

黄连解毒汤抗脓毒症的药效学物质基础和作用机制研究可视化分析

陈桂荣¹ 徐煜彬² 郭松³

¹ 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600; ² 台州市中心医院(台州学院附属医院)药剂科, 浙江台州 318000; ³ 沈阳体育学院计算机教研室, 辽宁沈阳 110102

通信作者: 郭松, Email: guosong_7901@163.com

【摘要】目的 探讨黄连解毒汤抗脓毒症的药效学物质和机制。**方法** 在网络药理学基础上, 采用中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP)、化合物靶标预测平台工具 SwissTargetPrediction 服务器、分子对接服务器、人类孟德尔遗传在线(OMIM)数据库、药物靶标数据库(TTD)、毒性与基因比较数据库(CTD)、零代码功能富集分析用于注释可视化和集成发现的数据库(DAVID)6.8 和京都基因与基因组百科全书(KEGG)等筛选黄连解毒汤以及脓毒症治疗的靶标, 再采用 String 和 CytoScape 等软件构建出黄连解毒汤抗脓毒症“化学成分-作用靶标-相关通路-疾病靶标”的网络图; 初步明确黄连解毒汤中能发挥抗脓毒作用的化学成分, 并明确这些成分是如何发挥作用的。**结果** 通过网络药理学方法筛选出黄连解毒汤中 81 个活性成分, 其中 43 个活性成分与脓毒症相关, 对应 13 个靶蛋白是血小板活化因子受体(PAFR)、腺苷受体 A1(ADORA1)、雌激素 β 受体(ER β)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、腺苷受体 A2a(ADORA2a)、腺苷受体 A2b(ADORA2b)、巨噬细胞移动抑制因子(MIF)、信号转导和转录激活因子 1(STAT1)、前列腺素 G/H 合酶 2(PTGS2)、中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)、神经元乙酰胆碱受体亚基 α -7(CHRNA7) 和血管紧张素转换酶 2(ACE2)。将预测出的靶蛋白通过 DAVID 6.8 进行 KEGG 通路解析, 共得到 12 条作用通路, 包括钙信号通路、精氨酸生物合成信号通路、神经活性配体-受体相互作用(NLRI)信号通路、精氨酸和脯氨酸代谢信号通路、血管内皮生长因子(VEGF)信号通路、利什曼病信号通路、缺氧诱导因子(HIF)信号通路、雌激素信号通路、鞘磷脂信号通路、催产素信号通路、环鸟苷酸/蛋白激酶 G(cGMP/PKG)信号通路和调节脂肪细胞脂解信号通路, 5 条与脓毒症相关的作用途径包括调节血液循环、调节血管参数、调控外部刺激应答、调控压力应答和调控防御反应。**结论** 黄连解毒汤发挥抗脓毒作用是通过其存在多种化学成分, 多个靶标及多条通路模式。

【关键词】 脓毒症; 黄连解毒汤; 药效物质基础; 作用机制

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(81303205); 辽宁省教育厅科研经费项目(LJKZ0897)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.03.003

Visual analysis of research on the material basis and mechanism of Huanglian Jiedu Decoction on anti-sepsis

Chen Guirong¹, Xu Yubin², Guo Song³

¹College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, Liaoning, China;

²Department of Pharmacy, Taizhou Central Hospital (Affiliated Hospital of Taizhou University), Taizhou 318000,

Zhejiang, China; ³Department of Computer Application, Shenyang Sport University, Shenyang 110102, Liaoning, China

Corresponding author: Guo Song, Email: guosong_7901@163.com

【Abstract】Objective To explore the pharmacodynamic substances and mechanism of Huanglian Jiedu Decoction (HLJDT) on the activity of anti-sepsis. **Methods** On the basis of network pharmacology, the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database Analysis Platform (TCMSP), compound target prediction platform tool SwissTargetPrediction Server, Molecular Docking Server, Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database, Therapeutic Target Database (TTD), Comparative Toxicogenomics Database (CTD), Zero-Code Functional Enrichment Analysis such as the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) 6.8 and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) were used, and then some softwares were used such as String and CytoScape to construct the network diagram of HLJDT's anti-sepsis "chemical components-targets-related pathways-disease targets". The effective substances from HLJDT were identified and how these ingredients played anti-sepsis activity was preliminary illustrated. **Results** A total of 81 active components from HLJDT were screened by network pharmacological method, 43 of which were related to sepsis, and the corresponding 13 target proteins were platelet activating factor receptor (PAFR), adenosine receptor A1 (ADORA1), estrogen receptor β (ER β), inducible nitric oxide synthase (iNOS), endothelial nitric oxide synthase (eNOS), adenosine receptors (ADORA2a, ADORA2b), macrophage migration inhibitory factor (MIF), signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1), prostaglandin G/H synthase 2 (PTGS2), neutrophil elastase (NE), neuronal acetylcholine receptor subunit α -7 (CHRNA7) and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2). The predicted target proteins were analyzed by KEGG pathway through DAVID 6.8, and a total of 12 pathways were obtained, including calcium signaling pathway, arginine biosynthesis signaling pathway, neuroactive ligand-receptor interaction (NLRI) signaling pathway, sperm Amino acid and proline metabolism signaling pathway,

vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway, leishmaniasis signaling pathway, hypoxia-inducible factor (HIF) signaling pathway, estrogen signaling pathway, sphingomyelin signaling pathway, oxytocin signaling pathway, cyclic guanosine monophosphate/protein kinase G (cGMP/PKG) signaling pathway and adipocyte lipolysis signaling pathway. The 5 functional routes of regulation of blood circulation, regulation of blood vessels, regulation of response to external stimuli, regulation of stress response and regulation of defense response routes were related to sepsis. **Conclusion** HLJDT exerts its anti-septic effect through the existence of multiple chemical components, multiple targets and multiple pathways.

【Key words】 Sepsis; Huanglian Jiedu Decoction; Pharmacodynamic Substance Basis; Mechanism

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81303205); Scientific Research Fund of Education Department of Liaoning Province of China (LJKZ0897)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.03.003

流行病学资料显示,目前全球有超过 1 800 万例的患者被脓毒症困扰^[1]。近几年的调查数据显示,脓症患者正在逐年增加,并且根据记载增加速度达到每年 1.5% ~ 1.8%,一些非心脏疾病患者出现死亡很大程度上是由于患有脓毒症,脓毒症的病死率明显高于由心脏疾病如心肌梗死,尤其是在重症监护病房(intensive care unit, ICU)^[2-3]。近年来,随着对脓毒症机制研究的不断深入,同时开发出各种治疗方法,然而由于严重的不良反应或较低的疗效,这些方法均未被成功地应用于临床实践中^[4]。鉴于脓毒症的复杂性,需要进行多方位、多靶点的治疗,这对于单一药物是比较困难实现的。中药中含有很多种成分,并且具有药物靶点多的特性,对于治疗复杂疾病有其独特的优势,目前中药治疗脓毒症的研究也在日益增多。黄连解毒汤已成功用于脓毒症及其相关疾病,但其化学成分复杂,当前学者们采用的是一种仿照化学药物“活性导向分离,高通量筛选”成分的分离方式,但这种模式使得中药成分间的关联性被割裂,不能体现中医的整体性,更不能实现中药质量的标准化^[5]。因此,究竟真正的抗脓毒症药效的物质基础是怎样的?人们对其了解甚少。因此,本研究基于大数据采用网络药理学方法探讨黄连解毒汤治疗脓毒症的药效学物质基础和分子机制,以期为脓毒症的治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 网络工具及软件的使用:采用中药系统药理学数据库分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database Analysis Platform, TCMSP)、化合物靶标预测平台工具 SwissTargetPrediction 服务器、分子对接服务器、人类孟德尔遗传在线(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)数据库、药物靶标数据库(Therapeutic Target Database, TTD)、毒性与基因比较数据库(Comparative Toxicogenomics Database, CTD)、零代码功能富集分析用于注释可

视化和集成发现的数据库(Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, DAVID) 6.8 和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)。

1.2 方法

1.2.1 网络药理学分析(图 1):通过 TCMSP 和文献查找黄连解毒汤的入血成分,然后再通过 SwissTargetPrediction 数据库确定潜在靶点,再将成分与靶点关联建立“成分-靶点”网络。通过 OMIM、TTD 和 CTD 数据库查找脓毒症治疗的潜在靶点,建立“疾病-靶点”网络。将成分-靶点网络和“疾病-靶点”网络联合起来,建立“成分-靶点-通路”网络,并通过 String/KEGG 数据库和 CytoScape 等软件分析,建立“成分-靶点-通路-疾病”网络,经网络药理学分析确定黄连解毒汤抗脓毒症的药效物质和作用机制。

