

本文引用:刘文龙,赵靖,张喜利,常铮,刘志军,葛金文.基于网络药理学探讨新伤湿敷液治疗软组织损伤的作用机制[J].湖南中医药大学学报,2021,41(4):576-585.

# 基于网络药理学探讨新伤湿敷液治疗软组织损伤的作用机制

刘文龙<sup>1,2,3</sup>,赵靖<sup>2,3</sup>,张喜利<sup>2,3</sup>,常铮<sup>2,3</sup>,刘志军<sup>1\*</sup>,葛金文<sup>2\*</sup>

(1.湖南中医药大学附属常德医院,湖南常德415000;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208;  
3.中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室,湖南长沙410208)

**[摘要] 目的** 采用网络药理学及分子对接技术探讨新伤湿敷液治疗软组织损伤的成分、靶点、通路三者之间的相互作用机制。**方法** 通过文献查找及TCMSP数据库获取新伤湿敷液活性成分,利用TCMSP及SWISS数据库获取对应靶标并与GeneCards、OMIM数据库所获疾病靶标交集以得到核心靶点,基于STRING平台构建靶点相互作用网络并通过Cytoscape软件可视化复方-药物-成分-靶点-通路网络,Metascape数据库对核心靶点进行GO及KEGG可视化分析,最后将所得结果导入Sybyl软件进行分子对接。**结果** 分析得到新伤湿敷液中活性成分作用于56个核心靶点;且分子对接结果显示新伤湿敷液中emodin、baicalin、baicalein等成分与PIK3CA等靶点亲和力强。**结论** 新伤湿敷液中的活性成分可能通过作用于PIK3CA等靶点以调节Th17细胞分化、TNF、IL-17等通路以治疗软组织损伤。

**[关键词]** 软组织损伤;网络药理学;新伤湿敷液;分子对接;作用机制

**[中图分类号]**R285 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.04.014

## Possible Mechanisms of Xinshang Shifu Liquid in Treating Soft Tissue Injury Based on Network Pharmacology

LIU Wenlong<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Jing<sup>2,3</sup>, ZHANG Xili<sup>2,3</sup>, CHANG Zheng<sup>2,3</sup>, LIU Zhijun<sup>1\*</sup>, GE Jinwen<sup>2\*</sup>

(1. Changde Hospital Affiliated to Hunan University of Chinese Medicine, Changde, Hunan 415000, China;  
2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Hunan Key Laboratory of  
Druggability and Preparation Modification for Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract] Objective** Network pharmacology and molecular docking technology were utilized to explore interaction mechanisms among the components, targets and pathways of Xinshang Shifu Liquid in treatment of soft tissue injury. **Methods** The active ingredients of Xinshang Shifu Liquid were obtained from literature searches and TCMSP database, and corresponding targets were get from TCMSP and SWISS databases. Disease targets were retrieved via GeneCards and OMIM databases. Core targets were identified by intersecting disease targets with active ingredient action targets. Building a target interaction network based on STRING platform and through Cytoscape software to visualize the prescription-drug-component-target-pathway network. Metascape database performs GO and KEGG visualization analysis on the core targets, and finally the results were imported into Sybyl

**[收稿日期]**2020-11-16

**[基金项目]**中国博士后科学基金项目(2018M640755);国家自然科学基金项目(81874344);长沙市科技计划项目(kq1907136);湖南省中医药管理局项目(2019104);湖南省教育厅项目(19C1435)。

**[作者简介]**刘文龙,男,博士,教授,研究方向:中药质量与药剂学等研究。

**[通讯作者]\***刘志军,男,教授,主任医师,E-mail:liuzhijun@sohu.com;葛金文,男,教授,博士研究生导师,E-mail:40831556@qq.com。

software for molecular docking. **Results** It was analyzed that active ingredients in Xinshang Shifu liquides act on 56 core targets, and the molecular docking results showed that emodin, baicalin, baicalein and other compounds in the Xinshang Shifu Liquid have a strong affinity with PIK3CA and other targets. **Conclusion** The effective compounds in Xinshang Shifu Liquid may interact with PIK3CA and other targets, and regulate Th17 cell differentiation, TNF, IL-17 and other pathways to treat soft tissue injury.

[**Keywords**] soft tissue injury; network pharmacology; Xinshang Shifu Liquid; molecular docking; mechanism of action

软组织损伤系临床上一种常见性、多发性病症,常为软组织或骨骼肌肉受到直接或者间接暴力所致,患处多表现出肿胀、瘀斑、疼痛、压痛、出血、骨折、脱臼及功能障碍等症状<sup>[1-3]</sup>。近年来,各种意外所致的软组织损伤发生率较高且仍呈现上升趋势,软组织损伤性病患约占据骨科、针灸科、推拿科等科室就诊人次的50%~80%,严重影响了人们的生活质量<sup>[4]</sup>。软组织损伤在中医证候中属“筋伤”范畴,因血溢脉外、瘀血留滞,以致经脉不通、不通则痛,其本质被认为是瘀血阻络,治之以行气化瘀、消肿清热为主<sup>[5]</sup>。

新伤湿敷液为我院刘志军教授结合其数十年临床用药经验所组方剂,在临床上应用多年,其消肿止痛、散瘀活血方面疗效显著。本方由铁箍散、虎杖、千年健、红花、寻骨风等组成<sup>[2,6]</sup>,对其研究尚处于表观研究阶段,其作用机制及分子机制尚且未知。

中药复方因其多成分、多靶点、多通路的作用特点而难以揭示其分子作用机制<sup>[7]</sup>。网络药理学从药物多种活性成分与疾病靶点相互作用整体性出发,构建出“成分-靶点-通路”复杂的生物网络关系以预测药物作用于疾病的作用机制<sup>[8-10]</sup>,可为中药诊治现代化研究提供方法。故本研究结合网络药理学及分子对接技术,对新伤湿敷液中所含成分研究,分析其在软组织损伤中的作用靶点及相应机制,为后续研究提供一定的理论依据。

