

## 基于网络药理学的疏风解毒胶囊抗炎和免疫调节作用机制研究

韩彦琪<sup>1,2</sup>, 董亚楠<sup>3#</sup>, 许浚<sup>1,2</sup>, 龚苏晓<sup>1,2</sup>, 张洪兵<sup>1,2</sup>, 潘君<sup>4</sup>, 丁连峰<sup>4</sup>, 张铁军<sup>1,2\*</sup>, 刘昌孝<sup>2,5\*</sup>

1. 天津药物研究院, 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300193

2. 天津药物研究院, 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300193

3. 银川市中医医院, 宁夏 银川 750001

4. 安徽济人药业有限公司, 安徽 亳州 236800

5. 天津药物研究院 新药评价中心, 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

**摘要:** **目的** 探索疏风解毒胶囊抗炎和免疫调节的网络调控机制。**方法** 选取疏风解毒胶囊中的 28 个化合物为研究对象, 依据反向药效团匹配方法预测化合物的作用靶点, 借助 MAS 3.0 生物分子功能软件及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库对获得靶点进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析、信号通路分析, 利用 Cytoscape 软件构建网络药理图。**结果** 28 个化合物可通过 127 个靶点作用于 112 条通路, 其中 41 个蛋白靶点和 22 条通路与抗炎和免疫调节相关, 得到疏风解毒胶囊化合物-靶点-通路-病理过程网络图。**结论** 疏风解毒胶囊通过作用于 HRAS、MAP2K1、AKT1、MME 和 PTPN1 等关键蛋白, 干预了多个与抗炎和免疫调节相关的生物过程, 初步揭示了其作用机制。

**关键词:** 疏风解毒胶囊; 网络药理学; 作用机制; 抗炎; 免疫调节

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)15-3555-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.15.006

## Study on mechanism of anti-inflammation and immunoregulation of Shufeng Jiedu Capsule based on network pharmacology

HAN Yan-qi<sup>1,2</sup>, DONG Ya-nan<sup>3</sup>, XU Jun<sup>1,2</sup>, GONG Su-xiao<sup>1,2</sup>, ZHANG Hong-bing<sup>1,2</sup>, PAN Jun<sup>4</sup>, DING Lian-feng<sup>4</sup>, ZHANG Tie-jun<sup>1,2</sup>, LIU Chang-xiao<sup>2,5</sup>

1. National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750001, China

4. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

5. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Center for New Drug Evaluation and Research, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To explore the network regulation mechanism of anti-inflammation and immunoregulation of Shufeng Jiedu Capsule (SJC). **Methods** Targets of the 28 compounds in SJC were predicted according to the reverse pharmacophore method. Gene ontology (GO) function enrichment and pathway analysis of the targets were analyzed by MAS 3.0 software and Kyoto Gene and Genome Encyclopedia (KEGG) database. Finally, Cytoscape software was used to construct the network pharmacology map. **Results** A total of 28 compounds affected 112 pathways through 127 targets, of which 41 targets and 22 pathways were associated with anti-inflammation and immunoregulation. The network of compound-target-pathway-pathology process was also constructed. **Conclusion** SJC interferes with multiple biological processes related to anti-inflammation and immunoregulation by acting on several key proteins such as HRAS,

收稿日期: 2018-10-15

基金项目: 国家中药标准化专项资助 (ZYBZH-C-AH-02); 国家自然科学基金资助项目 (81430096); 国家自然科学基金资助项目 (81703802)

作者简介: 韩彦琪, 女, 助理研究员。Tel: (022)23003935 E-mail: hanyq@tjipr.com

\*通信作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: zhangtj@tjipr.com

刘昌孝, 中国工程院院士。E-mail: liucx@tjipr.com

#并列第一作者 董亚楠, 女, 硕士研究生。Tel: 18595155033 E-mail: 976747581@qq.com

MAP2K1, AKT1, MME, and PTPN1. The mechanism of SJC was preliminarily revealed.

