

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.06.013

基于网络药理学探讨宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征的作用机制

贾元萍^{1,2}, 窦丹^{1,2}, 李丽玲¹, 王新茹¹, 李晨浩^{1,2}, 任志颖^{1,2}, 张洪春²✉

1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路11号, 100029; 2. 中日友好医院呼吸中心

[摘要] **目的** 基于网络药理学探讨宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的可能作用机制。**方法** 检索TCMSP数据库获得宣白承气汤的活性成分及靶点, 检索GeneCards、OMIM、TTD和DrugBank数据库获得ARDS的疾病靶点, 得到药物-疾病共有靶点。通过STRING数据库构建蛋白互作(PPI)网络模型, 通过Metascape和Reactome平台进行基因本体论(GO)分析和基因组的京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析, 运用Cytoscape 3.7.2软件构建药物成分-ARDS靶点-通路网络图, 并利用AutoDockTools和Vina软件进行分子对接验证。**结果** 共获得大黄、苦杏仁和瓜蒌皮相关靶点93个, ARDS疾病靶点5416个, 得到共有靶点51个。PPI分析结果示TNF、TP53、CASP3、PTGS2作用关系最强; GO分析得到生物过程主要富集条目20条、细胞组成9条、分子功能17条, 主要生物学过程为丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联反应的调控; KEGG富集的主要通路有核受体转录途径、白细胞介素4和白细胞介素13信号、通用转录途径等; 网络拓扑分析示Eupatin为宣白承气汤治疗ARDS的主要活性成分, 其次是(+)-catechin和Mutatochrome, PTGS2、ESR1、NR3C2、NOS2是其发挥作用的核心靶点; 分子对接结果示Glabridin-PTGS2对接分数最高, 大部分靶点与成分的结合活性较好。**结论** 宣白承气汤的核心成分Glabridin和Eupatin可能作用于PTGS2、TNF、TP53、CASP3等靶点, 通过白细胞介素相关通路、MAPK信号通路、核受体转录途径等抑制炎症反应和氧化应激, 调控基因表达, 发挥治疗ARDS的作用。

[关键词] 急性呼吸窘迫综合征; 宣白承气汤; 网络药理学; 分子对接; 靶点

1967年Ashbaugh等首次提出急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)^[1], 该病由多种肺部(如肺炎、吸入)或非肺部(如败血症、胰腺炎、创伤)的损伤引起, 临床表现为持续的低氧血症或呼吸衰竭, 是一种急性、炎性、弥漫性肺泡损伤疾病。一项针对50个国家的研究^[2]显示, ARDS每年影响约300万患者, 其患者人数占ICU入院人数的10.4%, 早期识别难且确诊率低, 而重度ARDS患者的病死率高达46.1%。新型冠状病毒肺炎的病死亦与ARDS相关^[3]。治疗上, 西医主要采用肺保护性机械通气的方法, 并且需警

惕呼吸机引起的肺损伤^[4]。

ARDS属于中医学“暴喘”“喘促”等范畴, 是以肺系病证表现为主的常见危急重症。宣白承气汤出自《温病条辨》, 是中医经典名方, 由苦杏仁、石膏、大黄和瓜蒌皮组成, 具有通腑降气、清肺化痰的功效。本团队前期进行的系统评价^[5]表明, 宣白承气汤联合西医常规疗法能提高ARDS患者的有效率[RR=1.45, 95%CI(1.28, 1.65)]、降低病死率[RR=0.55, 95%CI(0.38, 0.81)]、改善氧合指数[MD=26.11, 95%CI(21.90, 30.32)]等, 但其作用机制有待进一步阐释。本研究通过网络药理学和分子对接技术, 探讨宣白承气汤治疗ARDS的作用机制, 为临床应用提供科学依据。

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC1309300, 2017YFC1309305); 中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄学者)(2019-QTL-003)

✉ 通讯作者:13701226664@139.com

1 资料和方法

1.1 宣白承气汤的主要活性成分筛选和靶点预测

检索 TCMSP (<http://tcmspw.com/tcmsp.php>)^[6] 数据库。收集宣白承气汤中大黄、苦杏仁、瓜蒌皮的中药化学组成成分, 由于石膏是硫酸盐类矿物质, 含 95% 以上含水硫酸钙和多种无机元素, 故未纳入。根据口服利用度 (OB) $\geq 30\%$ 且类药性 (DL) ≥ 0.18 的 2 个药代动力学 (ADME) 属性值进行活性成分初步筛选, 获得活性化合物及其作用的蛋白质靶点。筛选结束后, 统一在 Uniprot 蛋白质数据库 (<https://www.uniprot.org/>)^[7] 将化合物作用的靶点蛋白转化为靶点基因名。

1.2 ARDS 潜在靶点预测

以 “acute respiratory distress syndrome” 为关键词, 分别在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)^[8]、OMIM 数据库 (<http://www.omim.org/>)^[9]、TTD 数据库 (<http://db.idrblab.net/ttd/>)^[10] 和 DrugBank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>)^[11] 中检索 ARDS 的潜在靶点。在 GeneCards 数据库中, Score 值越高, 表示该靶点与疾病关系越密切。若靶点过多, 则设定 Score 大于中位数的靶点为 ARDS 的潜在靶点。合并 4 个疾病数据库靶点, 删除重复值得到 ARDS 靶点。