## 1 方法

### 1.1 新伤湿敷液化学成分及靶点筛选

采用 TCMSp 平台 (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)<sup>[11]</sup>检索新伤湿敷液中虎杖、千年健、红花、寻骨风的全部化学成分,根据其药代动力学参数设置口服吸收率( $OB \geq 30\%$ )、类药性( $DL \geq 0.18$ )以筛选出活性成分,并基于其活性成分得到相应的潜在作用靶点。此外,通过文献检索铁箍散所含化学成分<sup>[12-13]</sup>,使用 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)<sup>[14]</sup>得到其化学结构式并导入 SwissADME 数据库 (<http://www.swissadme.ch/index.php>),并经 Swiss TargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)<sup>[15]</sup>预测靶点,录入可能性(Probability>0)的靶点。所得靶点均需经 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>)<sup>[16]</sup>规范后标准化其命名。

1.2 疾病相关基因筛选

软组织损伤以“soft tissue injury”为检索词在“Gene Cards”数据库 (<https://www.genecards.org/>)<sup>[17]</sup>进行检索,以“OMIM”数据库 (<https://www.omim.org/>)<sup>[18]</sup>作为补充,查找相应软组织损伤相应靶点,所得靶点经 Uniprot 数据库规范后,剔除重复数据,得到最终疾病靶点基因。

### 1.2 疾病相关基因筛选

1.3 成分靶点与疾病靶点的交集靶点获取

将新伤湿敷液筛选出的作用靶点映射到软组织损伤疾病靶点中,获得新伤湿敷液治疗软组织损伤的潜在作用靶点集,构建韦恩图。

### 1.4 靶蛋白相互作用网络的构建

通过 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>)<sup>[19]</sup>,对 1.3 获得的共同靶点进行分析,设置蛋白种类为“homo sapiens”,交互作用评分为 0.9,获取靶蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 图,使用 Cytoscape 3.7.2 软件 cytoNCA 功能<sup>[20]</sup>对交集的网络进行拓扑分析,计算各节点度值、介数、最短路径值、筛选出度值 $\geq$ 两倍中位数,介数、最短路径值 $\geq$ 中位数的所有靶点,即得核心靶点。

### 1.5 GO 功能富集与 KEGG 通路分析

将核心靶点导入 Metascape 数据库 (<https://metascape.org/>),进行 GO 富集分析,探讨药物作用的生物学过程;进行 KEGG 分析,探讨药物作用的生物通路。最后以  $P < 0.01$  为具有极显著性对数据筛选,筛选出中药主要有效成分及药物作用于疾病的潜在靶点与通路;将所得结果导入 Cytoscape 3.7.2 软件绘制出“复方-药物-成分-靶点-通路”网络图。

### 1.5 GO 功能富集与 KEGG 通路分析

将核心靶点导入 Metascape 数据库 (<https://metascape.org/>),进行 GO 富集分析,探讨药物作用的生物学过程;进行 KEGG 分析,探讨药物作用的生物通路。最后以  $P < 0.01$  为具有极显著性对数据筛选,筛选出中药主要有效成分及药物作用于疾病的潜在靶点与通路;将所得结果导入 Cytoscape 3.7.2 软件绘制出“复方-药物-成分-靶点-通路”网络图。

## 1.6 分子对接验证

对上述新伤湿敷液中的主要活性成分和软组织损伤核心靶基因进行分子对接,首先利用 Cytoscape 筛选出新伤湿敷液主要活性成分,在 Pubchem 数据库下载其 3D 结构式 SDF 格式,利用蛋白数据库 RCSB PDB<sup>[21]</sup>获得解析度小于 3Å 并具有配体的核心靶点蛋白,利用 SYBYL 软件对包含配体的蛋白受体,进行配体筛选、去水分子、修复残基、加氢等处理,采用 AMBER7 FF99 力场能量优化后构建活性口袋,用 Surflex-Dock 模块进行对接并得到总分值,分值越高则配体与受体的结合能力越强<sup>[22]</sup>,并将新伤湿敷液活性成分与阳性药分子对比相应分值,分析结果。

## 2 结果

### 2.1 新伤湿敷液活性成分及靶点筛选

经 TCMSp 平台及文献检索,检索出 381 个化合物,其中铁箍散 58 个、红花 189 个、虎杖 62 个、千年健 45 个、寻骨风 27 个,以 TCMSp 平台  $OB \geq 30\%$ ,  $DL \geq 0.18$  为条件及 SwissADME 数据库筛选并剔除无靶点对应成分后得出 54 个活性成分,铁箍散目前研究较少,故将其内已发现活性而未符合筛选条件的成分也列入本次考察。其中 polydatin、resveratrol、emodin 经文献调研<sup>[23]</sup>为虎杖主要活性成分,然未符合筛选条件,为保证预测准确性,故仍将其纳入筛选。活性成分根据其来源进行编号,共有成分以 A、B、C 编号并通过 TCMSp 及 Swiss TargetPrediction 数据库检索得到与活性成分相对应 455 个潜在作用靶点。见表 1。

### 2.2 疾病相关基因筛选

通过 GeneCards 数据库与 OMIM 数据库,收集软组织损伤相关靶点基因并剔除重复值,共收集到 3 991 个疾病靶点基因。

### 2.3 交集靶点获取

将新伤湿敷液 455 个潜在作用靶点与 3 991 个疾病相关靶点基因经构建 Venny 图分析,得到新伤湿敷液作用软组织损伤 330 个交集靶点,其中铁箍散 62 个、红花 168 个、虎杖 221 个、千年健 26 个、寻骨风 30 个。见图 1。

### 2.4 靶蛋白相互作用网络的构建

将所得 330 个交集靶点导入 STRING 数据库,限定条件为“Homo sapiens”,交互作用评分为 0.9,得到蛋白间相互作用信息,进一步采用 CytoNCA 计算网络节点的度值、介数、最短路径值。通过数据值得出度值中位数为 11.000 0,介数为 104.153 8,最短路径值为 0.063 9,故根据度值  $\geq 22$ ,介数  $\geq 104.153 8$ ,最短路径值  $\geq 0.063 9$  为综合筛选条件,筛选出 330 个交集靶点中的 56 个关键靶点(表 2),进而得到 PPI 核心靶点网络图。见图 2。