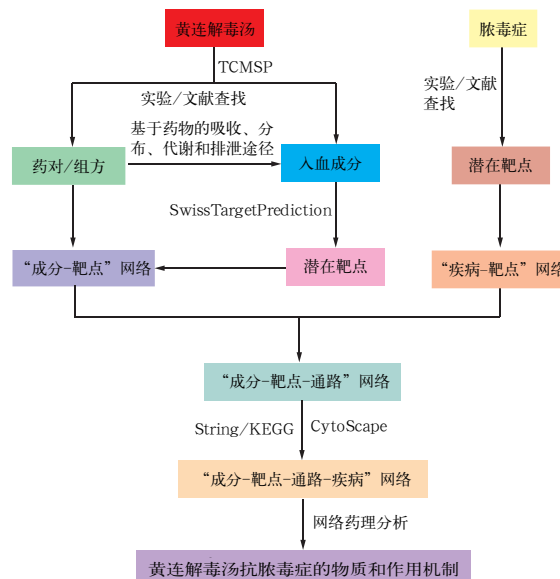


图 1 黄连解毒汤抗脓毒症的网络药理学研究思路示意图

1.2.2 活性成分的筛选:将黄连解毒汤的组方药物“黄连”“黄柏”“栀子”“黄芩”作为关键词,通

过检索 TCMSP^[6]挖掘黄连解毒汤现有化学成分数据,再根据中药药代动力学特征如中药的吸收、分布、代谢及排泄等,按照口服吸收利用度(oral absorbability, OB)>30%、药物相似性(drug-likeness, DL)>0.18 的条件作为基准与其他成分进行比较,选择符合条件的化学成分,所得结果即为黄连解毒汤中的活性成分。

1.2.3 活性成分潜在作用靶标反向预测:首先登陆 SwissTargetPrediction 服务器^[7],然后将黄连解毒汤中筛选出的活性成分以 Sdf-mol 的格式上传,通过反向药效团匹配法得到虚拟的筛选结果。最后将一些有活性的小分子作为引针寻找有潜在能力的药物靶标,以此来预测化合物具有的生物活性。

1.2.4 活性成分作用靶标的筛选:在 OMIM、TTD 和 CTD^[8]数据库中找到已报道的与脓毒症相关的靶标,再与反向预测获得的药物靶标信息进行对比分析,总结出二者之间相交的靶点基因,即为黄连解毒汤抗脓毒症的关键靶点。

1.2.5 靶标通路注释分析:通过 String 对关键靶蛋白进行基因本体(gene ontology, GO)注释,阐明靶蛋白的相关信息;通过 DAVID 6.8 对关键靶标信息进行 KEGG^[9]通路富集分析,选取具有统计学差异的通路($P<0.01$)构建黄连解毒汤抗脓毒症“化学成分-关键靶标-相关通路”的网络图。

1.2.6 构建“化学成分-作用靶标-相关通路-疾病靶标”网络图:通过 Cytoscape 3.7.1 软件绘制“化学成分-作用靶标-相关通路-疾病靶标”这 4 者之间的相关网络信息,从而探讨黄连解毒汤在抗脓毒症方面发挥作用的机制。

2 结果

2.1 黄连解毒汤活性成分筛选:采用 TCMSP 数据库,根据从数据库获得的信息对黄连解毒汤进行分析,发现该数据库中其已知成分为 429 个,将“OB>30% 和 DL>0.18”作为检索条件,筛选出 81 个入血活性成分汇总如下:黄连、黄芩、黄柏及栀子中分别各有 14、32、37 及 15 个化合物,其中黄连和黄柏中有 7 个相同化合物,黄连和黄芩、黄芩和栀子,以及黄连、黄柏和栀子与黄连、黄芩和黄柏中分别各有一个相同化合物,黄芩、黄柏和栀子中有 2 个相同化合物。

2.2 黄连解毒汤活性成分中潜在靶标信息:通过 SwissTargetPrediction 服务器进行分子反向对接实验,结果发现在 81 个活性成分中能预测出 43 个化

学成分与脓毒症的相关性很强,并对应 13 个靶蛋白,总频数为 82 次(表 1)。对“化合物-作用靶标”网络从整体上进行整理,发现在 43 个活性成分中存在一对多以及多对一的情况,即存在一种活性成分与多个靶蛋白相结合,多个活性成分与一个相同靶蛋白结合,这也体现了中药复方具有多种化学成分、多种靶标和多条途径的特征以及其他的作用机制。对预测得到的 13 个关键靶蛋白进行分析:①与调节血液循环相关的蛋白包括血管紧张素转换酶 2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)、腺苷受体 A1(adenosine receptor A1, ADORA1)、腺苷受体(adenosine receptors, ADORA2a, ADORA2b)、神经元乙酰胆碱受体亚基 α -7(neuronal acetylcholine receptor subunit α -7, CHRNA7)、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)、诱导型 NOS(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、内皮型 NOS(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、血小板活化因子受体(platelet activating factor receptor, PAFR)、前列腺素 G/H 合酶 2(prostaglandin G/H synthase 2, PTGS2)、信号转导与转录激活因子 1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1);②与调节血管参数直接相关的蛋白包括 ACE2、ADORA1、ADORA2a、ADORA2b、iNOS、eNOS、PAFR 和 PTGS2;③与调控外部刺激应答相关的蛋白包括 ACE2、ADORA1、ADORA2a、ADORA2b、CHRNA7、中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)、巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)、iNOS、eNOS、PTGS2 和 STAT1;④与调控压力应答相关的蛋白包括 ACE2、ADORA1、ADORA2a、ADORA2b、CHRNA7、NE、MIF、iNOS、eNOS、PAFR、PTGS2 和 STAT1;⑤与调控防御反应相关的蛋白包括雌激素受体 β (estrogen receptor β , ER β)、ACE2、ADORA1、ADORA2a、ADORA2b、CHRNA7、NE、iNOS、PAFR、PTGS2 和 STAT1。由此推测黄连解毒汤可能通过调节血液循环和血管参数、调控外部刺激应答、压力应答及防御反应从而起到治疗脓毒症的作用。