1.3 药物-疾病共有靶点获取

将宣白承气汤有效成分靶点与 ARDS 疾病靶点通过在线软件 Venny 2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 取交集, 得到药物-疾病共有靶点。

1.4 共有靶点蛋白互作网络构建

蛋白互作网络 (PPI) 是系统分析大量蛋白在信号传递、基因表达、物质代谢等生命过程中的作用关系, 从而了解蛋白之间的功能联系、挖掘核心调控基因的方法。将共有靶点导入至 STRING 数据库^[12] (<https://string-db.org/>) 进行 PPI 分析, 生物种类设置为 “Homo sapiens”, 最小互相作用阈值设定为 “highest confidence > 0.7 ”, 其余设置均为默认设置, 获得靶点的相互作用关系。将其结果导入 Cytoscape 3.7.2 软件 (<https://cytoscape.org/>), 构建宣白承气汤治疗 ARDS 潜在作用靶点的互作网络。

1.5 共有靶点功能与通路的富集分析

将共有靶点录入 Metascape 数据库 (<http://metascape.org/gp/index.html>)^[13], 设置 $P < 0.05$,

对宣白承气汤作用于 ARDS 的共有靶点进行基因本体论 (GO) 分析, 包括生物过程、细胞组成和分子功能, 并通过微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 对其结果进行可视化展示。通过 Reactome 数据库 (<https://reactome.org/>) 进行基因组的京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。

1.6 宣白承气汤活性成分-ARDS 靶点-通路网络图构建

将 Reactome 数据库得到的 KEGG 通路富集结果导入 Cytoscape 3.7.2 软件, 构建宣白承气汤活性成分-ARDS 靶点-通路网络图, 通过 Cytoscape 3.7.2 内置的 NetworkAnalyzer 工具分析有效成分及靶点的网络拓扑参数, 包括连接度、介度及紧密度等, 并根据网络拓扑参数判断核心靶点及发挥药效的主要活性成分。

1.7 分子对接验证

分子对接技术通过分子之间的空间识别和能量识别, 利用计算机来模拟分子间的相互作用关系。本研究通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询小分子配体的 PubChem 序号, 通过 PDB 数据库 (<http://www1.rcsb.org/>) 查询受体的 PDB 序号, 使用 Chimera 1.15 软件 (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) 下载配体和受体的 3D 结构, 对受体进行去残基、去多余链等处理。若 PubChem 无小分子配体序号, 则舍弃; 若 Chimera 1.15 软件未找到 3D 结构, 则通过 Chem3D 20.0 软件 (<https://perkinelmerinformatics.com/>) 进行补充查找。利用 AutoDockTools 1.5.6 软件 (<http://autodock.scripps.edu/>) 对配体和受体进行加氢、计算电荷等操作, 并调试功能盒子大小。利用 Vina 开源程序 (<http://vina.scripps.edu/>) 进行对接, 并根据对接分数 (Docking Score) 值评价靶点与活性化合物的结合强度与活性, 最后通过 Pymol 2.5 软件 (<https://pymol.org/2/>) 和 LigPlot v2.2 软件 (<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LigPlus/>) 进行可视化展示。

2 结果

2.1 宣白承气汤活性成分筛选结果

利用 TCMSP 数据库初步提取大黄化学成分 92 种、苦杏仁 113 种、瓜蒌皮 80 种, 根据 TCMSP 推荐标准 (OB $\geq 30\%$ 、DL ≥ 0.18) 筛选后共获得大黄活性成分 16 种、苦杏仁 19 种、瓜蒌皮 11 种, 3

种药物活性成分查重后剩余 45 种。其中, 大黄成分作用靶点 110 个、苦杏仁 207 个、瓜蒌皮 35 个, 合并后删除重复值并在 Uniprot 蛋白质数据库规范共得到靶点 93 个。

2.2 ARDS 潜在靶点的获取

GeneCards 数据库获得 ARDS 相关靶点 3381 个, 根据经验设置 Score 大于中位数的目标靶点为 ARDS 的潜在靶点, 共获取 1692 个靶点。OMIM、TTD、DrugBank 数据库分别获得 ARDS 相关靶点 4119、10 和 13 个, 合并后删除重复者, 最终得到 5416 个 ARDS 相关靶点。

2.3 药物-疾病共有靶点获取

将宣白承气汤有效成分靶点与 ARDS 疾病靶点通过在线软件 Venny 2.1.0 取交集并绘制 Venny 图, 共得到 51 个药物-疾病共有靶点, 分别是 PTGS1、PTGS2、NOS2、DPP4、PRSS1、PGR、NR3C2、PIK3CG、NR3C1、CHRM3、CA2、ACHE、PDE3A、HTR2A、ADRA1A、SLC6A3、ADRB2、ADRA1D、SLC6A4、DRD2、OPRM1、ADRA2A、PLAU、MAOA、ADRB1、SCN5A、ADRA1B、ESR1、CAT、KDR、MAPK14、CHEK1、AR、ESR2、SOD1、ADRA2B、KCNH2、JUN、BCL2、BAX、CASP9、CASP3、CASP8、PON1、CDKN1A、TNF、TP53、MYC、IL1B、PRKCD、PPARG。