### 2.5 GO 功能富集与 KEGG 通路分析

利用 Metascape 数据库,分别从生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组分(cellular component, CC)对 56 个核心靶点进行 GO 富集分析,分析核心靶点所参与的生物过程。以  $P < 0.01$  为筛选条件,BP、MF、CC 富集条目分别为 1705、95、73 条,选取前 20 位结果见图 3。结果显示新伤湿敷液治疗软组织损伤作用靶点参与的生物学过程为细胞因子介导的信号通路(cytokine-mediated signaling pathway)、转移酶活性的正调控(positive regulation of transferase activity)等;分子功能主要为激酶结合(kinase binding)、蛋白激酶结合(protein kinase binding)等;膜筏(membrane raft)、膜微区(membrane microdomain)等细胞组分所占的比例最大。

进行 KEGG 信号通路富集分析获得新伤湿敷液治疗软组织损伤的 148 条信号通路,对部分结果可视化处理,结果见图 3。提示新伤湿敷液治疗软组织损伤显著影响的信号通路为 Th17 细胞分化(Th17 cell differentiation)、T 细胞受体信号通路(T cell receptor signaling pathway)等,由 KEGG 分析可知前 20 条与软组织损伤有关通路主要集中在自身免疫应答、炎症因子方面。

将获得的药物、活性成分、核心靶点、KEGG 通路信息构建多维网络图,从多维网络图各个节点之间的相互作用关系可获得复方-药物-成分-靶点-通路之间的关系,结果见图 4。

### 2.6 新伤湿敷液主药有效化合物与其作用的软组织损伤靶点分子对接

新伤湿敷液中通过 Cytoscape 筛选出度值  $\geq$  两倍中位值的活性成分,但筛选结果中未含铁箍散

表1 新伤湿敷液活性成分

编号	活性成分	来源	OB/%	DL
TGS1	borneol	铁箍散(TGS)	81.80	0.05
TGS2	4-terpineol	铁箍散(TGS)	40.75	0.03
TGS3	alpha-terpineol	铁箍散(TGS)	34.01	0.03
TGS4	nerol	铁箍散(TGS)	35.66	0.02
TGS5	carvacrol	铁箍散(TGS)	43.28	0.03
TGS6	elemol	铁箍散(TGS)	39.27	0.11
TGS7	(+)-spathulenol	铁箍散(TGS)	81.61	0.12
TGS8	ledol	铁箍散(TGS)	82.78	0.12
TGS9	T-muurolol	铁箍散(TGS)	30.41	0.09
TGS10	alpha-eudesmol	铁箍散(TGS)	25.02	0.10
TGS11	alpha-cadinol	铁箍散(TGS)	64.81	0.09
HH1	poriferast-5-en-3beta-ol	红花(HH)	36.91	0.75
HH2	4-[(E)-4-(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)but-2-enylidene]-2,6-dimethoxycyclohexa-2,5-dien-1-one	红花(HH)	48.47	0.36
HH3	lignan	红花(HH)	43.32	0.65
HH4	pyrethrinII	红花(HH)	48.36	0.35
HH5	6-hydroxykaempferol	红花(HH)	62.13	0.27
HH6	baicalein	红花(HH)	33.52	0.21
HH7	qt_carthamone	红花(HH)	51.03	0.2
HH8	quercetagetin	红花(HH)	45.01	0.31
HH9	7,8-dimethyl-1H-pyrimido[5,6-g]quinoxaline-2,4-dione	红花(HH)	45.75	0.19
HH10	beta-carotene	红花(HH)	37.18	0.58
HH11	kaempferol	红花(HH)	41.88	0.24
HH12	stigmaterol	红花(HH)	43.83	0.76
HH13	CLR	红花(HH)	37.87	0.68
HZ1	6,8-dihydroxy-7-methoxyxanthone	虎杖(HZ)	35.83	0.21
HZ2	physovenine	虎杖(HZ)	106.21	0.19
HZ3	picralinal	虎杖(HZ)	58.01	0.75
HZ4	physciondiglucoside	虎杖(HZ)	41.65	0.63
HZ5	rhein	虎杖(HZ)	47.07	0.28
HZ6	torachryson-8-O-beta-D-(6'-oxayl)-glucoside	虎杖(HZ)	43.02	0.74
HZ7	(+)-catechin	虎杖(HZ)	54.83	0.24
HZ8	polydatin	虎杖(HZ)	21.44	0.50
HZ9	resveratrol	虎杖(HZ)	41.13	0.11
HZ10	emodin	虎杖(HZ)	24.40	0.24
QNJ1	maristeminal	千年健(QNJ)	30.64	0.38
XGF1	sitosterol	寻骨风(XGF)	36.91	0.87
XGF2	9-ethoxyaristolactone	寻骨风(XGF)	75.17	0.73
XGF3	9-ethoxyaristolactam	寻骨风(XGF)	68.00	0.72
XGF4	mollugin	寻骨风(XGF)	42.34	0.26
XGF5	aristolosite_qt	寻骨风(XGF)	40.32	0.60
A	beta-sitosterol	红花(HH)/虎杖(HZ)/千年健(QNJ)/寻骨风(XGF)	36.91	0.75
B	luteolin	虎杖(HZ)/红花(HH)	36.16	0.25
C	quercetin	虎杖(HZ)/红花(HH)	46.43	0.28