**Key words:** Shufeng Jiedu Capsule; network pharmacology; mechanism; anti-inflammation; immunoregulation

疏风解毒胶囊是由虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草 8 味中药组成的复方制剂，具有疏风清热、解毒利咽之功，临床上常用于治疗急性上呼吸道感染属风热证。上呼吸道感染通常是指由病毒和细菌感染引起的鼻腔、咽喉以及鼻窦等部位的呼吸道黏膜急性炎症的总称<sup>[1]</sup>，上呼吸道黏膜的炎症介质种类繁多，功能复杂，在各种上呼吸道疾病的发生、发展过程中起着重要作用。既往药理研究表明，疏风解毒胶囊有显著的抗炎及免疫调节作用，陶振钢等<sup>[2]</sup>发现疏风解毒胶囊可通过抑制丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）/核转录因子- $\kappa$ B（NF- $\kappa$ B）信号通路、下调 NF- $\kappa$ B mRNA 的表达来抑制脂多糖（LPS）诱导的小鼠炎症反应；并且可通过影响小鼠免疫功能，改善流感病毒 H1N1 引起的小鼠肺炎症状，降低 H1N1 感染小鼠的肺指数，对病毒性感冒有较好的治疗效果<sup>[3]</sup>。

网络药理学是以系统生物学和多向药理学为理论基础的研究方法，通过构建药物、靶点、通路、疾病之间的复杂网络来探讨药物的作用机制。特别适宜于研究中药多成分、多靶点的作用关系，有利于揭示中药成分的复杂作用机制<sup>[4-6]</sup>。因此，本研究利用网络药理学的手段<sup>[7-9]</sup>，对疏风解毒胶囊中多个化合物进行了作用靶点和通路的预测，通过构建化合物-靶点-通路-病理过程网络来探讨疏风解毒胶囊治疗上呼吸道感染的抗炎和免疫调节作用机制。

## 1 材料

PharmMapper 服务器（<http://59.78.95.61/pharmmapper/>）；UniProt 数据库（<http://www.uniprot.org/>）；DrugBank 数据库（<http://www.drugbank.ca/>，Version 5.0）；Herbal Ingredients Targets Database (HIT, <http://lifecenter.sgst.cn/hit/welcome.html>)；Therapeutic Target Database (TTD, <http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)；生物分子功能注释系统 (MAS 3.0) 数据库（<http://bioinfo.capitalbio.com/mas3/analysis/>）；京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路数据库（<http://www.genome.jp/kegg/>）；ChemBio Office 2010；Cytoscape 3.3 软件。

## 2 方法

### 2.1 目标化合物的选取

本课题组前期采用 HPLC-Q/TOF MS 方法鉴定

出疏风解毒胶囊的 94 个化学成分，并进一步通过血清药物化学方法明确了其入血成分<sup>[10]</sup>。本研究根据各味药材的主要化学成分及入血成分，综合选取了 28 个关键化合物为研究对象。

### 2.2 潜在作用靶点预测及筛选

使用 ChemBioOffice 2010 软件绘制 28 个化合物的结构式，将化合物三维立体结构导入 Pharm Mapper 反向分子对接网站，进行药物分子的体内靶点预测，再通过 HIT、TTD 数据库对反向预测获得的靶点与抗炎、免疫进行相关筛选与验证。将得到的靶点投入 UniProt 数据库，得到所有靶点的对应编号。

### 2.3 生物信息学分析

利用 MAS 3.0 数据库将上述获取的所有靶点进行生物信息学在线分析。（1）基因本体论（GO）分析：基于 Gene Ontology 数据库，对筛选得到的靶点进行 GO 注释，并计算每条 GO term 的显著性水平（ $P$  值）。以  $P < 0.01$  为标准筛选出显著性富集的 GO term；（2）通路分析：基于 KEGG 数据库进行通路注释，得到靶点所参与的所有的通路以及每条通路的  $P$  值。以  $P < 0.01$  为标准筛选显著性通路。再通过 KEGG、DrugBank、HIT 等数据库及相关文献的查阅对通路进行分析整合，得到与抗炎和免疫调节相关的通路。

### 2.4 网络构建

根据上述疏风解毒胶囊 28 个化学成分的靶点及通路预测结果，在 Excel 表格中建立结构类型-化合物、化合物-靶点、靶点-通路、通路-病理过程的相互对应关系，然后导入 Cytoscape 3.3 软件中构建网络，并运用其插件 Network Analyzer 计算网络的特征。网络中节点（node）表示化学结构类型、化合物、靶点以及作用通路、病理过程。边（edge）表示化合物-靶点以及靶点-病理过程相互作用。经处理后，得到 28 个成分的相关靶点、通路预测图，以该图来表示疏风解毒胶囊化学成分-体内靶点-作用通路-病理过程之间的相互关系。

## 3 结果

### 3.1 目标化合物的选取

基于前期实验结果，选取了疏风解毒胶囊中发挥抗炎和免疫调节作用的 28 个关键化合物为研究对象，见表 1。

表 1 疏风解毒胶囊中发挥抗炎和免疫调节作用的 28 个关键化合物信息

Table 1 Information of 28 key compounds that exert anti-inflammatory and immunoregulation effects in SJC