2.3 潜在靶标的作用通路注释及分析:将预测出的靶蛋白通过 DAVID 6.8 进行 KEGG 通路解析,共得到 12 条作用通路,具体解析如下:①与调节血液循环、调节血管参数、调控外部刺激应答及压力应答相关的通路有 12 条,即钙信号通路、精氨酸生物合成信号通路、作用于神经系统的神经活性配体-受

体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction, NLRI)信号通路、精氨酸和脯氨酸代谢信号通路、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)信号通路、利什曼病信号通路、缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)信号通路、雌激素信号通路、鞘磷脂信号通路、催产素信号通路、环鸟苷酸/蛋白激酶 G(cyclic guanosine monophosphate/protein kinase G, cGMP-PKG)信号通路和调节脂肪细胞脂解信号通路;②与调控防御反应相关的通路有 11 条,即通过钙途径的钙信号通路、精氨酸生物合成信号通路、NLRI 信号通路、精氨酸和脯氨酸代谢信号通路、VEGF 信号通路、利什曼病信号通路、HIF 信号通路、鞘磷脂信号通路、催产素信号通路、cGMP-PKG 信号通路和调节脂肪细胞脂解信号通路,具体信息见表 2。

表 1 黄连解毒汤抗脓毒症的 13 个靶蛋白信息

序号	蛋白质编号	靶蛋白信息	与活性成分结合数量(个)
1	P25105	PAFR	2
2	P30542	ADORA1	18
3	Q92731	ER β	12
4	P35228	iNOS	8
5	P29474	eNOS	8
6	P29274	ADORA2a	8
7	P29275	ADORA2b	1
8	P14174	MIF	2
9	P42224	STAT1	1
10	P35354	PTGS2	19
11	P08246	NE	1
12	P36544	CHRNA7	1
13	Q9BYF1	ACE2	1

