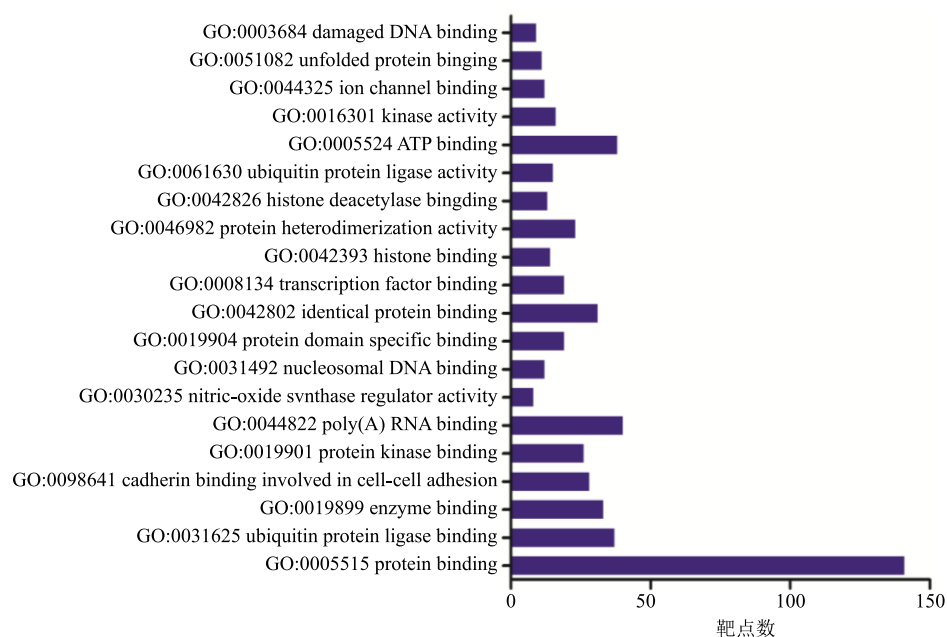


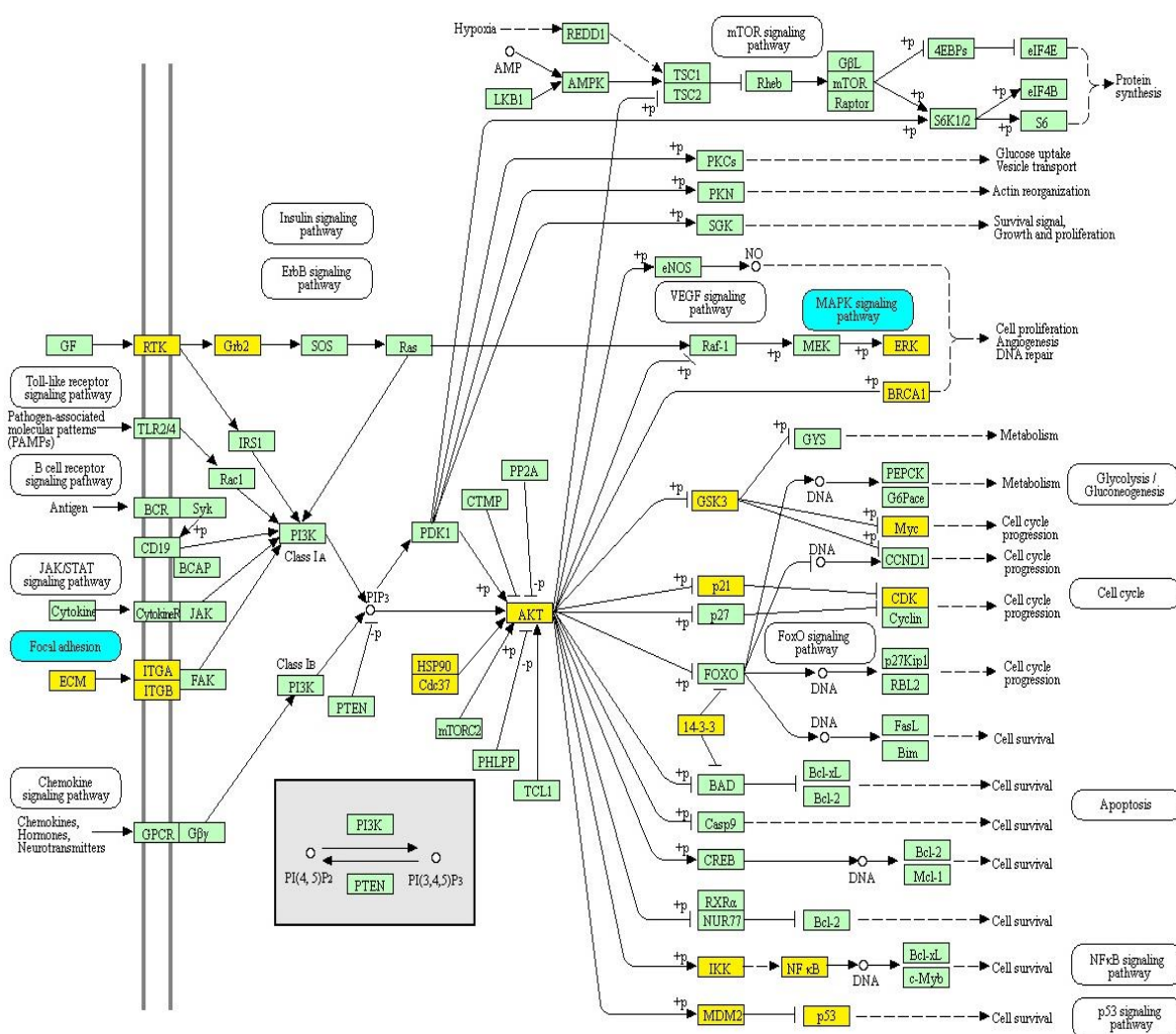
图 4 GO 富集分析的分子功能结果

Fig. 4 Molecular function results of GO enrichment analysis

表 3 KEGG 富集分析显著的 25 条通路

Table 3 Most significant 25 pathways in KEGG enrichment analysis

GO 编号	名称	基因数	P 值	错误发现率
hsa05200	pathways in cancer	28	8.74×10^{-10}	1.08×10^{-6}
hsa05169	epstein-barr virus infection	28	1.52×10^{-17}	1.87×10^{-14}
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	23	1.54×10^{-7}	1.90×10^{-4}
hsa05203	viral carcinogenesis	23	7.87×10^{-12}	9.70×10^{-9}
hsa04110	cell cycle	23	1.66×10^{-16}	1.33×10^{-13}
hsa05034	alcoholism	22	3.52×10^{-12}	4.34×10^{-9}
hsa05202	transcriptional misregulation in cancer	20	9.79×10^{-11}	1.21×10^{-7}
hsa04010	MAPK signaling pathway	19	5.43×10^{-7}	6.70×10^{-4}
hsa05205	proteoglycans in cancer	19	1.31×10^{-8}	1.62×10^{-5}
hsa04114	oocyte meiosis	18	5.59×10^{-12}	6.90×10^{-9}
hsa04510:	focal adhesion	17	6.89×10^{-7}	8.50×10^{-4}
