

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.13.010

平喘止咳方治疗慢性阻塞性肺疾病的网络药理学与分子对接研究*

黄柏文¹,朱宇敏¹,胡 珀²,祝 颖¹,李 萍¹

(1. 江苏省南京市中西医结合医院呼吸科,江苏 南京 210014; 2. 南通大学附属医院中医科,江苏 南通 226000)

摘要:目的 基于网络药理学探讨平喘止咳方治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的分子机制。方法 以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为筛选条件,通过TCMSP数据库获取平喘止咳方的主要活性成分及其作用靶点;通过GeneCards,OMIM,DisGeNET数据库获取COPD的主要作用靶点;通过Venn 2.0.2数据库得到平喘止咳方和COPD的共有靶点,并通过Cytoscape 3.8.0软件构建活性成分-共有靶点网络,根据度值筛选核心成分;利用String数据库进行蛋白互作网络(PPI)分析,并借助Cytoscape 3.8.0软件,根据度值筛选核心靶点;利用DAVID数据库对共有靶点进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析。最后,采用Autodock Vina软件对核心成分与核心靶点进行分子对接验证。**结果** 共筛选得到平喘止咳方的活性成分216个及相应靶点286个,与586个COPD靶点取交集,得到89个共有靶点。其中,核心成分为槲皮素、山柰酚、木犀草素、β-胡萝卜素、汉黄芩素、黄芩素等;核心靶点为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1(AKT1)、白细胞介素6(IL-6)、信号转导及转录激活因子3(STAT3)、水孔蛋白5(AQP5)、解整合素金属蛋白酶8(ADAM8)、黏蛋白5AC(MUC5AC)等;参与的信号通路155条,主要涉及磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)/AKT、肿瘤坏死因子(TNF)、促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、白细胞介素17(IL-17)、缺氧诱导因子1(HIF-1)等。核心成分与核心靶点对接良好。**结论** 初步揭示平喘止咳方通过多成分、多靶点、多通路治疗COPD的分子机制,为临床研究提供了理论基础。

关键词:平喘止咳方;慢性阻塞性肺疾病;网络药理学;分子机制

中图分类号:R932;R285.5 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2022)13-0040-06

Molecular Docking of Pingchuan Zhike Decoction in the Treatment of COPD Based on Network Pharmacology

HUANG Powen¹, ZHU Yumin¹, HU Po², ZHU Ying¹, LI Ping¹

(1. Department of Respiration, Nanjing Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Nanjing, Jiangsu, China 210014; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu, China 226000)

Abstract: Objective To investigate the molecular mechanism of Pingchuan Zhike Decoction in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) based on the network pharmacology. **Methods** Main active components and their corresponding targets of Pingchuan Zhike Decoction were obtained through the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) with the oral bioavailability (OB) ≥ 30% and the drug-likeness (DL) ≥ 0.18 as screening conditions. Main targets of COPD were obtained through the GeneCards, OMIM and DisGeNET databases. Common targets of Pingchuan Zhike Decoction and COPD were obtained through the Venn 2.0.2 database, the network of active components - common targets was