结构类型	化合物	分子式	相对分子质量	来源
生物碱	表告依春 (epigoitrin)	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NOS	129.18	2、3
	3-(2'-羟基苯)-4(3H)喹唑酮 [3-(2'-hydroxyphenyl)-4(3H)-quinazolinone]	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	238.07	3
	羟基靛玉红 (hydroxyindirubin)	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	278.07	
核苷类	腺苷 (adenosine)	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	267.24	3
	尿苷 (uridine)	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	244.20	
二苯乙烯类	白藜芦醇 (resveratrol)	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	228.24	1
	虎杖苷 (polydatin)	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>	390.38	
蒽醌类	大黄素 (emodin)	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270.24	1
	大黄酸 (physcion)	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	284.26	1、7
黄酮类	芦丁 (rutin)	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	610.52	1、2、4
	甘草苷 (liquiritin)	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	418.40	8
	异甘草素 (isoliquiritigenin)	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	256.25	
	7-甲氧基异鼠李素 (7-methoxyisohamnetin)	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330.07	4
	山柰素-3-O-葡萄糖 (kaempferide-3-O-rhamnoside)	C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>11</sub>	464.23	5
	芹菜素 (apigenin)	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270.24	6
三萜皂苷类	甘草酸 (glycyrrhizic acid)	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	822.40	5、8
	甘草次酸 (glycyrrhetic acid)	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	470.68	8
	齐墩果酸 (oleanolic acid)	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	456.71	5
	柴胡皂苷 A (saikosaponin A)	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>13</sub>	780.98	4
苯乙醇苷类	连翘酯苷 A (forsythoside A)	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	624.59	2
	毛蕊花糖苷 (verbascoside)	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	624.59	2、6
木脂素类	连翘脂素 (phillygenin)	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	624.59	2
	连翘苷 (phillyrin)	C <sub>27</sub> H <sub>34</sub> O <sub>11</sub>	534.55	
环烯醚萜类	二氢败酱苷 (dihydro patrinoside)	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>11</sub>	464.23	5
	马鞭草苷 (verbenalin)	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	388.37	6
酚酸	咖啡酸 (cafferic acid)	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	180.16	7
	绿原酸 (chlorogenic acid)	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	354.31	4
香豆素	甘草宁 N (gancaonin N)	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	320.16	8

1-虎杖 2-连翘 3-板蓝根 4-柴胡 5-败酱草 6-马鞭草 7-芦根 8-甘草

1-*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 2-*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 3-*Isatis indigotica* Fort. 4-*Bupleurum chinense* DC. 5-*Patrinia scabiosaefolia* Fisch. ex Trev. 6-*Verbena officinalis* L. 7-*Phragmites communis* Trin. 8-*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.

### 3.2 网络拓扑学属性分析

对疏风解毒胶囊化合物-靶蛋白-通路-病理过程网络的拓扑属性分析发现,该网络有 10 712 条边,且构建网络的节点度分布服从幂分布 [ $P(k)=11.228 \times k^{-0.598}$ ,  $R^2=0.49$ ],表明疏风解毒胶囊网络为无标度网络。特征路径长度 3.022,即网络路径长度为 3 步,大多数蛋白的联系非常密切,表明该网络具有较快的传播速度和较小的反应时间,具有小世界性质。网络异质性为 0.526,平均相邻节点数目 5.923,

网络中心度 0.120。提示疏风解毒胶囊网络具有无标度、小范围的体系结构。

### 3.3 化合物潜在作用靶点分析

通过反向分子对接实验,预测出 28 个化合物的作用靶标为 127 个,其中 41 个蛋白靶点与抗炎、免疫调节相关(表 2)。利用 Cytoscape 软件的 Network Analyzer 插件计算网络节点的连接度 (degree) 和介数 (betweenness centrality)。在生物系统中,度和介数较高的蛋白通常较为重要,对其阻断将会破