hsa05161	hepatitis	17	4.82×10^{-9}	5.95×10^{-6}
hsa04120	ubiquitin mediated proteolysis	16	1.69×10^{-8}	2.08×10^{-5}
hsa04722	neurotrophin signaling pathway	16	2.66×10^{-9}	3.27×10^{-6}
hsa04915	estrogen signaling pathway	16	1.66×10^{-10}	2.04×10^{-7}
hsa05215	prostate cancer	16	2.88×10^{-11}	3.55×10^{-8}
hsa05168	herpes simplex infection	15	4.32×10^{-6}	5.33×10^{-3}
hsa04390	hippo signaling pathway	14	2.63×10^{-6}	3.23×10^{-3}
hsa05220	chronic myeloid leukemia	13	4.03×10^{-9}	4.97×10^{-6}
hsa04919	thyroid hormone signaling pathway	12	5.37×10^{-6}	6.62×10^{-3}
hsa04012	ErbB signaling pathway	12	3.52×10^{-7}	4.33×10^{-4}
hsa05214	glioma	11	1.87×10^{-7}	2.31×10^{-4}
hsa04520	adherens junction	10	4.21×10^{-6}	5.19×10^{-3}
hsa05210	colorectal cancer	9	1.29×10^{-5}	0.16×10^{-3}
hsa05213	endometrial cancer	8	3.46×10^{-5}	0.43×10^{-3}



黄色-血必净注射液抗 ALI 的潜在靶点
yellow-the potential targets of Xuebijing injection against ALI