2.4 共有靶点 PPI 网络构建

将 51 个药物-疾病共有靶点提交至 STRING 11.0 平台, 最小互相作用阈值设定为 highest confidence>0.7, 隐藏单独靶点, 得到靶点 PPI 网络。包括 51 个节点数, 89 条边, 平均节点度 3.49。将 PPI 数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件中, 绘制蛋白互作网络图 (图 1)。节点越大、线条越粗表明靶点作用关系越强。由图可知, TNF、TP53、CASP3、PTGS2 作用关系最强。

2.5 GO 生物功能注释结果

利用 Metascape 数据库对筛选到的 51 个共有靶

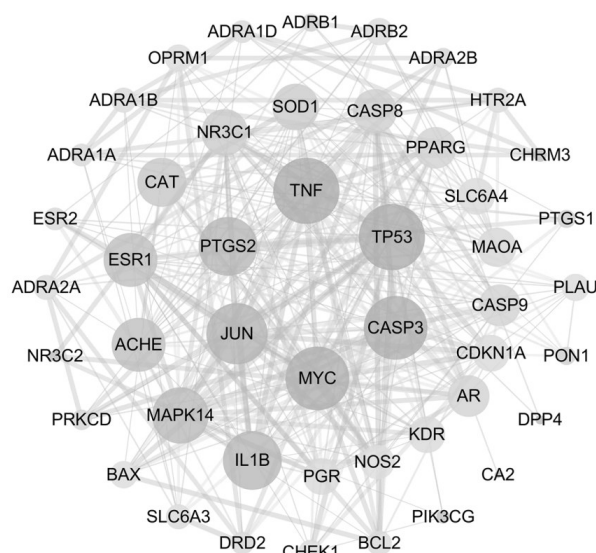


图 1 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征共有靶点蛋白互作网络 (PPI) 图

点进行 GO 生物功能注释, 得到生物过程主要富集条目 20 条, 分子功能 17 条, 细胞组成 9 条, 生物过程和分子功能排名前 10 位的条目详见图 2、图 3, 细胞组成条目详见图 4。图中纵坐标表示富集条目, 横坐标表示富集在此条目中的基因数量。宣白承气汤参与的主要生物过程有血液循环、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联反应的调控、细胞对有机环状化合物的反应等, 细胞组成有膜筏、突触前膜的组成部分、溶泡等, 分子功能有蛋白质结构域特异性结合、蛋白质均二聚活性、蛋白激酶结合等。

2.6 KEGG 通路富集分析结果

利用 Reactome 数据库对筛选到的 51 个共有靶点进行 KEGG 通路富集分析, 得到宣白承气汤治疗 ARDS 靶点通路富集结果。富集的主要通路有核受体转录途径、白细胞介素 4 和白细胞介素 13 信号、通用转录途径、白细胞介素信号、RNA 聚合酶 II 转录等, 表 1 示, 前 5 条通路富集结果。

表 1 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征靶点通路富集结果

通路名称	P 值	错误发现率(FDR)	关键基因
核受体转录途径	1.11×10^{-16}	2.90×10^{-14}	AR; PGR; PPARG; NR3C1; ESR1; ESR2; NR3C2
白细胞介素 4 和白细胞介素 13 信号	1.11×10^{-16}	2.90×10^{-14}	CDKN1A; NOS2; MAOA; MYC; IL1B; BCL2; OPRM1; PTGS2; TP53; TNF
通用转录途径	5.22×10^{-15}	9.08×10^{-13}	JUN; CDKN1A; OPRM1; NR3C1; MAPK14; ESR1; ESR2; NR3C2; AR; MYC; CAT; CHEK1; BAX; PPARG; PGR; TP53
白细胞介素信号	6.85×10^{-14}	8.91×10^{-12}	JUN; CDKN1A; NOS2; MAOA; OPRM1; PTGS2; MAPK14; TNF; SOD1; MYC; CASP3; IL1B; BCL2; TP53
RNA 聚合酶 II 转录	9.04×10^{-14}	9.40×10^{-12}	JUN; CDKN1A; OPRM1; NR3C1; MAPK14; ESR1; ESR2; NR3C2; AR; MYC; CAT; CHEK1; BAX; PPARG; PGR; TP53