表 2 13 个靶蛋白 KEGG 通路分析

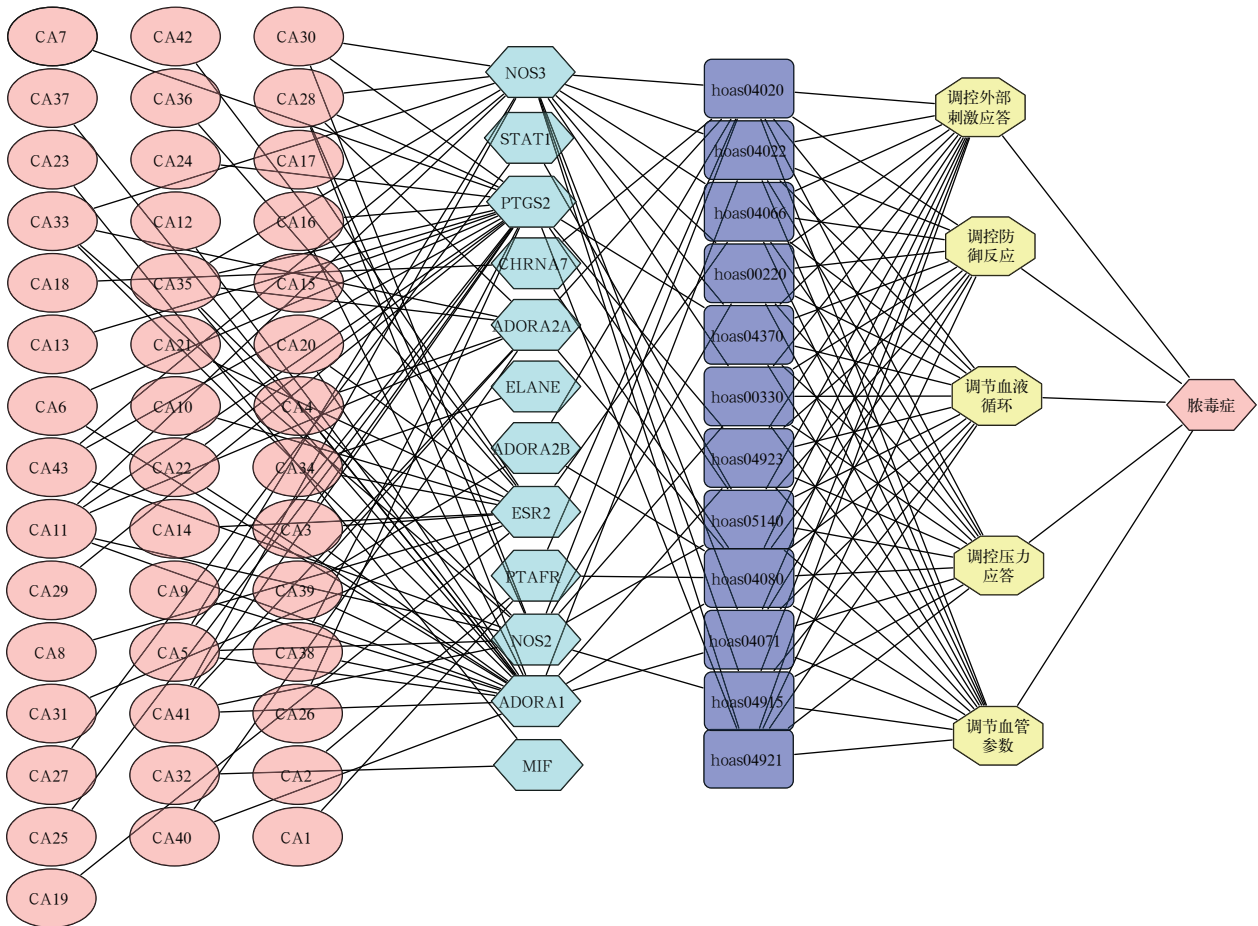
序号	通路	数量(个)	P 值
1	钙信号通路	7	2.3×10^{-7}
2	精氨酸生物合成信号通路	3	4.9×10^{-4}
3	NLRI 信号通路	5	1.1×10^{-3}
4	精氨酸和脯氨酸代谢信号通路	3	3.8×10^{-3}
5	VEGF 信号通路	3	4.2×10^{-3}
6	利什曼病信号通路	3	8.4×10^{-3}
7	HIF 信号通路	3	1.2×10^{-2}
8	雌激素信号通路	3	1.2×10^{-2}
9	鞘磷脂信号通路	3	1.7×10^{-2}
10	催产素信号通路	3	2.5×10^{-2}
11	cGMP-PKG 信号通路	3	3.0×10^{-2}
12	调节脂肪细胞脂解信号通路	2	8.7×10^{-2}

2.4 构建“化学成分-作用靶标-相关通路-疾病靶标”网络图(图 2):采用 Cytoscape 软件对黄连解毒汤的“化学成分-作用靶标-相关通路-疾病靶标”网络图进行构建得到 43 个化合物、13 个靶蛋白、

12 条作用通路、5 种作用途径与脓毒症间的关系网络。化合物与预测的靶蛋白之间的连接线越多,线性密度越大,表明它们之间的相互作用更为密切。从图 2 中可以看出黄连解毒汤多成分、多靶点以及多通路抗脓毒症的特点。