*基金项目:国家自然科学基金[82004304]。

第一作者:黄柏文,博士,主治医师,研究方向为呼吸内科学,(电子信箱)2212062895@qq.com。

- [9] 丁 勇,叶大炜,袁 方,等. 根本原因分析法(RCA)在医疗不良事件分析中的应用[J]. 中国医院,2015,19(5):41-43.
- [10] 周波波,芦小燕,任燕萍. 应用柏拉图分析法减少门诊药房发药差错[J]. 医药导报,2011,30(2):270-271.
- [11] 周 良,陈 蓉. 智能化门诊药房药品有效期闭环管理的探索与实践[J]. 中国药房,2020,31(22):2796-2800.
- [12] 李 慧,顾宝晨. 浅谈我院门诊药房自制制剂的应用管理[J]. 药学与临床研究,2015,23(1):84-86.
- [13] 徐江红,李 刚,简晓霞. 运用ABC分类法管理库存药品上下限量研究[J]. 解放军医院管理杂志,2005,12(6):590-591.
- [14] 袁 培,韩瑜瑜,杜凤霞,等. 门诊药房药品有效期管理措施探讨[J]. 中国医院用药评价与分析,2017,17(2):158-159.
- [15] 鹿华彦,胡媛媛,徐艳荣,等. 探索某院住院药房药品效期管理模式提高患者用药安全性效果分析[J]. 中国处方药,2019,17(9):58-60.
- [16] 黄 灿,朱晓虹,孙岩芳,等. 病区智能药柜过期药品的根因分析[J]. 中国药业,2017,26(9):90-93.
- [17] 韩 冰,王 晖,杨新富,等. 医院冷链药品管理中的HFMEA和RCA联合应用价值探讨[J]. 中国现代应用药学,2019,36(10):1291-1296.
- [18] 沈 芊,张 丽,闫素英,等. 药物警戒体系在医疗机构安全用药中的作用[J]. 中国药房,2012,23(10):865-867.
- [19] PITTS PJ, LOUET HL, MORIDE Y, et al. 21st century pharmacovigilance: efforts, roles, and responsibilities[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(11):e486-e492.
- [20] ZHAO Z, SHEN J, SHEN C, et al. An investigation of pharmacovigilance and reporting of adverse drug reactions in hospitals: a cross-sectional study in China[J]. Curr Med Res Opin, 2021, 37(11):2001-2006.

(收稿日期:2021-10-09;修回日期:2021-12-24)

constructed by the Cytoscape 3.8.0 software, and core components were screened according to the degree value. The protein-protein interaction (PPI) network was analyzed by the String database, and core components were screened according to the degree value by the Cytoscape 3.8.0 software. The Gene Ontology (GO) function enrichment analysis and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis of core components were conducted by the DAVID database. Results of molecular docking between core components and core targets were verified by the Autodock Vina software. **Results** A total of 216 active components and 286 corresponding targets were obtained from Pingchuan Zhike Decoction. After the above targets intersected with 586 targets of COPD, 89 common targets were obtained. The core components were quercetin, kaempferol, luteolin, β -carotene, wogonin, baicalein and so on. The core targets were RAC-alpha serine/threonine-protein kinase (AKT1), interleukin-6 (IL-6), signal transducers and activator of transcription 3 (STAT3), aquaporin-5 (AQP5), a disintegrin and metalloproteinase 8 (ADAM8), mucin 5AC (MUC5AC) and so on. A total of 155 signal pathways were obtained, mainly involving phosphatidylinositol 3-kinase (PIK3)/AKT, tumor necrosis factor (TNF), mitogen-activated protein kinase (MAPK), interleukin-17 (IL-17), hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and so on. The results of molecular docking showed that core components had a good docking result with core targets. **Conclusion** The study preliminarily reveals that the molecular mechanism of Pingchuan Zhike Decoction in the treatment of COPD is multi-component, multi-target and multi-channel, which provides a theoretical basis for clinical research.

Key words: Pingchuan Zhike Decoction; chronic obstructive pulmonary disease; network pharmacology; molecular mechanism

慢性阻塞性肺疾病(COPD)的主要特征为持续的呼吸道症状及不完全可逆的气流受限^[1],其患病率随年龄的增长而升高^[2]。西药对症治疗COPD起效较快,但停药后易复发,且副作用大,严重影响患者的生存质量。中医辨证施治可提高患者的免疫力,改善肺通气,并可辅助西药治疗,达到减毒增效目的^[3-4]。平喘止咳方由桑叶、黄芩、百部等中药组方,具有清肺平喘、止咳化痰功效。在常规西药治疗基础上应用平喘止咳方,可有效改善患者的膈肌功能,缓解呼吸肌疲劳,进而提高COPD的疗效^[5]。网络药理学具有多成分、多靶点及多通路的特点,与中医药整体观、辨证论治的原则相符^[6]。本研究中基于网络药理学和分子对接技术,通过构建中药复方调控网络,系统分析并预测平喘止咳方治疗COPD的活性成分、作用靶点及相关通路,探讨药物与机体的相互作用,揭示其潜在作用机制,为平喘止咳方的临床研究提供理论基础。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料