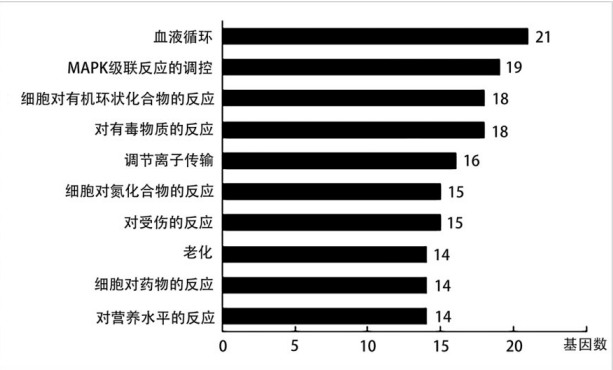


图2 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征共有靶点排名前十位的生物过程分析

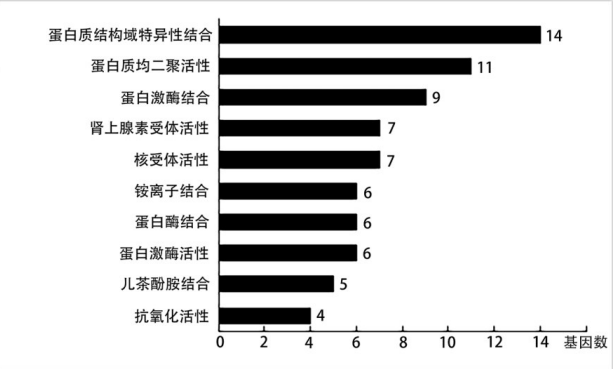


图3 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征共有靶点排名前十位的分子功能分析

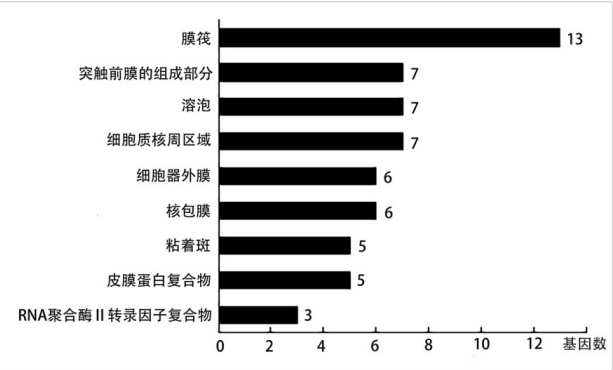
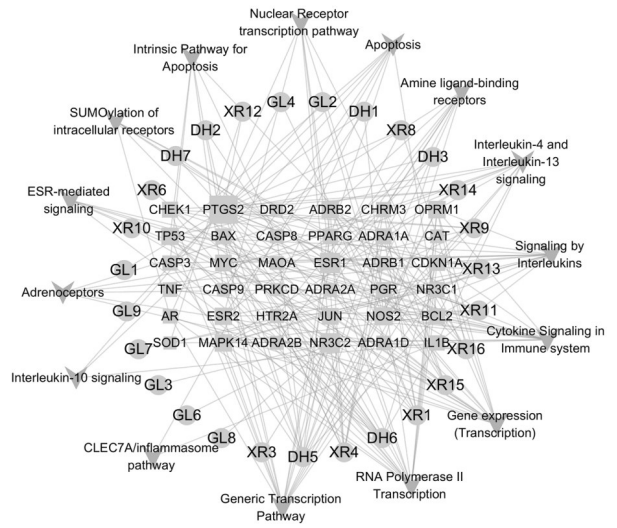


图4 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征共有靶点的细胞组成分析

2.7 宣白承气汤活性成分-ARDS靶点-通路网络图构建

选取 KEGG 富集分析的前 15 条通路，运用 Cytoscape 3. 7. 2 构建宣白承气汤活性成分-ARDS 靶点-通路网络图（图 5）。各图形面积越大，代表此节点在网络中的调控作用越强。通过 Cytoscape 3. 7. 2 内置的 NetworkAnalyzer 分析宣白承气汤治疗 ARDS 网络拓扑参数，得到核心成分及核心作用靶点（表 2、表 3）。结果表明，Eupatin 为宣白承气汤治疗 ARDS 的最主要活性成分，其次是(+) -catechin

和 Mutatochrome，PTGS2、ESR1、NR3C2、NOS2 是其发挥作用的核心靶点。



注：圆形代表中药，方形代表靶点，倒三角形代表通路。

图5 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征主要活性成分小五靶点-通路网络图

表2 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征主要活性成分网络节点特征参数

活性成分	MOLID	连接度	介度	紧密度
Eupatin	MOL002235	12	0. 099226	0. 418478
(+) -catechin	MOL000492	9	0. 107888	0. 423077
Mutatochrome	MOL002251	9	0. 031368	0. 396907
Mairin	MOL000211	8	0. 044191	0. 385000
gondoic acid	MOL005030	8	0. 032377	0. 356481

表3 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征主要靶点网络节点特征参数

靶点	连接度	介度	紧密度	靶点	连接度	介度	紧密度
PTGS2	24	0. 487342	0. 291818	OPRM1	9	0. 423077	0. 063391
ESR1	13	0. 377451	0. 054418	TP53	9	0. 385000	0. 033842
NR3C2	12	0. 388889	0. 176819	MAPK14	9	0. 388889	0. 024154
NOS2	10	0. 343750	0. 023363	ADRB2	9	0. 377451	0. 042513
ESR2	9	0. 363208	0. 025700	MYC	8	0. 373786	0. 020015