3 讨论

通过网络药理学分析,发现黄连解毒汤中有 43 个人血活性成分能起到抗脓毒症的作用,其中 11, 13- 二十碳二烯酸甲酯、刺槐黄素、菜油甾醇、坎得毒素 A、红花素等可与 ADORA1、ER β、iNOS、eNOS、PTGS2 等蛋白结合从而调控多条信号通路发挥抗脓毒症作用。PAFR 是一种趋化磷脂介质,能激活磷脂酰肌醇-钙第二信使系统的 G 蛋白诱导其发挥抗炎、平滑肌收缩和降压活性;ADORA1、ADORA2a 和 ADORA2b 通过 G 蛋白介导抑制腺苷酸环化酶调控炎症反应。ER2 和 ER1 具有相似的雌激素结合能力,然后通过雌激素依赖性途径启动含有雌激素反应元件的基因表达^[10],调控炎症反应。iNOS 能产生一氧化氮(nitric oxide, NO),作为一种信号分子,在全身有不同的功能^[11-12],在巨噬细胞中 iNOS 可介导炎症反应^[13],增强炎症介质如白细胞介素(interleukins, IL-6、IL-8)的合成^[14];eNOS 能通过 cGMP 介导的信号转导途径产生 NO 参与血管平滑肌松弛,阻止平滑肌和骨骼肌增生,减少血小板黏附与聚集,进而减少白细胞黏附于内皮细胞;在正常情况下 eNOS 与器官的灌注有直接关系,而脓毒症发生时 eNOS 的活性会明显下降,导致白细胞和血小板在毛细血管内聚集^[15-16]。脓症患者发生休克时 NO 通过调节其血容量和蛋白渗漏缓解休克^[17];脓毒症急性期 iNOS 表达能增加代偿组织损伤,从而重新构建血流^[18];因此推断脓毒症与 eNOS 和 iNOS 的活性高低及 NO 合成的量有关。MIF 是一种调节炎症的小分泌蛋白细胞因子,能参与细菌病原体的先天免疫反应,在对炎症部位 MIF 的表达指标检测表明, MIF 在巨噬细胞中可介导宿主防御功能,调控免疫反应。STAT1 能介导细胞对于干扰素、细胞因子 Kit 配体/干细胞因子和其他细胞因子及生长因子的反应,使 STAT1 和 STAT2 的酪氨酸进行磷酸化激活;PTGS2 是花生四烯酸与前列腺素 H2 之间转化的关键成分,能通过调节细胞相关运动、提高细胞增殖率、降低细胞凋亡等方式调控脓毒症。脂氧素 A4 是花生四烯酸的代谢物,可通过调节吞噬细胞小胶质细胞的 15-R- 脂氧素 A4



注: CA1 为 11, 13-二十碳二烯酸甲酯, CA2 为黄麻苷 A, CA3 为 (2R)-7-羟基-5-甲氧基-2-苯基染色体-4 酮, CA4 为 3-甲基肯普费罗, CA5 为 5, 2', 6'-三羟基-7, 8-二甲氧基黄酮, CA6 为 5, 2'-二羟基-6, 7, 8-三甲氧基黄酮, CA7 为 5, 7, 2, 5-四羟基-8, 6-二甲氧基黄酮, CA8 为 5, 7, 2', 6'-四羟基黄, CA9 为 5, 7, 4'-三羟基-6-甲氧基黄酮, CA10 为 5, 7, 4'-三羟基-8-甲氧基黄酮, CA11 为 5, 8, 2'-三羟基-7-甲氧基黄酮, CA12 为 5-羟基-7-甲氧基-2-(3, 4, 5-三甲氧基苯基)色酮, CA13 为金合欢素, CA14 为菜油甾醇, CA15 为坎得毒素 A, CA16 为红花素, CA17 为甾烯醇杂质, CA18 为 Δ⁷-去氢槐胺碱, CA19 为二氢黄芩苷, CA20 为二氢木精 A, CA21 为黄烷酮, CA22 为猴头菇酮, CA23 为基哈达内酯 A, CA24 为山达宁 A, CA25 为广玉兰内酯, CA26 为亚麻油酸乙酯, CA27 为苦楝子酮, CA28 为苏莽黄酮, CA29 为莫匹那胺, CA30 为 N-甲基弗林德辛, CA31 为诺沃戈宁, CA32 为黄柏酮, CA33 为千层纸甲素 A, CA34 为帕米丁 A, CA35 为降穿心莲黄酮, CA36 为二氢黄柏苷, CA37 为异黄柏苷, CA38 为半枝莲素, CA39 为吴茱萸次碱, CA40 为鼠尾草素, CA41 为头骨黄酮, CA42 为苏丹 3 号, CA43 为汉黄芩素, hoas04020 为钙信号通路, hoas04022 为 cGMP-PKG 信号通路, hoas04066 为 HIF 信号通路, hoas00220 为精氨酸生物合成信号通路, hoas04370 为 VEGF 信号通路, hoas00330 为精氨酸和脯氨酸代谢信号通路, hoas04923 为调节脂肪细胞脂解信号通路, hoas05140 为利什曼病信号通路, hoas04080 为 NLR1 信号通路, hoas04071 为鞘磷脂信号通路, hoas04915 为雌激素信号通路, hoas04921 为催产素信号通路

图 2 黄连解毒汤抗脓毒症的“化学成分-作用靶标-相关通路-疾病靶标”网络图

调控神经炎症反应^[19-20]。NE 能修饰自然杀伤细胞, 与炎症和组织的破坏密切相关^[21]。CHRNA7 可以与乙酰胆碱结合, 形成乙酰胆碱受体通过影响所有亚基构象的广泛变化, 导致离子传导通道在质膜上的开放, 从而形成级联反应调控炎症反应。ACE2 能通过切割血管紧张素 II 对脓毒症急性肺损伤起保护作用^[22-23]; 同时作为氨基酸转运蛋白 SL6A19 在肠道中的结合伙伴, 可通过调节氨基酸转运调控脓毒症反应^[24-25]。以上表明黄连解毒汤各化合物能通过多个靶点起到抗脓毒症的作用。同时这些靶蛋白也参与多条通路, 除疾病通路外, 其余通路均与脓毒症的发生机制有直接或间接关系。研究