表 2 28 个关键化合物的 41 个相关靶蛋白信息

Table 2 Forty-one related targets information of 28 key compounds

蛋白缩写	蛋白	度	介数
HRAS	GTPase HRas	108	0.078 47
MAP2K1	dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1	54	0.049 30
AKT1	RAC- $\alpha$ serine/threonine-protein kinase	40	0.046 85
MME	neprilysin	40	0.069 99
PTPN1	tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	34	0.159 18
FGFR1	fibroblast growth factor receptor 1	32	0.039 25
KDR	vascular endothelial growth factor receptor 2	30	0.030 71
MET	hepatocyte growth factor receptor	30	0.023 60
SRC	proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	30	0.020 53
PDPK1	3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1	24	0.022 46
MAPK10	mitogen-activated protein kinase 10	24	0.019 52
BTK	tyrosine-protein kinase BTK	24	0.020 60
PLA2G2A	phospholipase A2, membrane associated	16	0.015 65
INSR	insulin receptor	16	0.024 99
AKR1C3	aldo-keto reductase family 1 member C3	14	0.018 42
F7	coagulation factor VII	14	0.035 61
TAP1	antigen peptide transporter 1	12	0.012 12
MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14	12	0.016 81
EIF4E	eukaryotic translation initiation factor 4E	10	0.018 60
BRAF	serine/threonine-protein kinase B-raf	8	0.006 65
HSP90AA1	heat shock protein HSP 90- $\alpha$	8	0.012 62
PCK1	phosphoenolpyruvate carboxykinase, cytosolic [GTP]	8	0.010 71
PTGDS2	hematopoietic prostaglandin D synthase	8	0.014 44
RXRA	retinoic acid receptor RXR- $\alpha$	8	0.009 27
HGF	hepatocyte growth factor	8	0.003 64
RXRB	retinoic acid receptor RXR- $\beta$	8	0.013 00
FABP3	fatty acid-binding protein, heart	6	0.008 82
FABP7	fatty acid-binding protein, brain	6	0.005 61
LCK	tyrosine-protein kinase Lck	6	0.004 99
PPP1CC	serine/threonine-protein phosphatase PP1- $\gamma$ catalytic subunit	6	0.004 81
CYP2C9	cytochrome P450 2C9	6	0.005 30
ACE	angiotensin-converting enzyme	4	0.004 32
CBR1	carbonyl reductase [NADPH] 1	4	0.003 01
FGG	fibrinogen gamma chain	4	0.006 00
KIT	mast/stem cell growth factor receptor Kit	4	0.002 38
LTA4H	leukotriene A-4 hydrolase	4	0.002 80
PIM1	serine/threonine-protein kinase pim-1	4	0.003 90
CTSG	cathepsin G	2	0.001 80
FGF1	fibroblast growth factor 1	2	0.000 59
REN	renin	2	0.000 92
CYP2C8	cytochrome P450 2C8	2	0.000 69

坏系统的稳定性。在疏风解毒胶囊的网络中度和介数较高的 GTPase HRas (HRAS)、双重特异性丝裂原活化蛋白激酶激酶 1 (MAP2K1)、RAC- $\alpha$  丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 (AKT1)、脑啡肽酶 (MME) 和蛋白酪氨酸磷酸酯酶非受体 1 型 (PTPN1) 既可作用于炎症通路, 又能参与免疫调节, 推测这 5 个蛋白可能为疏风解毒胶囊发挥药效的重要作用靶点。

### 3.4 生物信息学分析结果

#### 3.4.1 GO 功能分析 基于 Gene ontology 数据库对

上述筛选的 41 个靶点蛋白进行 GO 功能注释, 得到 234 个生物过程, 主要涉及细胞过程、生理过程、生物调节、代谢及免疫反应等。其第一级子集比例分布图见图 1。通过对 GO 信息的进一步筛选分析得到与炎症、免疫调节相关的多个生物学过程 (表 3), 如蛋白氨基酸磷酸化、一氧化氮生物合成正调节、MAPK 信号通路激活、病毒转染宿主细胞、阳性调节 T 细胞受体信号通路、激活 T 细胞凋亡、炎症反应、花生四烯酸分泌等。