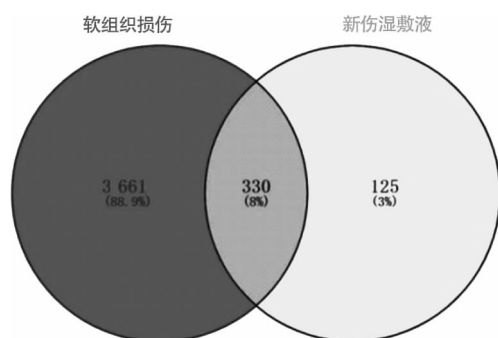


图 1 软组织损伤-新伤湿敷液靶点韦恩图

活性成分,为保证数据的完整性,纳入铁箍散活性成分度值前两位,故最终分析包括quercetin、luteolin、resveratrol、beta-sitosterol、emodin、baicalin、baicalein、beta-carotene、alpha-eudesmol、nerol。其在治疗软组织损伤中可能发挥重要作用,并从 Drug bank 搜索治疗软组织损伤非甾体药物 ketorolac 作为阳性对照。根据 PPI 网络筛选其核心靶点度值 $\geq 60$ 的靶标,即 PIK3CA、STAT3、AKT1、SRC、MAPK3、MAPK1、TP53。使用 Surflex-Dock Screen 与新伤湿敷液筛选所得 10 个主要活性物质与阳性药物进行对接,得到总分值。采用 Sybyl-X 2.0 软件对 7 个关键靶点蛋白与 11 个重要成分进行分子对接验证。完成对接模拟之后,根据关键药效分子和核心靶点最低结合能值绘制热图。见图 5。另选取部分总分值较大的分子对接进行展示。见图 6。

结果显示主要活性成分与核心靶标均有不同程度的结合,STAT3 与 MAPK1 靶点仅有 2 组分分值大于阳性药物,PIK3CA 有 7 组分,AKT1、SRC、TP53 则存在 8 组分,所有组分与 MAPK3 的结合分值均大于阳性药物。故推测新伤湿敷液的主要活性成分发挥良好效应的靶点为 MAPK3、AKT1 等,而在 STAT3、MAPK1 靶点结合较差,影响其疗效的发挥。

### 3 讨论

软组织损伤导致的患处肿胀疼痛已经严重地影响了患者日常生活质量,新伤湿敷液作为湖南中医药大学常德附属医院院内制剂,在骨科科室疗效显著且并未出现不良反应,现已被广泛应用于软组织损伤的临床治疗。然而新伤湿敷液治疗软组织损伤作用机制仍未进行系统性研究,故本研究应用网络药理学及分子对接技术,构建复方-药物-成分-靶

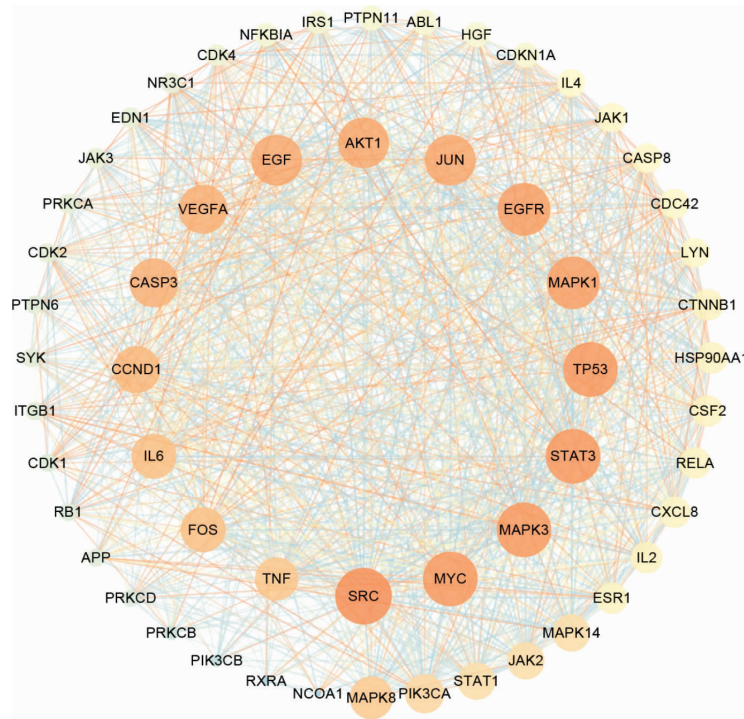
点-通路网络,以探索其治疗软组织损伤的物质基础及作用机制。

本研究通过对新伤湿敷液进行网络药理学探索,筛选出其活性成分及交集靶点,并筛选出其主要活性成分。研究<sup>[24-25]</sup>表明,上述化合物多是通过抗炎及增强免疫系统活性来发挥其药理作用。其中,quercetin 可抑制凝血酶和凝血因子活性,阻断纤维蛋白的形成<sup>[26]</sup>,使血不溢脉外以消肿;luteolin 可抑制诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxygen synthase, iNOS)的表达及 NO、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生并激活抗氧化酶以抑制下游促炎细胞因子表达,同时下调 NF- $\kappa$ B 通路、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路以达到其抗炎作用<sup>[27]</sup>。resveratrol 通过激活 Sirtuin-1 以抑制 RelA 乙酰化,进而下调 NF- $\kappa$ B 诱导的炎症因子表达<sup>[28]</sup>。beta-sitosterol 可下调肽聚糖(peptidoglycan, PGN)诱导的炎症细胞因子 IL-6 和 IL-8,并显著降低 ROS 的产生,刺激后可诱导 HaCaT 细胞抗炎蛋白血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)的产生<sup>[29]</sup>。emodin 可显著下调大鼠 TNF- $\alpha$  及 iNOS 蛋白表达,控制炎症发展<sup>[30]</sup>。此外,baicalin、baicalein 在特定浓度下也表现出对炎症因子的调节作用<sup>[31]</sup>。beta-carotene 则是通过抑制环氧化酶 2(cyclooxygenase-2, Cox2)和 TNF- $\alpha$  发挥有效的抗炎活性<sup>[32]</sup>。