表明, 脓毒症患者心肌舒缩功能出现障碍, 最主要是由于心肌细胞中的钙离子失调导致不平衡的出现^[26]; 同时脓毒症时炎症介质激活剂会通过钙离子依赖途径提高内皮细胞的渗透性, 一旦激活剂与其相对应的内皮细胞受体结合, 就会出现信号级联反应, 从而直接刺激 VEGF 受体或通过 G 蛋白间接激活磷脂酶 C 产生相应反应^[27]; 而且钙离子会激活 NOS, 产生 NO 和 cGMP, 而 cGMP 会使 cGMP 依赖的 PKG 启动。NO-PKG 起介质的作用, 可作为生理介质, 也可以作为病理介质调节内皮屏障的结构和功能, 如血管生长因子和促炎剂^[28]。以上研究结果均表明, 钙信号通路、VEGF 信号通路及 NLR1 信号

通路在治疗脓毒症方面是非常重要的;有研究者采用气相色谱/质谱法通过非靶向代谢组学分析脓症患者回肠、空肠、腓肠肌内侧骨骼肌、肝脏和肺发现,骨骼肌和肝脏的精氨酸/脯氨酸代谢有显著变化^[29];同时动物和临床研究均表明,脓毒症时精氨酸仅为正常水平的 30% 左右^[30],这也说明精氨酸的生物合成与精氨酸和脯氨酸代谢信号通路在脓毒症治疗中有重要意义。