2.8 分子对接结果

将核心靶点 PTGS2、ESR1、NR3C2、NOS2 与作用核心靶点的小分子配体进行对接，结果见表 4。对接分数（Docking Score）< -4. 25 时表示活性成分与靶点间存在结合能力，< -5. 0 时表示结合活性较好，< -7. 0 时表示结合活性极佳。结果显示，评分 < -4. 25 者占总数 96. 97%，< -5 的占 93. 94%，< -7 的占 54. 55%。说明大部分靶点与活性成分的结合活性较好，而 PTGS2 与 MOL004908

(Glabridin) 对接分数最高, 为-10.7。

表4 宣白承气汤治疗急性呼吸窘迫综合征核心靶点
分子对接结果

受体	配体 MOLID	对接分数	受体	配体 MOLID	对接分数
PTGS2	MOL001494	-5.4	ESR1	MOL000471	-6.1
	MOL002881	-9.6		MOL002259	-7.9
	MOL005530	-9.9		MOL002372	-4.5
	MOL000096	-8.9		MOL004841	-5.6
	MOL000358	-9.3		MOL004908	-7.9
	MOL000471	-9.0		MOL005017	-6.8
	MOL002235	-9.1	NR3C2	MOL004355	-7.0
	MOL002259	-10.1		MOL000449	-6.4
	MOL000211	-7.6		MOL000492	-6.6
	MOL000492	-9.3		MOL002211	-2.8
	MOL002372	-6.8	NOS2	MOL002881	-6.4
	MOL004841	-9.0		MOL005530	-6.5
	MOL004903	-10.4		MOL000096	-5.9
	MOL004908	-10.7		MOL000471	-6.6
	MOL005017	-9.9		MOL004841	-6.2
	MOL005030	-8.8		MOL004908	-6.8
	MOL007207	-8.9			

3 讨论

ARDS是一种临床和生物异质性疾病,其本质是多种炎症细胞(巨噬细胞、中性粒细胞、血管内皮细胞、血小板)及其释放的炎性介质和细胞因子间接介导的肺脏炎症反应,是系统性炎症反应综合征的肺部表现^[4]。中医学认为,肺失宣降、气机逆乱是ARDS的根本病机^[14]。宣白承气汤作为中医经典方剂,具有通腑降气、清肺化痰的作用,治疗ARDS的临床效果确切^[5]。研究表明,大黄的提取物大黄素对ARDS具有抗炎、抗氧化、调节肺水代谢、调节肺表面活性蛋白作用^[15],能抑制脂多糖(LPS)诱导的ARDS小鼠核因子 κ B(NF- κ B)表达,发挥抗炎作用^[16]。大黄酸亦具有抗炎、抗氧化和抗病毒作用^[17]。苦杏仁不仅具有大脑保护作用,还参与tau磷酸化、氧化应激、抗炎等过程^[18],可通过多种作用来预防内皮功能障碍^[19]。瓜蒌皮的提取物亦具有抗炎作用^[20]。综上,宣白承气汤的主要成分具有抗炎、抗氧化、保护内皮功能等作用。

本研究检索相关数据库共得到大黄、瓜蒌皮、苦杏仁的作用靶点93个,ARDS相关靶点5416个,药物-疾病共有靶点51个。进一步PPI分析可知,宣白承气汤可能通过结合TNF、TP53、CASP3、

PTGS2等靶点发挥治疗ARDS的作用。研究表明,TNF已作为ARDS的发生或结局相关的候选基因之一^[21];在LPS致ARDS小鼠中,其表达随时间呈类似的“驼峰样”增加^[22],抑制肿瘤坏死因子 α (TNF- α)介导的NF- κ B和组蛋白去乙酰化酶3核移位能预防LPS诱导的ARDS^[23],临床上可将TNF作为预测ARDS的发病率和病死率的重要因子^[24]。TP53是新陈代谢、抗氧化、自噬、凋亡和细胞停滞等生理过程的关键调节枢纽^[25],在ARDS中高表达,参与DNA修复和基因组稳定性^[26],亦参与ARDS和血栓形成中宿主与病毒的相互作用^[27]。CASP3是细胞凋亡的关键效应因子,可抑制肺内皮细胞凋亡,能预防LPS诱导的ARDS,以减轻肺损伤^[28]。PTGS2又称环氧化酶2(COX-2),参与调节基础气道功能、气道高反应性和肺部炎症反应^[29]。MAPK家族成员、表皮生长因子受体和NF- κ B是COX-2的重要调节因子,抑制COX-2表达,减少前列腺素E2和促炎细胞因子白细胞介素1(IL-1)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素8(IL-8)、TNF- α 的产生,能抑制ARDS中肺泡上皮II型细胞的炎症反应,抑制细胞因子风暴^[30-31]。综上,这些靶点是ARDS疾病的重要调控基因,在抗炎、抗氧化、凋亡、基因调控等方面发挥重要作用,能减轻肺内皮细胞损伤,保护肺组织。