本研究中所用数据库信息见表1。

表1 数据库信息

Tab. 1 Information of databases

序号	数据库	数据库名称	网址
1	TCMSP	中医药系统药理学数据库	https://tcmsp-e.com/
2	Uniprot	蛋白质数据库	https://www.uniprot.org/
3	GeneCards	基因信息数据库	https://www.genecards.org/
4	OMIM	人类孟德尔遗传数据库	http://www.omim.org/
5	DisGeNET	基因-疾病关联关系数据库	https://www.disgenet.org/
6	Venn 2.0.2	取交集数据库	https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index2.0.2.html
7	String	蛋白质-蛋白质相互作用数据库	https://string-db.org/
8	DAVID	基因富集分析数据库	https://david.ncicrf.gov/tools.jsp

1.2 方法

平喘止咳方的相关成分及靶点获取:通过TCMSP数据库,以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 ^[7]为筛选条件,检索平喘止咳方中桑叶、黄芩、百部、北沙参、陈皮、紫菀、款冬花、麻黄、桔梗、半夏、苦杏仁、木香、甘草的活性成分及作用靶点,借助Uniprot数据库对作用靶点进行标准化处理。

COPD靶点筛选:以“Chronic obstructive pulmonary disease”为关键词,在GeneCards, OMIM, DisGeNET数据库中分别检索COPD的潜在靶点,合并各个数据库的靶点,并删除重复项,即得疾病相关靶点。

平喘止咳方治疗COPD靶点筛选:将上述COPD靶点及平喘止咳方靶点导入Venn 2.0.2数据库,进行匹配映射,获取平喘止咳方和COPD的共有靶点,即平喘止咳方治疗COPD的靶点。

活性成分-共有靶点网络构建:将上述平喘止咳方的活性成分与共有靶点导入Cytoscape 3.8.0软件中,构建平喘止咳方活性成分-共有靶点网络,并进行网络拓扑参数分析,最后通过度值筛选核心成分。度值越大,该成分在治疗COPD过程中越关键。

治疗COPD核心靶点的网络构建及网络拓扑学分析:将平喘止咳方活性成分与COPD的共有靶点输入String数据库,物种设置为“智人”种,最小交互分值设为0.7,构建蛋白互作网络(PPI),再将结果以“TSV”格式导入Cytoscape 3.8.0软件中进行网络拓扑参数分析,度值排名靠前的共有靶点即为核心靶点^[8]。

共有靶点GO功能富集分析及KEGG通路富集分析:将平喘止咳方活性成分与COPD的共有靶点导入DAVID数据库,物种设置为“智人”种,选择GO功能富集分析项下的生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组成(CC)三部分及KEGG通路部分进行富集分析。设定