图 5 PI3K-Akt 信号通路图

Fig. 5 PI3K-Akt signaling pathway map

3 讨论

传统中药复方作用机制的研究一般是针对某一靶点和通路，通过实验手段逐一筛选药物作用靶点存在盲目主观、效率低等不足，且脱离中医药“君臣佐使”的指导理论，导致中药整体调节作用很难在单一机制的分子水平上得以诠释。因此，阐述中药复方的作用机制需从整体上把握网络平衡和网络扰动。本研究基于网络药理学对中药复方进行深入研究，打破“一个药物一个靶标”的传统研究理念，为临床上研究中药多靶点、多通路提供重要的借鉴思路。同时，本研究采用网络服务器 PharmMapper 基于反向分子对接预测药物潜在靶点，而

PharmMapper 是通过检索 Targetbank、Drugbank、Binding DB 和 PDTD 数据库进行靶点搜索，相比于以往通过分子二维结构相似性寻找靶点更具科学性、准确性和实用性。

本研究预测得到的 MAPK、PI3K/Akt 及 focal adhesion 通路与已有文献报道吻合，证实了本实验预测的准确性。以往研究发现激活的 PI3K/Akt 信号通路对肺损伤动物模型具有保护作用^[20-21]，同时大量研究发现 MAPK 通路炎症反应关系密切，能够对脂多糖诱导的炎症因子的表达起调节作用^[22]。本研究发现，血必净注射液抗 ALI 可能是作用于靶点细胞外调节蛋白激酶（ERK）而发挥抗炎作用。此

外,也有研究发现 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)能够持续激活炎症因子的表达,Liu 等^[23]发现血必净注射液是通过下调 p38MAPK 的表达来保护百枯草所致的 ALI。而血必净注射液对于 ALI 的保护作用则有待进一步研究,但靶点 ERK 及 p38MAPK 都极具研究价值,可在后期相关探索中重点关注。

细胞外基质(ECM)是组织形态修复的关键调节分子,组织损伤常涉及到成纤维细胞与 ECM 的黏附能力^[24]。血必净注射液可能通过影响 focal adhesion 通路中的 ECM 而发挥肺保护作用。黏着斑激酶(FAK)是介导 ECM 与细胞之间黏附的重要调节分子,大量研究表明 FAK 在 ALI 发生时与组织纤维化和炎症反应的发生发展有密切联系^[25-26],研究发现肺组织中 FAK 的激活可通过细胞内复杂的级联放大反应改变内皮骨架和黏附连接,进而促进炎症因子的释放。故血必净注射液可能是通过作用于 ECM、FAK 等关键分子来发挥肺保护作用。

综上所述,血必净注射液可能是通过参与基因调控、蛋白合成、炎症反应等过程改善肺损伤状况;调控 MAPK、PI3K/Akt 及 focal adhesion 等信号通路发挥抗 ALI 作用。本研究基于反向分子对接来预测药物潜在的靶点,通过构建 PPI 网络进行拓扑分析,筛选关键靶点,进而对靶点进行富集分析,找到潜在的通路,揭示了血必净注射液“多成分-多靶点-多通路”协同抗 ALI 的作用特点,同时为其后期药理研究奠定了更加坚实的理论基础和科学依据。