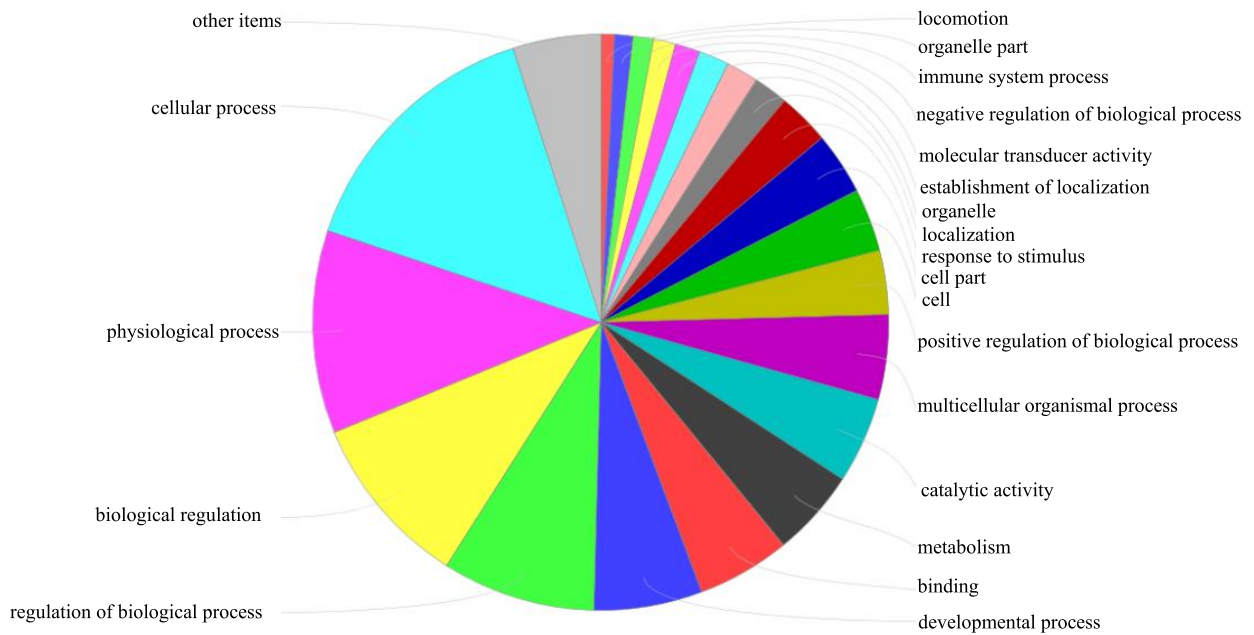


图 1 生物功能比例分布

Fig. 1 Proportional distribution of biological process

表 3 GO-生物过程分析

Table 3 GO-biological process

GO Term	生物过程	靶点数	P 值	蛋白
GO: 0006468	protein amino acid phosphorylation	8	$2.96 \times 10^{-14}$	MAP2K1、BRAF、FGFR1、KDR、BTK、MAPK10、MAPK14、PIM1
GO: 0006508	proteolysis	7	$6.30 \times 10^{-11}$	MME、F7、HGF、ACE、LTA4H、CTSG、REN
GO: 0046777	protein amino acid autophosphorylation	4	$9.85 \times 10^{-11}$	AKT1、INSR、MET、LCK
GO: 0018108	peptidyl-tyrosine phosphorylation	4	$2.59 \times 10^{-10}$	INSR、SRC、LCK、KIT
GO: 0007265	Ras protein signal transduction	5	$3.72 \times 10^{-10}$	HRAS、MAP2K1、SRC、MAPK14、LCK
GO: 0044419	interspecies interaction between organisms	5	$5.02 \times 10^{-10}$	KDR、SRC、EIF4E、RXRA、LCK
GO: 0045429	positive regulation of nitric oxide biosynthesis	3	$1.44 \times 10^{-9}$	AKT1、INSR、HSP90AA1
GO: 0032869	cellular response to insulin stimulus	3	$1.71 \times 10^{-9}$	AKT1、INSR、PDPK1
GO: 0048012	hepatocyte growth factor receptor signaling pathway	2	$1.50 \times 10^{-8}$	MET、HGF
GO: 0008286	insulin receptor signaling pathway	3	$2.02 \times 10^{-8}$	AKT1、INSR、PDPK1
GO: 0000187	activation of MAPK activity	3	$8.81 \times 10^{-8}$	INSR、MET、HGF
GO: 0051450	myoblast proliferation	2	$8.99 \times 10^{-8}$	MET、HGF
GO: 0032148	activation of protein kinase B	2	$1.50 \times 10^{-7}$	INSR、PDPK1
GO: 0007165	signal transduction	7	$3.09 \times 10^{-7}$	PTPN1、MAPK10、HSP90AA1、PTGDS2、FGG、KIT、FGF1
GO: 0055114	oxidation reduction	4	$1.08 \times 10^{-6}$	AKR1C3、CBR1、CYP2C9、CYP2C8

**3.4.2 通路分析** 通过 MAS 3.0、KEGG、DrugBank、HIT 数据库及相关文献的查阅,对计算出的 112 条通路进行综合分析,发现 22 条通路炎症及免疫调节相关(表 4)。其中与炎症相关通路 10 条,分别为 MAPK、过氧化物酶体增值体激活受体(PPAR)、花生四烯酸代谢(arachidonic acid

metabolism)、黏着斑(focal adhesion)信号通路、白细胞跨膜迁移、缝隙连接(gap junction)、黏着连接(adherens junction)、紧密连接(tight junction)、细胞因子-细胞因子-受体相互作用(cytokine-cytokine receptor interaction)、肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system)。