对共有靶点进行GO分析,可知宣白承气汤参与的主要生物学过程有血液循环、MAPK级联反应的调控等,细胞组成有膜筏、突触前膜的组成部分等,分子功能有蛋白质结构域特异性结合、蛋白质均二聚活性等。其中,MAPK包括c-Jun NH2末端激酶(JNK)、p38 MAPK和细胞外信号调节激酶(ERK),这些酶可调节各种细胞活动,包括炎症、增殖或分化、凋亡或存活、先天免疫等^[32]。MAPK的激活可促进炎症细胞因子COX-2、诱导型一氧化氮合酶和血管细胞黏附分子1的诱导,导致炎症反应上调,是调节炎症反应的重要信号通路^[33]。抑制ERK、JNK、p38 MAPK的磷酸化,其促炎细胞因子TNF、IL-6和白细胞介素1 β 的水平可受到抑制,而抗炎细胞因子白细胞介素10的水平升高^[34],阻断MAPK活性可能是治疗ARDS的一种方法^[35]。

利用Reactome数据库进行KEGG通路富集分析,得到宣白承气汤治疗ARDS的前5条通路为核受体转录途径、白细胞介素4(IL-4)和白细胞介素13(IL-13)信号、通用转录途径、白细胞介素

信号和 RNA 聚合酶 II 转录。核受体是一类多细胞生物中含量最丰富的转录因子超家族, 能被相应配体及众多共调节因子调节, 调控机体的生长发育、细胞分化及代谢等过程^[36]。研究表明, 核受体中的核孤儿受体 Nur77 能抑制 LPS 诱导的 ARDS 大鼠 NF- κ B 和 p38 MAPK 的磷酸化, 降低内皮素 1 表达, 减轻肺损伤^[37]。肺部或全身不受控制的炎症反应是 ARDS 的主要发病机制^[38], 促炎因子和炎性介质等其他炎性递质激活炎症反应, 会直接损伤肺泡内皮细胞^[39], 而白细胞介素家族多种细胞因子是 ARDS 的发生或结局相关的候选基因^[20], 是 ARDS 的重要生物标记物^[23]。IL-4 和 IL-13 是 II 型炎症反应的标志性细胞因子, 诱导复杂的炎症反应, 其功能失调是多种疾病的主要驱动因素^[40]。IL-4 是淋巴细胞功能的调节剂, IL-13 是效应细胞因子, 调节气道平滑肌收缩和黏液产生^[41]。研究表明, IL-4 受体 α (IL4R α) 依赖性 2 型细胞因子信号传导可以直接抑制组织中低氧性中性粒细胞的存活并促进中性粒细胞介导的急性肺损伤的消退^[42]。因此, 本研究推测, 核受体转录途径、IL-4 和 IL-13 信号通路是宣白承气汤治疗 ARDS 的重要通路。

分子对接结果提示, PTGS2-MOL004908 (Glabridin) 的对接分数最高, 对接分数小于 -4.25 者占总数 96.97%, 小于 -7 的占 54.55%, 表明大部分靶点与活性成分的结合活性较好。研究表明, Glabridin 能抑制细胞因子的产生, 抑制环氧化酶活性而显示出抗炎作用, 且没有细胞毒性^[43]。其能调节 MAPK 途径减轻内皮功能障碍和通透性^[44], 可抑制 p38 MAPK 和 ERK 信号通路, 发挥抗氧化作用, 减轻 LPS 诱导的 ARDS 大鼠的肺损伤^[45]。宣白承气汤的主要活性成分 Eupatin 能显著降低 LPS 诱导的 NF- κ B p65 磷酸化和炎性因子的产生^[46]。因此, 本研究推测, Glabridin 和 Eupatin 是宣白承气汤发挥作用的主要活性成分。

综上所述, 宣白承气汤的核心成分 Glabridin 和 Eupatin 等, 作用于 PTGS2、TNF、TP53、CASP3 等靶点, 通过白细胞介素相关通路、MAPK 信号通路、核受体转录途径等, 抑制炎症反应和氧化应激, 调控基因表达, 发挥治疗 ARDS 的作用, 证实了宣白承气汤多成分、多靶点、多通路的作用机制。然而中药石膏在中医临床治疗中具有重要意义, 因其主要成分为矿物质未被纳入, 本研究结果仍需通过实验进一步验证。

参考文献

- [1] ASHBAUGH DG, BIGELOW DB, PETTY TL, et al. Acute respiratory distress in adults [J]. *Lancet*, 1967, 2 (7511): 319-323.
- [2] BELLANI G, LAFFEY JG, PHAM T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries [J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 788-800.
- [3] XU Z, SHI L, WANG Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(4): 420-422.
- [4] FAN E, BRODIE D, SLUTSKY AS. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment [J]. *JAMA*, 2018, 319(7): 698-710.
- [5] 贾元萍, 李玉娟, 窦丹, 等. 宣白承气汤联合西医常规疗法治疗急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的系统评价 [J]. *中医杂志*, 2021, 62(2): 130-137.
- [6] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13. doi: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [7] The UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (D1): D506-D515.
- [8] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The Gene Cards Suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54: 1.30.1-1.30.33. doi: 10.1002/cpbi.5.
- [9] AMBERGER JS, BOCCHINI CA, SCOTT AF, et al. OMIM.org: leveraging knowledge across phenotype-gene relationships [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (D1): D1038-D1043.
- [10] WANG Y, ZHANG S, LI F, et al. Therapeutic target database 2020: enriched resource for facilitating research and early development of targeted therapeutics [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D1031-D1041.
- [11] WISHART DS, FEUNANG YD, GUO AC, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46 (D1): D1074-D1082.
- [12] SZKLARCZYK D, GABLE AL, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [13] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 1523. doi: 10.1038/s41467-019-09234-6.