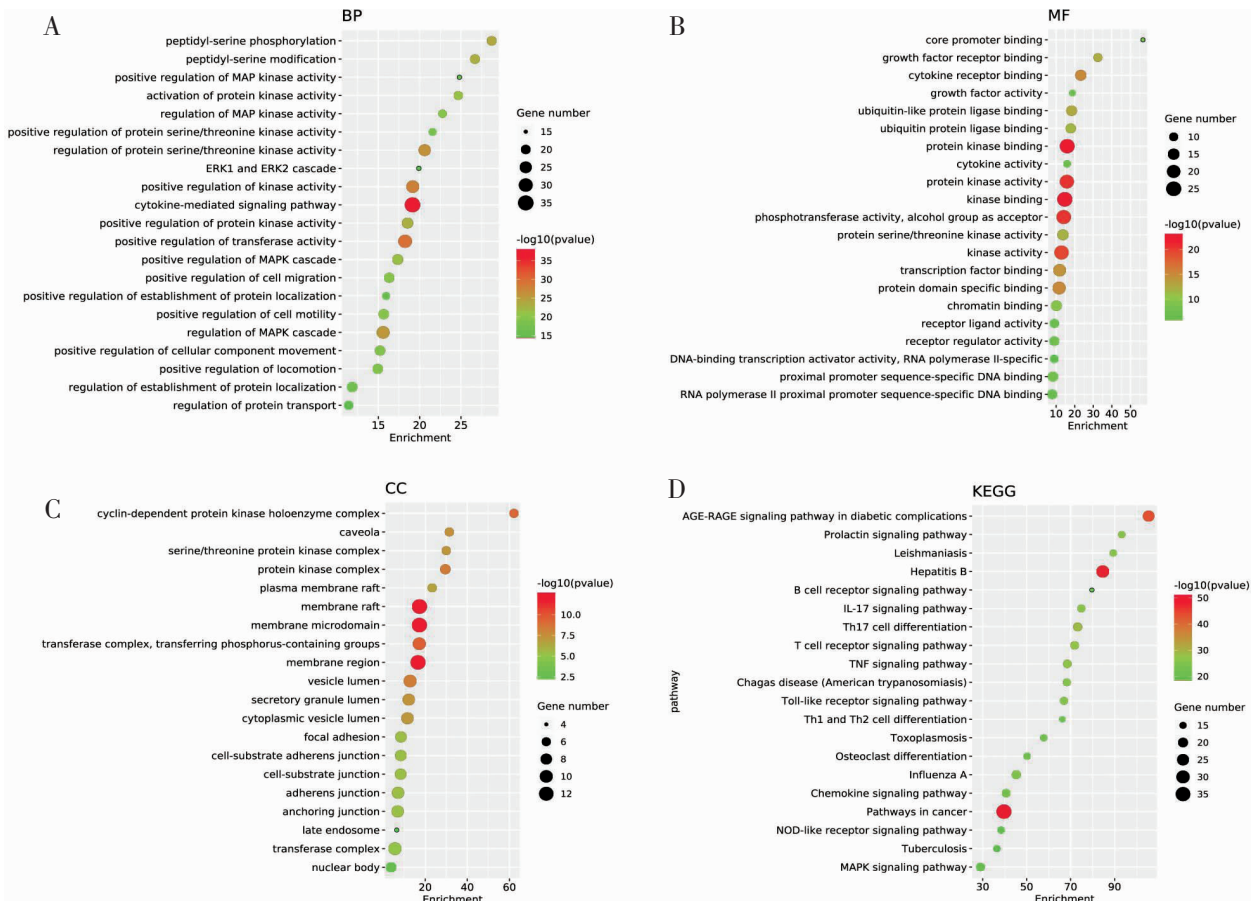
根据 PPI 网络筛选其核心靶点 PIK3CA、STAT3、AKT1、SRC、MAPK3、MAPK1、TP53,该类靶点度值均大于 60,提示该类靶点互相作用良好并可能为新伤湿敷液主要作用靶点。PIK3CA 为编码磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)的 p110 $\alpha$  催化亚基,目前的研究多针对其与肿瘤发生、侵袭、凋亡的密切关系,然 PIK3CA 亦与血管新生及通透性方面起重要作用,如 miR-200b 可抑制 PIK3CA 以达到调节新生血管的形成<sup>[33]</sup>。STAT3 介导各种细胞因子和生长因子所引起的广泛的细胞反应,作用涉及细胞的生长、分化、增殖、恶性转化和凋亡、免疫调节等许多方面,目前研究表明 STAT3 通过其上游 IL-6 和 TGF- $\beta$ 1 以修复肌肉损伤及自身免疫性疾病<sup>[34]</sup>。Akt1 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,参与炎症过程、心血管疾病、糖尿病等的发生发展。SRC 是一种