表 4 22 个相关通路信息

Table 4 Information of 22 related pathways

通路	度	介数	基因
adherens junction	82	0.015 35	INSR、PTPN1、SRC、MET、FGFR1
focal adhesion	74	0.054 94	PPP1CC、MAP2K1、SRC、MET、KDR、HRAS、PDPK1、HGF、AKT1、BRAF、MAPK10
VEGF signaling pathway	66	0.030 43	PLA2G2A、MAP2K1、SRC、KDR、HRAS、AKT1、MAPK14
Fc epsilon RI signaling pathway	63	0.027 15	PLA2G2A、MAP2K1、BTK、HRAS、AKT1、MAPK14、MAPK10
MAPK signaling pathway	54	0.039 88	PLA2G2A、MAP2K1、FGFR1、HRAS、FGF1、AKT1、BRAF、MAPK14、MAPK10
PPAR signaling pathway	44	0.029 69	RXRA、PCK1、PDPK1、RXRB、FABP3、FABP7
arachidonic acid metabolism	42	0.034 17	CYP2C9、PLA2G2A、AKR1C3、LTA4H、CBR1、PGDS、CYP2C8
mTOR signaling pathway	36	0.016 63	EIF4E、PDPK1、AKT1、BRAF
B cell receptor signaling pathway	30	0.007 23	MAP2K1、BTK、HRAS、AKT1
renin-angiotensin system	28	0.024 03	MME、ACE、CTSG、REN
Toll-like receptor signaling pathway	27	0.010 73	MAP2K1、AKT1、MAPK14、MAPK10
T cell receptor signaling pathway	26	0.013 70	MAP2K1、HRAS、AKT1、MAPK14、LCK
cytokine-cytokine receptor interaction	26	0.009 98	MET、KDR、HGF、KIT
gap junction	24	0.003 70	MAP2K1、SRC、HRAS
tight junction	22	0.003 14	SRC、HRAS、AKT1
hematopoietic cell lineage	22	0.008 55	MME、KIT
natural killer cell mediated cytotoxicity	22	0.009 66	MAP2K1、HRAS、BRAF、LCK
complement and coagulation cascades	18	0.005 91	F7、FGG、F2
primary immunodeficiency	16	0.005 81	TAP1、BTK、LCK
antigen processing and presentation	14	0.004 59	TAP1、HSP90AA1
JAK-STAT signaling pathway	12	0.007 99	PIM1、AKT1
leukocyte transendothelial migration	2	0.000 40	MAPK14

与免疫相关通路 7 条,分别为补体系统(complement and coagulation cascades)、自然杀伤(natural killer)、T 细胞受体(T cell receptor)、B 细胞受体(B cell receptor)、原发性免疫缺陷(primary immunodeficiency)、抗原加工与转运(antigen processing and presentation)信号通路、造血细胞谱系(hematopoietic cell lineage)。

与炎症及免疫均相关通路 5 条,分别为 Toll 样受体(Toll-like receptor)、血管内皮生长因子(VEGF)、Fc epsilon 受体 I(Fc epsilon I)、JAK-STAT 信号通路(JAK-STAT signaling pathway)、mTOR 信号转导通路(mTOR signaling pathway)。

### 3.5 网络构建与分析

利用 Cytoscape 软件得到疏风解毒胶囊结构类型-化合物-靶点-通路-病理过程的网络图(图 2)。通过对网络中各化合物作用通路具体信息分析,发现度和介数较高的化合物如核苷类腺苷、酚酸类咖啡酸、蒽醌类大黄素和大黄酸、环烯醚萜类马鞭草苷以及苯乙醇苷类毛蕊花糖苷、黄酮类甘草苷和 7-甲氧基鼠李素等都通过与相应的靶蛋白结合作用于炎症、免疫调节相关的信号通路,从而起到抗炎及免疫调节的作用。由此推测,来源于疏风解毒胶囊的各结构类型的化合物广泛作用于与炎症、免疫相关的靶点及通路,起到治疗上呼吸道感染的作用,