通过对黄连解毒汤“化学成分-作用靶标-相关通路-疾病靶标”网络的整体分析和对黄连解毒汤抗脓毒症的体内研究,结果表明,黄连解毒汤有很好的抗脓毒症作用,而治疗脓毒症的机制可能是通过上述靶点和通路途径。黄连解毒汤配方中的成分能作用于多个靶标及通路,也有多个成分能作用于同一个靶标及通路,体现出了中药复方制剂具有多种成分、多个靶标、多条通路的特点。本研究为分析黄连解毒汤治疗脓毒症的物质成分及作用机制提供了一种新的研究思路,为后续的临床研究提供了必要依据^[31-32]。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郭松,徐煜彬,陈桂荣.红花素抗脓毒症潜在靶点筛选及鉴定[J].中华危重病急救医学,2021,33(1):23-27. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200508-00368.
- [2] Davis T, Weintraub A, Makley M, et al. The intersection of cerebral fat embolism syndrome and traumatic brain injury: a literature review and case series [J]. Brain Inj, 2020, 34 (8): 1127-1134. DOI: 10.1080/02699052.2020.1776898.
- [3] 于洋.脓毒症流行病学的研究进展[J].临床急诊杂志,2015,16(6):416-418,420. DOI: 10.13201/j.issn.1009-5918.2015.06.004.
- [4] 张文杰,何英丽,王涛,等.脓毒症新常态及其治疗研究进展[J].中国全科医学,2017,20(35):4470-4474. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2017.00.001.
- [5] 杨华,齐炼文,李会军,等.以“等效成分群”为标示量的中药质量控制体系的构建[J].世界科学技术-中医药现代化,2014,16(3):510-513. DOI: 10.11842/wst.2014.03.010.
- [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] Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, et al. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42 (Web Server issue): W32-38. DOI: 10.1093/nar/gku293.
- [8] Davis AP, Wieggers TC, King BL, et al. Generating gene ontology-disease inferences to explore mechanisms of human disease at the comparative toxicogenomics database [J]. PLoS One, 2016, 11 (5): e0155530. DOI: 10.1371/journal.pone.0155530.
- [9] Garcia-Campos MA, Espinal-Enriquez J, Hernández-Lemus E. Pathway analysis: state of the art [J]. Front Physiol, 2015, 6: 383. DOI: 10.3389/fphys.2015.00383.
- [10] 肖为.脓毒症治疗的现状与新进展[J].医学综述,2014,20(8):1425-1429. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2014.08.028.
- [11] Williams SC. After Xigris, researchers look to new targets to combat sepsis [J]. Nat Med, 2012, 18 (7): 1001. DOI: 10.1038/nm0712-1001.
- [12] Koyama S, Wada-Hiraike O, Nakagawa S, et al. Repression of estrogen receptor beta function by putative tumor suppressor DBC1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 392 (3): 357-362. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.01.025.
- [13] Jia J, Arif A, Terenzi F, et al. Target-selective protein S-nitrosylation by sequence motif recognition [J]. Cell, 2014, 159 (3): 623-634. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.032.
- [14] Vuolteenaho K, Koskinen A, Kukkonen M, et al. Leptin enhances synthesis of proinflammatory mediators in human osteoarthritic cartilage: mediator role of NO in leptin-induced PGE2, IL-6, and IL-8 production [J]. Mediators Inflamm, 2009, 2009: 345838. DOI: 10.1155/2009/345838.
- [15] Hallemeesch MM, Janssen BJ, de Jonge WJ, et al. NO production by eNOS and iNOS reflects blood pressure changes in LPS-challenged mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 285 (4): E871-875. DOI: 10.1152/ajpendo.00004.2002.
- [16] Kelly E, Morris SM Jr, Billiar TR. Nitric oxide, sepsis, and arginine metabolism [J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 1995, 19 (3): 234-238. DOI: 10.1177/0148607195019003234.
- [17] Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Characterization of the L-arginine:nitric oxide pathway in human platelets [J]. Br J Pharmacol, 1990, 101 (2): 325-328. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1990.tb12709.x.
- [18] Filep JG, Delalandre A, Beauchamp M. Dual role for nitric oxide in the regulation of plasma volume and albumin escape during endotoxin shock in conscious rats [J]. Circ Res, 1997, 81 (5): 840-847. DOI: 10.1161/01.res.81.5.840.
- [19] Lucido MJ, Orlando BJ, Vecchio AJ, et al. Crystal structure of aspirin-acetylated human cyclooxygenase-2: insight into the formation of products with reversed stereochemistry [J]. Biochemistry, 2016, 55 (8): 1226-1238. DOI: 10.1021/acs.biochem.5b01378.
- [20] Orlando BJ, Malkowski MG. Substrate-selective inhibition of cyclooxygenase-2 by fenamic acid derivatives is dependent on peroxide tone [J]. J Biol Chem, 2016, 291 (29): 15069-15081. DOI: 10.1074/jbc.M116.725713.
- [21] Tralau T, Meyer-Hoffert U, Schröder JM, et al. Human leukocyte elastase and cathepsin G are specific inhibitors of C5a-dependent neutrophil enzyme release and chemotaxis [J]. Exp Dermatol, 2004, 13 (5): 316-325. DOI: 10.1111/j.0906-6705.2004.00145.x.
- [22] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9 [J]. Circ Res, 2000, 87 (5): E1-9. DOI: 10.1161/01.res.87.5.e1.
- [23] Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, et al. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (43): 33238-33243. DOI: 10.1074/jbc.M002615200.
- [24] Kowalczyk S, Bröer A, Tietze N, et al. A protein complex in the brush-border membrane explains a Hartnup disorder allele [J]. FASEB J, 2008, 22 (8): 2880-2887. DOI: 10.1096/fj.08-107300.
- [25] Camargo SM, Singer D, Makrides V, et al. Tissue-specific amino acid transporter partners ACE2 and collectrin differentially interact with hartnup mutations [J]. Gastroenterology, 2009, 136 (3): 872-882. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.055.
- [26] 朱颖,严静.钙平衡失调在脓毒症心肌损伤中的作用[J].心脑血管病防治,2014(2):149-151. DOI: 10.3969/j.issn.1009-816x.2014.02.24.
- [27] Rigor RR, Shen Q, Pivetti CD, et al. Myosin light chain kinase signaling in endothelial barrier dysfunction [J]. Med Res Rev, 2013, 33 (5): 911-933. DOI: 10.1002/med.21270.
- [28] Yuan SY, Breslin JW, Perrin R, et al. Microvascular permeability in diabetes and insulin resistance [J]. Microcirculation, 2007, 14 (4-5): 363-373. DOI: 10.1080/10739680701283091.
- [29] 苏晋,祝益民,蒋宇,等.气相色谱-质谱联用技术检测脓毒症大鼠血浆氨基酸相关代谢产物的研究[J].中华危重病急救医学,2017,29(4):332-336. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.04.009.
- [30] 孟繁魁,苏磊,陶雪飞,等.脓毒症中精氨酸代谢变化及应用的研究进展[J].广东医学,2009,30(6):996-997. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9448.2009.06.076.
- [31] 郑贵军,李银平.组织因子和组织因子途径抑制物与脓毒症[J].中国中西医结合急救杂志,2008,15(2):126-128. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2008.02.024.
- [32] 殷冬梅,李银平.微粒与脓毒症凝血功能紊乱[J].中国中西医结合急救杂志,2009,16(3):190-192. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.03.031.

(收稿日期:2022-03-28)