- [14]段正,孔立,郝浩,等. 急性呼吸窘迫综合征中医学病机的探讨[J]. 中国中医急症, 2020, 29(11): 1979-1980, 1992.
- [15]DONG X, FU J, YIN X, et al. Emodin: A review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(8): 1207-1218.
- [16]XIAO M, ZHU T, ZHANG W, et al. Emodin ameliorates LPS-induced acute lung injury, involving the inactivation of NF-kappaB in mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(11): 19355-19368.
- [17]SHEN C, ZHANG Z, XIE T, et al. Rhein suppresses lung inflammatory injury induced by human respiratory syncytial virus through inhibiting NLRP3 inflammasome activation via NF-kappaB pathway in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1600. doi: 10.3389/fphar. 2019. 01600.
- [18]GORJI N, MOEINI R, MEMARIANI Z. Almond, hazelnut and walnut, three nuts for neuroprotection in Alzheimer's disease: a neuropharmacological review of their bioactive constituents [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 129: 115-127. doi: 10.1016/j.phrs. 2017. 12. 003.
- [19]LEE-BRAVATTI MA, WANG J, AVENDANO EE, et al. Almond consumption and risk factors for cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Adv Nutr*, 2019, 10(6): 1076-1088.
- [20]LEI X, LI N, BAI Z, et al. Chemical constituent from the peel of *Trichosanthes kirilowii* Maxim and their NF-kappaB inhibitory activity [J]. *Nat Prod Res*, 2020; 1-6. doi: 10.1080/14786419. 2020. 1786825.
- [21]REILLY JP, CHRISTIE JD, MEYER NJ. Fifty years of research in ARDS. Genomic contributions and opportunities [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 196(9): 1113-1121.
- [22]梁家宁,周倩倩,张天相,等. TNF- α 和IL-1 β 在急性呼吸窘迫综合征小鼠肺组织表达的变化及评价[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(2): 159-163.
- [23]POOLADANDA V, THATIKONDA S, BALE S, et al. Nimbolide protects against endotoxin-induced acute respiratory distress syndrome by inhibiting TNF-alpha mediated NF-kappaB and HDAC-3 nuclear translocation [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 81.
- [24]BUTT Y, KURDOWSKA A, ALLEN TC. Acute lung injury: a clinical and molecular review [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(4): 345-350.
- [25]LI Y, ZHANG MC, XU XK, et al. Functional diversity of p53 in human and wild animals [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 152. doi: 10.3389/fendo. 2019. 00152.
- [26]SERGIO L, LUCINDA L, REBOREDO MM, et al. Emphysema induced by elastase alters the mRNA relative levels from DNA repair genes in acute lung injury in response to sepsis induced by lipopolysaccharide administration in Wistar rats [J]. *Exp Lung Res*, 2018, 44(2): 79-88.
- [27]MISHRA A, CHANCHAL S, ASHRAF MZ. Host-viral interactions revealed among shared transcriptomics signatures of ARDS and thrombosis: a clue into COVID-19 pathogenesis [J]. *TH Open*, 2020, 4(4): e403-e412.
- [28]CHEN L, LI W, QI D, et al. Lycium barbarum polysaccharide protects against LPS-induced ARDS by inhibiting apoptosis, oxidative stress, and inflammation in pulmonary endothelial cells [J]. *Free Radic Res*, 2018, 52(4): 480-490.
- [29]CHENG J, DACKOR RT, BRADBURY JA, et al. Contribution of alveolar type II cell-derived cyclooxygenase-2 to basal airway function, lung inflammation, and lung fibrosis [J]. *FASEB J*, 2016, 30(1): 160-173.
- [30]SUN J, ZHENG S, YANG N, et al. Dexmedetomidine inhibits apoptosis and expression of COX-2 induced by lipopolysaccharide in primary human alveolar epithelial type 2 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 517(1): 89-95.
- [31]LIU Z, YING Y. The inhibitory effect of curcumin on virus-induced cytokine storm and its potential use in the associated severe pneumonia [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 479. doi: 10.3389/fcell. 2020. 00479.
- [32]KIM EK, CHOI EJ. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update [J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(6): 867-882.
- [33]YEUNG YT, AZIZ F, GUERRERO-CASTILLA A, et al. Signaling pathways in inflammation and anti-inflammatory therapies [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(14): 1449-1484.
- [34]LI L, CHEN J, LIN L, et al. Quzhou Fructus Aurantii Extract suppresses inflammation via regulation of MAPK, NF-kappaB, and AMPK signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 1593. doi: 10.1038/s41598-020-58566-7.
- [35]YAO W, LI H, LUO G, et al. SERPINB1 ameliorates acute lung injury in liver transplantation through ERK1/2-mediated STAT3-dependent HO-1 induction [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108: 542-553. doi: 10.1016/j.freeradbiomed. 2017. 04. 011.
- [36]PORTER BA, ORTIZ MA, BRATSLAVSKY G, et al. Structure and function of the nuclear receptor superfamily and current targeted therapies of prostate cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(12): 1852.
- [37]JIANG Y, ZENG Y, HUANG X, et al. Nur77 attenuates