表2 新伤湿敷液治疗软组织损伤的核心靶点

编号	Uniprot 编号	基因名	度值	介数	最短路径值
1	P42336	PIK3CA	67	5 025.619 6	0.066 8
2	P40763	STAT3	67	5 428.743 7	0.067 0
3	P31749	AKT1	67	6 320.159 0	0.067 0
4	P12931	SRC	66	3 879.496 6	0.066 8
5	P27361	MAPK3	65	2 992.917 0	0.067 0
6	P28482	MAPK1	65	3 610.515 0	0.067 0
7	P04637	TP53	60	6 781.044 4	0.066 8
8	P05412	JUN	53	4 098.633 0	0.066 8
9	Q04206	RELA	46	1 966.194 5	0.066 4
10	P00533	EGFR	44	2 094.352 0	0.066 4
11	P15692	VEGFA	43	2 137.283 0	0.066 5
12	Q16539	MAPK14	42	2 404.629 6	0.066 4
13	O60674	JAK2	42	990.987 1	0.065 9
14	P45983	MAPK8	42	1 279.927 4	0.066 4
15	P05067	APP	41	2 977.707 0	0.065 6
16	P07900	HSP90AA1	40	2 133.713 0	0.066 4
17	P01133	EGF	39	1 425.177 2	0.066 0
18	Q06124	PTPN11	38	387.354 6	0.065 5
19	P07948	LYN	37	923.495 8	0.066 0
20	P35222	CTNNB1	36	2 098.147 2	0.066 0
21	P01375	TNF	36	1 559.910 6	0.065 9
22	P05231	IL6	35	984.479 6	0.065 7
23	P03372	ESR1	35	3 560.495 6	0.066 3
24	P23458	JAK1	33	361.135 4	0.065 7
25	P01100	FOS	33	1 545.001 2	0.066 1
26	P05556	ITGB1	32	2 131.885 5	0.065 3
27	P10145	CXCL8	32	1 415.914 8	0.065 4
28	P06400	RB1	31	1 525.989 3	0.065 7
29	P05305	EDN1	30	1 507.781 2	0.065 9
30	P60568	IL2	30	289.941 5	0.065 7
31	P06493	CDK1	30	1 115.924 0	0.065 2
32	P24385	CCND1	30	1 159.819 0	0.065 9
33	P38936	CDKN1A	30	733.666 3	0.065 6
34	Q05655	PRKCD	29	964.752 1	0.065 7
35	P01106	MYC	29	628.410 4	0.066 0
36	P24941	CDK2	29	509.742 3	0.064 5
37	P17252	PRKCA	28	1 408.002 7	0.065 5
38	P14210	HGF	28	473.320 7	0.065 4
39	P35568	IRS1	28	749.018 7	0.065 4
40	P42338	PIK3CB	27	166.946 3	0.065 0
41	P52333	JAK3	27	208.487 4	0.065 5
42	P42224	STAT1	27	338.713 4	0.065 5
43	P05771	PRKCB	26	557.393 6	0.065 1
44	P05112	IL4	26	1 695.200 7	0.065 5
45	P11802	CDK4	26	520.174 9	0.064 6
46	P29350	PTPN6	25	1 085.044 2	0.064 8
47	P19793	RXRA	25	2 405.991 2	0.065 6
48	P04150	NR3C1	25	388.355 1	0.065 7
49	P42574	CASP3	25	1 431.449 3	0.065 3
50	Q14790	CASP8	25	1 610.498 8	0.065 3
51	P60953	CDC42	24	424.318 1	0.065 4
52	P00519	ABL1	23	372.495 9	0.064 9
53	P43405	SYK	23	237.499 6	0.065 0
54	P04141	CSF2	23	201.322 5	0.065 3
55	Q15788	NCOA1	23	1 935.517 3	0.064 6
56	P25963	NFKBIA	23	276.065 7	0.065 6