参考文献

- [1] Shi H, Hong Y, Qian J, *et al.* Xuebijing in the treatment of patients with sepsis [J]. *Am J Emerg Med*, 2017, 35(2): 285-291.
- [2] Wang L, Liu Z, Dong Z, *et al.* Effects of Xuebijing injection on microcirculation in septic shock [J]. *J Surg Res*, 2016, 202(1): 147-154.
- [3] Mingli J I, Wang Y, Wang L, *et al.* Protective effect of Xuebijing injection against acute lung injury induced by left ventricular ischemia/reperfusion in rabbits [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(1): 51-58.
- [4] 蒙素丹, 谢 斌. 血必净注射液联合利奈唑胺治疗重症肺炎的疗效观察 [J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(3): 518-522.
- [5] Wang Q, Wu X, Tong X, *et al.* Xuebijing ameliorates sepsis-induced lung injury by downregulating HMGB1 and RAGE expressions in mice [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2015(264): 860259.
- [6] Liu M, Wang Y, Qian C, *et al.* Xuebijing exerts protective effects on lung permeability leakage and lung injury by upregulating Toll-interacting protein expression in rats with sepsis [J]. *Inter J Mol Med*, 2014, 34(6): 1492-1504.
- [7] Shao L I, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(2): 110-120.
- [8] Ma Y M, Zhang X Z, Su Z Z, *et al.* Insight into the molecular mechanism of a herbal injection by integrating network pharmacology and *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, doi: 10.1016/j.jep.2015.07.016.
- [9] 李泮霖, 苏薇薇. 网络药理学在中药研究中的最新应用进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(16): 2938-2942.
- [10] Zhang Y, Mao X, Su J, *et al.* A network pharmacology-based strategy deciphers the underlying molecular mechanisms of Qixuehe Capsule in the treatment of menstrual disorders [J]. *Chin Med*, 2017, doi: 10.1186/s13020-017-0145-x.
- [11] 董亚楠, 韩彦琪, 王 磊, 等. 基于网络药理学的六经头痛片治疗偏头痛的作用机制探讨 [J]. *中草药*, 2017, 48(20): 4174-4180.
- [12] Lee A, Lee K, Kim D. Using reverse docking for target identification and its applications for drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Dis*, 2016, 11(7): 707-715.
- [13] Bhattacharjee B, Vijayasarathy S, Karunakar P, *et al.* Comparative reverse screening approach to identify potential anti-neoplastic targets of saffron functional components and binding mode [J]. *Asian Pac J Cancer P*, 2012, 13(11): 5605-5611.
- [14] Kharkar P S, Warriar S, Gaud R S. Reverse docking: a powerful tool for drug repositioning and drug rescue [J]. *Future Med Chem*, 2014, 6(3): 333-342.
- [15] Zhang X Z, Gu J Y, Cao L, *et al.* Network pharmacology study on the mechanism of traditional Chinese medicine for upper respiratory tract infection [J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(10): 2517-2525.
- [16] Ma X H, Lv B, Jiang X Q, *et al.* Identification of “multiple components-multiple targets-multiple pathways” associated with Naixintong Capsule in the treatment of heart diseases using UPLC/Q-TOF-MS and network pharmacology [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2016(12): 9468087.
- [17] Sun Z, Zuo L H, Sun T W, *et al.* Chemical profiling and quantification of XueBiJing injection, a systematic quality control strategy using UHPLC-Q exactive hybrid quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. *Sci Rep*, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-17170-y.

- [18] Xia W, Yi H S, Shi W W, *et al.* PharmMapper 2017 update: A web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database [J]. *Nucl Acid Res*, 2017, 45(W1): W356-W360.
- [19] Di Q, Jing H, Wang D, *et al.* 17 β -estradiol suppresses lipopolysaccharide-induced acute lung injury through PI3K/Akt/SGK1 mediated up-regulation of epithelial sodium channel (ENaC) *in vivo* and *in vitro* [J]. *Resp Res*, 2014, 15(159): 1-12.
- [20] Deng W, Li C Y, Tong J, *et al.* Regulation of ENaC-mediated alveolar fluid clearance by insulin via PI3K/Akt pathway in LPS-induced acute lung injury [J]. *Resp Res*, 2012, 13(1): 29-44.
- [21] Zhao Y R, Wang D, Liu Y, *et al.* The PI3K/Akt, p38MAPK, and JAK2/STAT3 signaling pathways mediate the protection of SO₂, against acute lung injury induced by limb ischemia/reperfusion in rats [J]. *J Physiol Sci*, 2016, 66(3): 229-239.
- [22] Chi G, Wei M, Xie X, *et al.* Suppression of MAPK and NF-kappa B pathways by limonene contributes to attenuation of lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in acute lung injury [J]. *Inflammation*, 2013, 36(2): 501-511.
- [23] Liu M W, Su M X, Zhang W, *et al.* Protective effect of Xuebijing injection on paraquat-induced pulmonary injury via down-regulating the expression of p38 MAPK in rats [J]. *BMC Complem Altern M*, 2014, 14(1): 498-512.
- [24] Petroni R C, Teodoro W R, Guido M C, *et al.* Role of focal adhesion kinase in lung remodeling of endotoxemic rats [J]. *Shock*, 2012, 37(5): 524-530.
- [25] 刘名倬, 朱 峰, 郭光华. 黏着斑激酶在急性肺损伤中的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2013, 25(8): 506-508.
- [26] Mehta D. Focal adhesion kinase regulation of endothelial barrier function, apoptosis, and neovascularization [J]. *Microvasc Res*, 2012, 83(1): 1-2.