- endothelin-1 expression via downregulation of NF- κ B and p38 MAPK in A549 cells and in an ARDS rat model[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 311(6):L1023-L1035.
- [38] DERWALL M, MARTIN L, ROSSAINT R. The acute respiratory distress syndrome: pathophysiology, current clinical practice, and emerging therapies [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2018, 12(12):1021-1029.
- [39] HE YQ, ZHOU CC, YU LY, et al. Natural product derived phytochemicals in managing acute lung injury by multiple mechanisms [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163: 105224. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105224.
- [40] WYNN TA. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(5): 271-282.
- [41] JUNTILA IS. Tuning the cytokine responses: an update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 888. doi: 10.3389/fimmu.2018.00888.
- [42] HARRIS AJ, MIRCHANDANI AS, LYNCH RW, et al. IL4 α signaling abrogates hypoxic neutrophil survival and limits acute lung injury responses in vivo [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(2):235-246.
- [43] PARLAR A, ARSLAN SO, CAM SA. Glabridin alleviates inflammation and nociception in rodents by activating BKCa channels and reducing NO levels [J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43(5):884-897.
- [44] WANG G, SUN G, WANG Y, et al. Glabridin attenuates endothelial dysfunction and permeability, possibly via the MLCK/p-MLC signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1):107-114.
- [45] ZHANG LP, ZHAO Y, LIU GJ, et al. Glabridin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting p38MAPK/ERK signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12):18935-18942.
- [46] CHOU CH, HSU KC, LIN TE, et al. Anti-inflammatory and tau phosphorylation-inhibitory effects of eupatin [J]. *Molecules*, 2020, 25(23):5652.

A Network Pharmacology-based Approach to Explore the Mechanism of *Xuanbai Chengqi Decoction* (宣白承气汤) Against Acute Respiratory Distress Syndrome

JIA Yuanping^{1,2}, DOU Dan^{1,2}, LI Liling¹, WANG Xinru¹, LI Chenhao^{1,2}, REN Zhiying^{1,2}, ZHANG Hongchun²

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Center of Respiratory Medicine, China-Japan Friendship Hospital

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Xuanbai Chengqi Decoction* (宣白承气汤, XCD) in the treatment of acute respiratory distress syndrome (ARDS) based on network pharmacology. **Methods** The TCMSP database was searched to obtain the potential active ingredients and targets of XCD, and the GeneCards, OMIM, TTD and DrugBank databases were searched to obtain the targets of action of ARDS. The drug-disease common targets were then obtained. The protein-protein interaction (PPI) network model was constructed by STRING platform, and the Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis was performed by Metascape and Reactome platforms. CytoScape 3.7.2 software was then used to construct drug component-ARDS target-pathway network diagrams, while AutoDockTools and Vina software were used to validate the molecular docking. **Results** We obtained 93 targets related to Dahuang (*Radix et Rhizoma Rhei*), Xuxinren (*Semen Armeniacae Amarum*), Gualoupi (*Pericarpium Trichosanthis*), and 5416 targets of ARDS. Finally we got 51 drug-disease common targets. The PPI analysis revealed that TNF, TP53, CASP3, and PTGS2 had closest relationship. GO analysis yielded 20 main enrichment entries for biological processes, 9 entries for cellular composition and 17 entries for molecular functions. The main biological process was the regulation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade reaction. The KEGG analysis showed the main enrichment pathways were nuclear receptor transcription pathway, interleukin-4 and interleukin-13 signaling, and universal transcription pathway. Network topology analysis revealed that Eupatin was the main active component of XCD for the treatment of ARDS, followed by (+)-catechin and Mutatochrome, and PTGS2, ESR1, NR3C2, and NOS2 were the core targets for its action. The molecular docking results suggested that Glabridin-PTGS2 had the highest docking score, and most of the targets and components had good binding activities. **Conclusions** Glabridin and Eupatin, the core components of XCD, may act on PTGS2, TNF, TP53, CASP3 and other targets to inhibit inflammatory response and oxidative stress, regulate gene expression, and exert therapeutic effects on ARDS by mediating interleukin-related pathways, MAPK signaling pathways, and nuclear receptor transcriptional pathways.

Keywords acute respiratory distress syndrome; *Xuanbai Chengqi Decoction* (宣白承气汤); network pharmacology; molecular docking; target

(收稿日期: 2021-06-15; 修回日期: 2021-08-24)

[编辑: 邓媛]