注:圆形节点代表靶点,度值越大,节点越大  
 图 2 新伤湿敷液与软组织损伤 PPI 网络

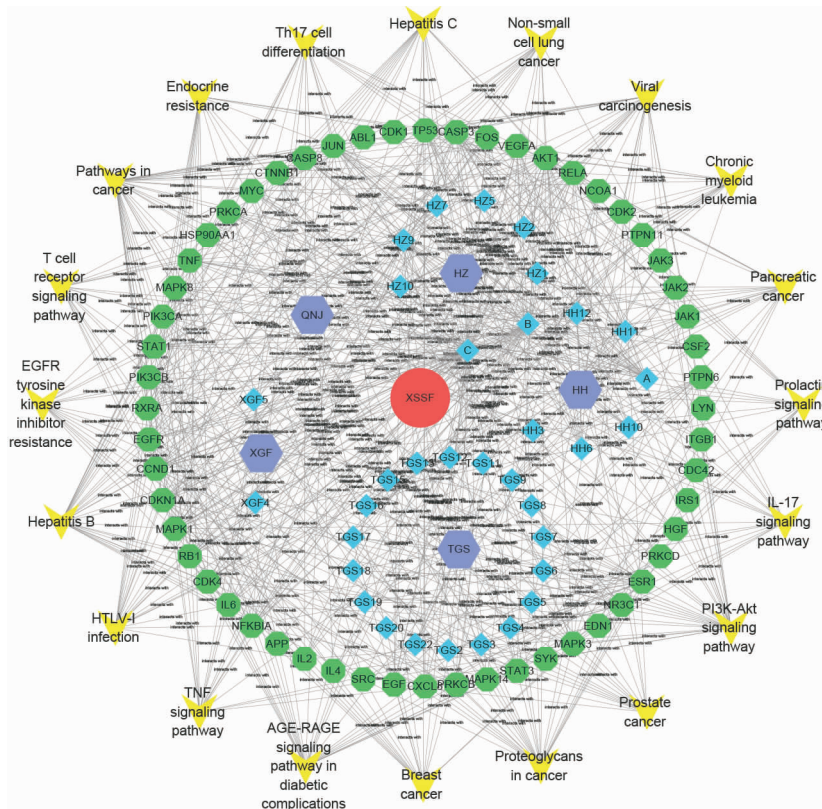


注:A.生物过程分析; B.分子功能分析; C.细胞组分分析; D.信号通路分析  
 图 3 功能富集与信号通路富集分析

蛋白质酪氨酸激酶,研究<sup>[35]</sup>表明 SRC 激活可驱动促炎症细胞因子的生成,使信号激活的 SRC 处于炎症微

环境之内。MAPK1、MAPK3 均归属于 MAPK。其对炎症、应激反应的调控更为密切,可通过磷酸化NF-κB





注:图中橙红色圆形为复方;紫色六边形为药物;蓝色菱形为活性成分;绿色八边形为共有靶点;橙色倒三角形为通路

图4 复方-药物-成分-靶点-通路网络图

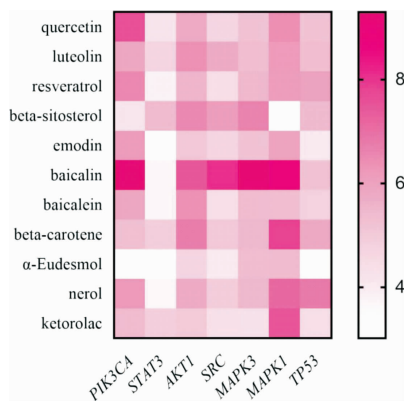


图5 新伤湿敷液活性成分与靶点评分热力图

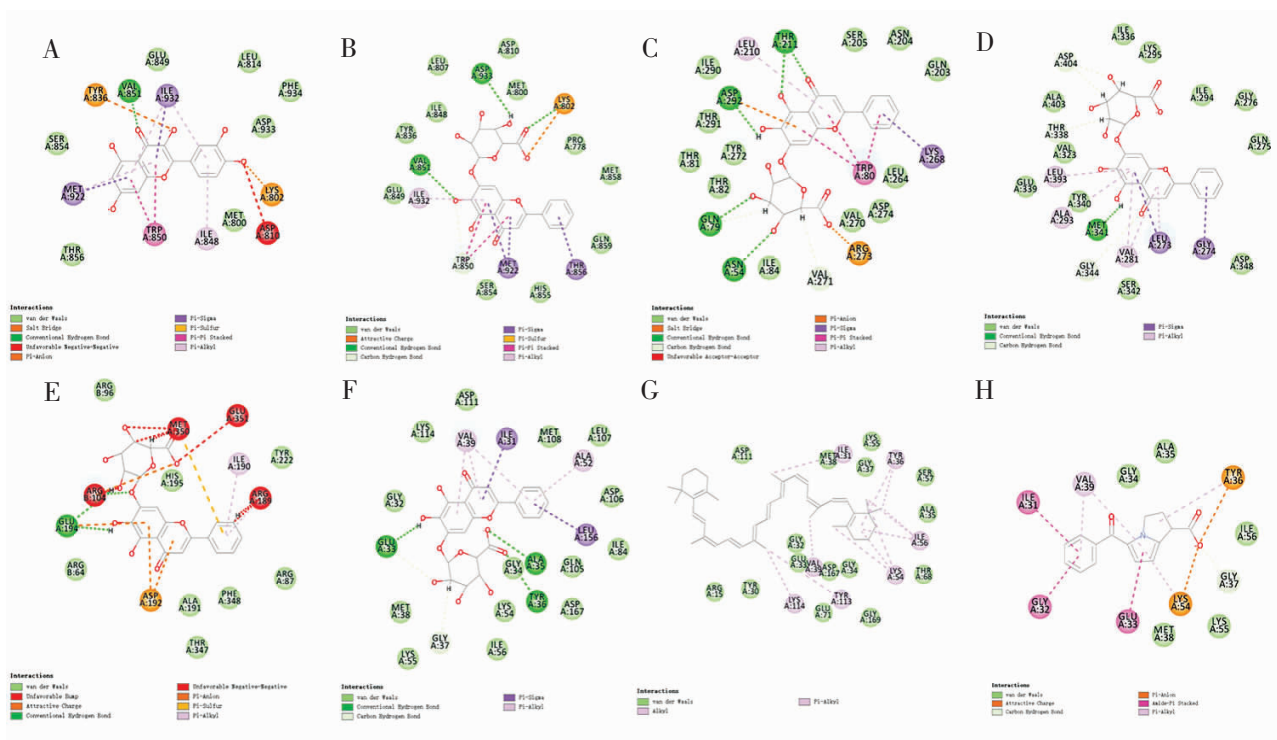
通路的 I $\kappa$ B- $\alpha$  参与炎症及细胞增殖凋亡的调节<sup>[36]</sup>。TP53,系人体抑癌基因,有许多迹象表明 p53 蛋白在调节先天免疫系统中以及作为适应性免疫应答中的抗原方面都发挥了作用,如引起 B 细胞抗体应答和 CD8 杀伤性 T 细胞应答<sup>[37]</sup>。

此外,基于 KEGG 富集筛选出与炎症及免疫系统有关的靶点通路,其可能是新伤湿敷液消肿止痛的主要作用通路。其中 Th17 细胞分化,T 细胞受体通路,IL-17 通路、Th1 和 Th2 细胞分化通路及 B 细胞受体通路均受到机体 CD4 T 细胞不同形式地调

控,机体内 CD4 T 细胞感受炎症反应而激活后将部分分化为 Th1 和 Th2 细胞。其中 Th1 细胞负责产生干扰素,而 Th2 细胞则分泌相应因子以清除自身炎症反应<sup>[38]</sup>。而 TNF 通路参与了细胞生长、增殖、炎性及免疫等过程,当 TNF 通路被激活,该通路能够相应地诱导 NF- $\kappa$ B 脱离 I $\kappa$ B $\alpha$  抑制而进入细胞核,从而激活下游 NF- $\kappa$ B 信号通路,并进一步促使 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 等炎症因子的产生及释放,最终加重机体炎症反应<sup>[39]</sup>。同样地,NOD 受体通路的激活也将促使炎症发生,NOD 是一种重要的模式识别受体,该类受体主要表达为 NOD1 及 NOD2,该类别体的活化也终将导致 MAPK 通路激活,表现形式为机体炎症反应加重。新伤湿敷液可通过正负调控上述通路以发挥其抗炎疗效。

综上所述,新伤湿敷液经网络药理学分析及分子对接验证,在分子生物学层次探讨了新伤湿敷液治疗软组织损伤的潜在靶点及作用机制。新伤湿敷液中主要包含 quercetin、luteolin、resveratrol、beta-sitosterol、emodin、Baicalin、baicalein、beta-carotene 等活性物质可能作用于 PIK3CA、STAT3、AKT1、





注:A.querceetin 与 PIK3CA; B.baicalin 与 PIK3CA; C.baicalin 与 AKT1; D.baicalin 与 SRC; E.baicalin 与 MAPK3; F.baicalin 与 MAPK1; G.beta-carotene 与 MAPK1; H.ketorolac 与 MAPK1

图6 新伤湿敷液部分活性成分与靶点分子对接图

SRC、MAPK3、MAPK1、TP53 等靶点,以抑制炎症反应、消肿止痛、促进血管新生等方向治疗软组织损伤。本研究为深入探索新伤湿敷液治疗软组织损伤提供了新的思路与方法,但本文仅进行了初步预测与理论分析,具体作用机制仍需实验手段进行深入研究验证。