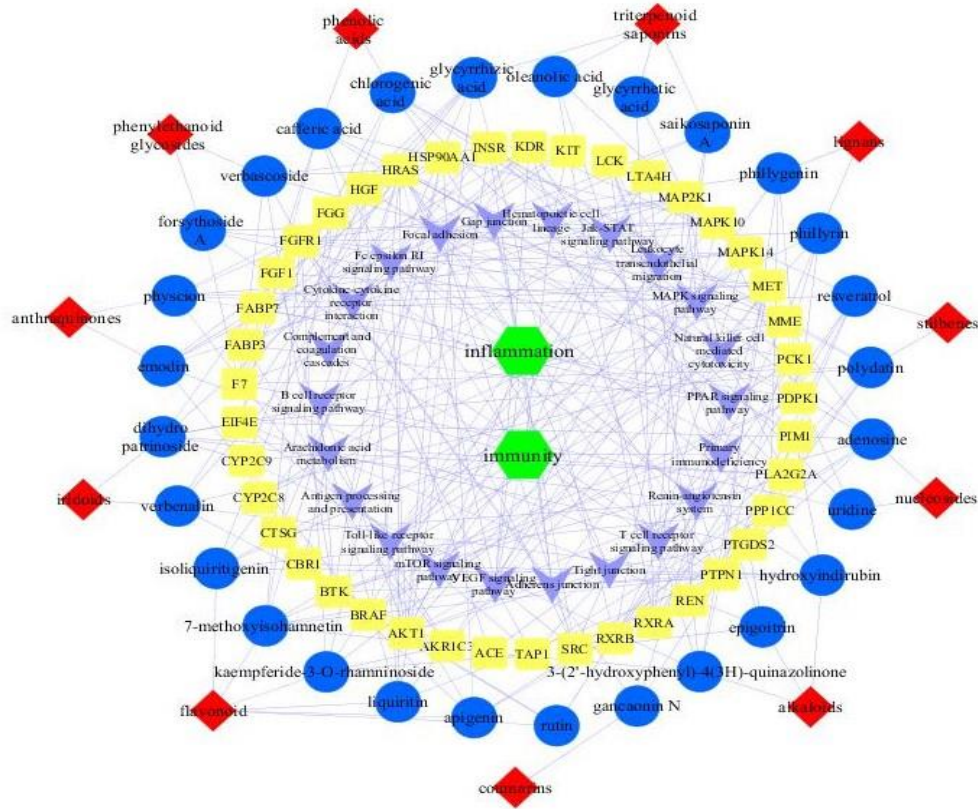


图 2 疏风解毒胶囊结构类型-化合物-靶点-通路-病理过程网络

Fig. 2 Structure type-compound-target-pathway-pathological process network of SJZ

揭示了疏风解毒胶囊的多成分、多靶点、多途径调节的作用特点。

#### 4 讨论

急性上呼吸道感染通常是由病毒和细菌感染引起，当外源性致热源（细菌、病毒、内毒素）作用于呼吸道黏膜后可刺激产生  $\gamma$  干扰素（IFN- $\gamma$ ）等炎性因子，其通过激活 JAK2 和下游的 STAT1、STAT3，活化 JAK-STAT 通路，增强诱导型一氧化氮合成酶（iNOS）的表达，使一氧化氮（NO）、肿瘤坏死因子- $\alpha$ （TNF- $\alpha$ ）、白细胞介素-1（IL-1）的产生增多，加重炎症反应<sup>[11]</sup>。同时，TNF- $\alpha$ 、IL-1 等炎症因子的增加将活化 B 细胞受体介导的免疫通路，产生黏膜相关的免疫球蛋白 IgA 及效应 T 细胞，伴随免疫球蛋白 IgA 依赖的 Fc epsilon RI、黏着斑信号的活化，进一步激活 MAPK 信号途径，从而引起一系列的炎症反应，诱发全身性免疫应答，持续的炎症刺激能诱导 VEGF 信号途径依赖的气道狭窄，导致气道重塑，而过氧化物酶体增殖剂激活受体（PPAR- $\alpha$ ）的激活可抑制 NF- $\kappa$ B 的激活和炎症基因的表达<sup>[12]</sup>。本研究的靶点预测及作用通路分析结果提示，疏风

解毒胶囊能通过作用于 HRAS、MAP2K1、蛋白激酶 B（AKT1）、磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1（PDK1）、MAPK10 等靶点来干预上述所有炎症、免疫相关通路，因此控制上述炎症及免疫途径在上呼吸道感染治疗中具有重要意义，也初步揭示了疏风解毒胶囊分子-靶点-通路的网络调控机制。

在炎症反应中花生四烯酸（AA）的氧化旁路起着关键的作用。细胞膜的磷脂在磷脂酶 A<sub>2</sub>（PLA<sub>2</sub>）的作用下生成花生四烯酸，花生四烯酸经环加氧酶（COX）途径和脂氧化酶（LOX）途径分别代谢产生前列腺素（PGs）、白三烯（LTs）等炎性递质。前列腺素 E<sub>2</sub>（PGE<sub>2</sub>）可作为前炎症因子调节炎症过程中免疫细胞的分化或上调细胞因子的表达，起到促进炎症发生的作用，并且可促进 T 细胞向 T 辅助细胞分化<sup>[13]</sup>。白三烯对嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、单核细胞等有极强的趋化作用，使这些炎症细胞聚集在炎症局部，释放炎症介质，诱导免疫系统产生瀑布式连锁反应<sup>[14]</sup>。通过分析本实验的网络药理结果发现，二氢藜芦苷、咖啡酸可以作用于靶蛋白磷脂酶 A<sub>2</sub>（PLA<sub>2G2A</sub>）来抑制花生四烯酸的合成，

进而减少炎症介质 PGE<sub>2</sub> 和白三烯的释放；甘草苷、大黄素、连翘苷、马鞭草苷、7-甲氧基异鼠李素等可与醛酮还原酶家族 1 亚家族 C 成员 3 (AKR1C3) 结合，二氢败酱苷、3-(2'羟基苯)-4(3H) 喹唑酮、咖啡酸可作用于细胞色素 P450 (CYP2C9)，从而多途径干预花生四烯酸的代谢；同时，3-(2'羟基苯)-4(3H) 喹唑酮、山柰酚-3-O-鼠李糖苷可以直接作用于白三烯 A4 水解酶 (LKHA4)，降低体内白三烯的含量。由此可见，通过疏风解毒胶囊中多个入血成分与 PLA2G2A、AKR1C3、CYP2C9 等多个相关蛋白的相互作用，影响了花生四烯酸的代谢，从而降低了体内 PGE<sub>2</sub>、白三烯等炎症因子含量。由此推测，花生四烯酸代谢途径可能为疏风解毒胶囊发挥抗炎、调节免疫的重要途径之一。

在本研究中，以复方中药疏风解毒胶囊中的多个化学成分为研究对象，通过网络药理学的手段分析了化合物可能的作用靶点及作用途径，充分表明疏风解毒胶囊通过对一个复杂的高度动态的分子-靶点-通路-疾病网络的作用发挥其多成分、多靶点、多途径的抗炎、免疫调节作用，为下一步深入研究疏风解毒胶囊的作用机制奠定基础。

#### 参考文献

- [1] Manoharan A, Winter J. Tackling upper respiratory tract infections [J]. *Practitioner*, 2010, 254(1734): 25-28.
- [2] 陶振钢, 高静炎, 薛明明, 等. 疏风解毒胶囊对于内毒素诱导大鼠急性肺损伤模型中 MAPK/NF- $\kappa$ B 通路的抑制作用 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(3): 911-915.
- [3] 刘颖, 时瀚, 金亚宏, 等. 疏风解毒胶囊防治流感体内药效学研究 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2010, 5(1): 107-110.
- [4] Zhang G B, Li Q Y, Chen Q L, *et al.* Network pharmacology: A new approach for chinese herbal medicine research [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2013, doi: 10.1155/2013/621423.
- [5] Zhao J, Jiang P, Zhang W. Molecular networks for the study of TCM pharmacology [J]. *Brief Bioinform*, 2010, 11(4): 417-430.
- [6] Zhang Y Q, Mao X, Guo Q Y, *et al.* Network pharmacology-based approaches capture essence of Chinese herbal medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8(2): 107-116.
- [7] 韩彦琪, 许浚, 张喜民, 等. 基于网络药理学的元胡止痛滴丸治疗原发性痛经的作用机制研究 [J]. *药学报*, 2016, 51(3): 380-387.
- [8] Luo F, Gu J, Zhang X, *et al.* Multiscale modeling of drug-induced effects of ReDuNing injection on human disease: From drug molecules to clinical symptoms of disease [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep10064.
- [9] 雷奇林, 黄雅兰, 钟茜, 等. 基于网络药理学的黄芩抗炎作用机制研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(15): 3523-3530.
- [10] 张铁军, 朱月信, 刘岱琳, 等. 疏风解毒胶囊药效物质基础及作用机制研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(12): 2019-2026.
- [11] 杨中卫, 王成国. PPAR- $\gamma$  信号通路在呼吸道疾病中的作用 [J]. *医学综述*, 2009, 15(19): 2922-2926.
- [12] Esposito E, Mazzon E, Paterniti I, *et al.* PPAR-alpha contributes to the anti-inflammatory activity of verbascoside in a model of inflammatory bowel disease in mice [J]. *PPAR Res*, 2010, doi: 10.1155/2010/917312.
- [13] 陶迎秋, 梁统, 周克元. 花生四烯酸三条代谢通路在炎症反应中的作用 [J]. *国际免疫学杂志*, 2010, 33(4): 303-314.
- [14] Jr P K, Ackerman A W, Gross E R, *et al.* Heat shock protein 90 mediates the balance of nitric oxide and superoxide anion from endothelial nitric-oxide synthase [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(21): 17621-17624.