## 参考文献

- [1] 韩学哲,崔刚,刘传镐,等.展筋活血散对大鼠软组织损伤的影响[J].中药药理与临床,2014,30(6):151-154.
- [2] 肖潇,邵先航,刘志军.新伤湿敷液治疗急性闭合性软组织损伤60例临床观察[J].湖南中医杂志,2018,34(3):87-88.
- [3] 江炜,梁嘉欣,陈艳芬.软组织损伤动物模型及其评价方法研究进展[J].广东药科大学学报,2019,35(6):844-848.
- [4] 李含文.实用软组织伤病学[M].北京:人民体育出版社,2014:2-3.
- [5] 彭孟凡,白明,武香香,等.川归灵挥发油对重物致软组织损伤大鼠模型的干预作用[J].中药药理与临床,2019,35(6):96-100.
- [6] 程晋,刘文龙,夏错,等.新伤湿敷液外敷治疗全膝关节置换术后肿胀的疗效观察[J].时珍国医国药,2019,30(7):1647-1649.
- [7] 董培良,李慧,韩华.中药网络药理学的应用与思考[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(17):204-211.
- [8] 谢银子,钟彩婷,纪树亮,等.基于网络药理学及分子对接技术探讨化湿败毒方治疗新型冠状病毒肺炎的分子机制[J].中药药理与临床,2020,36(3):28-35.
- [9] ZHANG B, LU C, BAI M, et al. Tetramethylpyrazine identified by a network pharmacology approach ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 175: 638-647.
- [10] ZHENG J, WU M, WANG H, et al. Network pharmacology to unveil the biological basis of health-strengthening herbal medicine in cancer treatment[J]. Cancers, 2018, 10(11): 461-484.
- [11] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSPP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6(1): 1-6.
- [12] 靳美娜,唐生安,段宏泉.铁箍散化学成分的研究[J].药物评价研究,2010,33(2):129-131.
- [13] 李群芳,娄方明,张倩茹,等.铁箍散根茎挥发油成分的GC-MS分析[J].精细化工,2010,27(2):138-141.
- [14] KIM S, CHEN J, CHENG T, et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D1102-D1109.
- [15] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. Swiss Target Prediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [16] UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D506-D515.
- [17] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The GeneCards

- suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses[J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2016, 54(1): 1.30.1–1.30.33.
- [18] AMBERGER J S, HAMOSH A. Searching Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): a knowledgebase of human genes and genetic phenotypes[J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2017, 58(1): 1.2.1–1.2.12.
- [19] SZKLARCZYK D, MORRIS J H, COOK H, et al. The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016: gkw937.
- [20] MALLIK M K. An attempt to understand glioma stem cell biology through centrality analysis of a protein interaction network[J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2018, 438: 78–91.
- [21] BURLEY S K, BERMAN H M, BHIKADIYA C, et al. RCSB Protein Data Bank: biological macromolecular structures enabling research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology and energy[J]. *Nucleic acids research*, 2019, 47 (D1): D464–D474.
- [22] 樊启猛,杨岩涛,肖美凤,等.基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究[J].*中草药*,2019,50(17): 4200–4208.
- [23] 尹银华,杨艳芳,吴和珍,等.基于网络药理学的虎杖抗炎活性成分及作用机制研究[J].*中国医院药学杂志*,2020,40(6):659–664.
- [24] YU M X, MA X Q, SONG X, et al. Validation of the key active ingredients and anti-inflammatory and analgesic effects of shenjin huoxue mixture against osteoarthritis by integrating network pharmacology approach and thin-layer chromatography analysis[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2020, 14: 1145–1156.
- [25] DONG X, FU J, YIN X, et al. Emodin: a review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics[J]. *Phytotherapy Research*, 2016, 30(8): 1207–1218.
- [26] 武琦,林娟,刘耀晨,等.基于网络药理学的三七传统功效作用机制研究[J].*中草药*,2020,51(14):3717–3727.
- [27] AZIZ N, KIM M Y, CHO J Y. Anti-inflammatory effects of luteolin: A review of in vitro, in vivo, and in silico studies[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 225: 342–358.
- [28] MALAGUARNERA L. Influence of resveratrol on the immune response[J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): E946.
- [29] LIAO P C, LAI M H, HSU K P, et al. Identification of  $\beta$ -sitosterol as in vitro anti-inflammatory constituent in *Moringa oleifera*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66 (41): 10748–10759.
- [30] 潘书涵,王永萍,王茂林,等.基于TNF- $\alpha$ -HIF-1 $\alpha$ -iNOS-NO信号通路探讨虎杖大黄素干预类风湿关节炎的作用研究[J].*中药药理与临床*,2019,35(4):62–67.
- [31] 姜梦华,李超,朱法根,等.基于抗炎活性的蒲地蓝消炎口服液质量标志物的辨识[J].*中国中药杂志*,2020,45(18):4299–4306.
- [32] KAWATA A, MURAKAMI Y, SUZUKI S, et al. Anti-inflammatory activity of  $\beta$ -carotene, lycopene and tri-*n*-butylborane, a scavenger of reactive oxygen species[J]. *In Vivo*, 2018, 32(2): 255–264.
- [33] 李雪,曹浪,甘敏,等.MiR-200b通过调控PIK3CA/AKT通路抑制大鼠角膜血管新生[J].*第三军医大学学报*,2020,42(4):407–413.
- [34] GUADAGNIN E, MÁZALA D, CHEN Y W. STAT3 in skeletal muscle function and disorders[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(8): E2265.
- [35] LIU S T, PHAM H, PANDOL S J, et al. Src as the link between inflammation and cancer[J]. *Frontiers in Physiology*, 2013, 4: 416.
- [36] 刘胜京,高庆和,王福,等.基于网络药理学及分子对接探讨前列舒通胶囊治疗慢性前列腺炎的分子机制[J].*中国中西医结合杂志*,2020,40(7):805–810.
- [37] LEVINE A J. P53 and the immune response: 40 years of exploration—a plan for the future[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(2): 541.
- [38] NALBANT A, ESKIER D. Genes associated with T helper 17 cell differentiation and function[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2016, 8: 427–435.
- [39] 曹晔文,肖瑶,许涛,等.基于网络药理学的“桑枝-桂枝”药对治疗类风湿关节炎的作用机制研究[J/OL].*海南医学院学报*:1–15[2020-07-29].<https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20200609.002>.

(本文编辑 苏维)