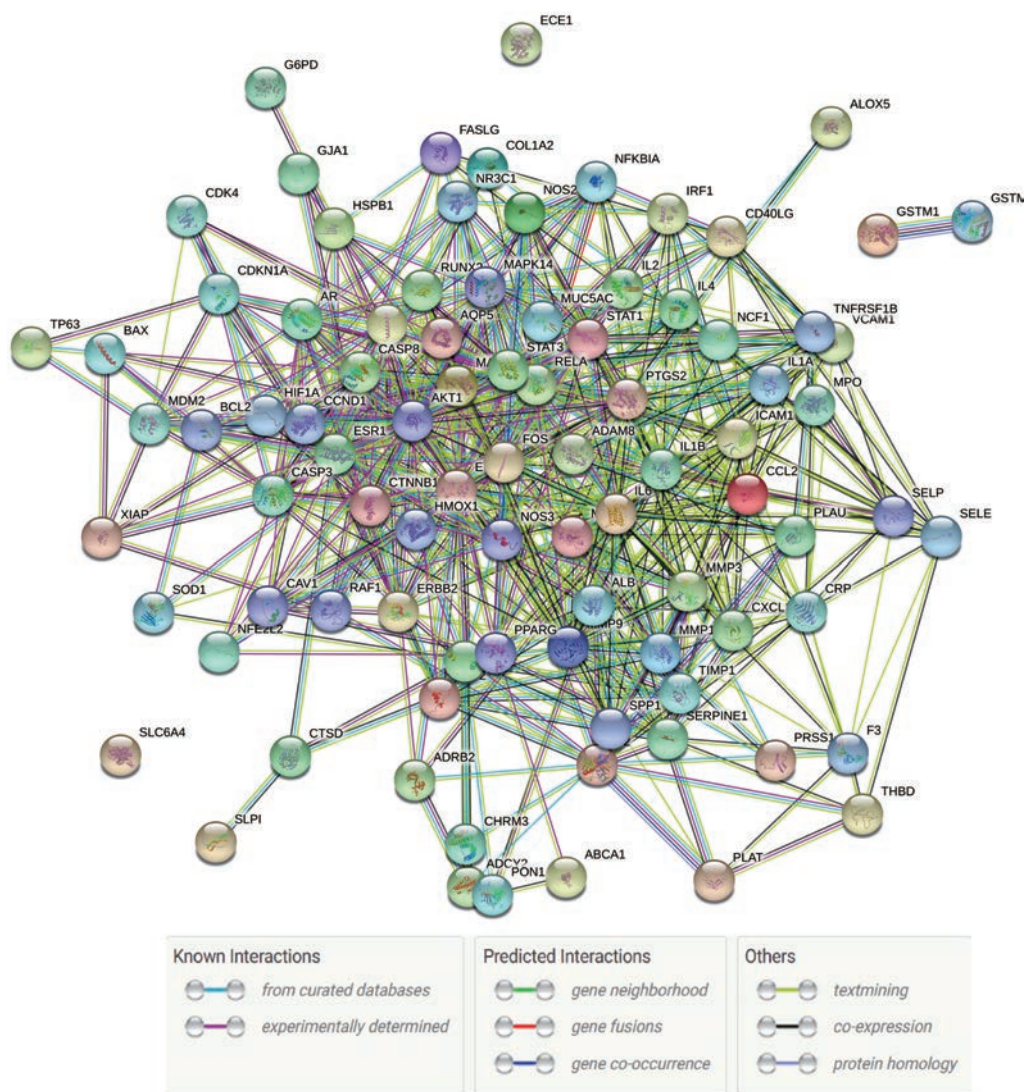


图3 治疗COPD核心靶点的PPI

Fig. 3 PPI of core targets in the treatment of COPD

录激活因子3(STAT3)、水孔蛋白5(AQP5)、解整合素金属蛋白酶8(ADAM8)、黏蛋白5AC(MUC5AC)等核心靶点。

2.5 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析

GO 功能富集分析结果显示,得到生物过程 2 132 条,主要涉及对脂多糖、对细菌来源分子的反应,以及细胞对化学应激的反应等;得到细胞组成 84 条,包括膜筏、膜微区、膜区等;得到分子功能 143 条,包括内肽酶活性、蛋白磷酸酶结合、丝氨酸型肽酶活性等。根据 *P* 值分别选取 GO 功能富集分析条目排名前 10 的结果绘制条形图,详见图 4。KEGG 通路富集分析得到 155 条信号通路,主要涉及磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)/AKT、肿瘤坏死因子(TNF)、促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、白细胞介素 17(IL-17)、缺氧诱导因子 1(HIF-1)等,根据 *P* 值选取排名前 20 的结果绘制气泡图,详见图 5。

2.6 分子对接验证

采用 Autodock Vina 软件进行分子对接验证,结果核心成分和核心靶点对接能量全部 < -5 kJ/mol,对接结果良好,验证了网络药理学预测的准确性(图 6 A)。对接结果显示,STAT3 和 quercetin、AQP5 和 kaempferol 的对接能量最小,其结合模式见图 6 B 和图 6 C。

3 讨论

COPD 属中医“肺胀”“喘证”范畴,本虚标实是其主要病理机制,以肺、肾、心、脾脏气亏虚为本,痰浊、水饮、血瘀互结为标,治宜扶正与祛邪兼顾^[10]。平喘止咳方由桑叶、黄芩、百部等中药组方,具有化痰、理气、通气功效。临床研究表明,该方治疗 COPD 急性加重期 92 例,有效率为 93.48%,可提高 COPD 患者的肺功能及血气指标水平^[5]。但中药成分的复杂性,其治疗 COPD 的分子机制尚不明确。

本研究中通过网络药理学方法对平喘止咳方治疗

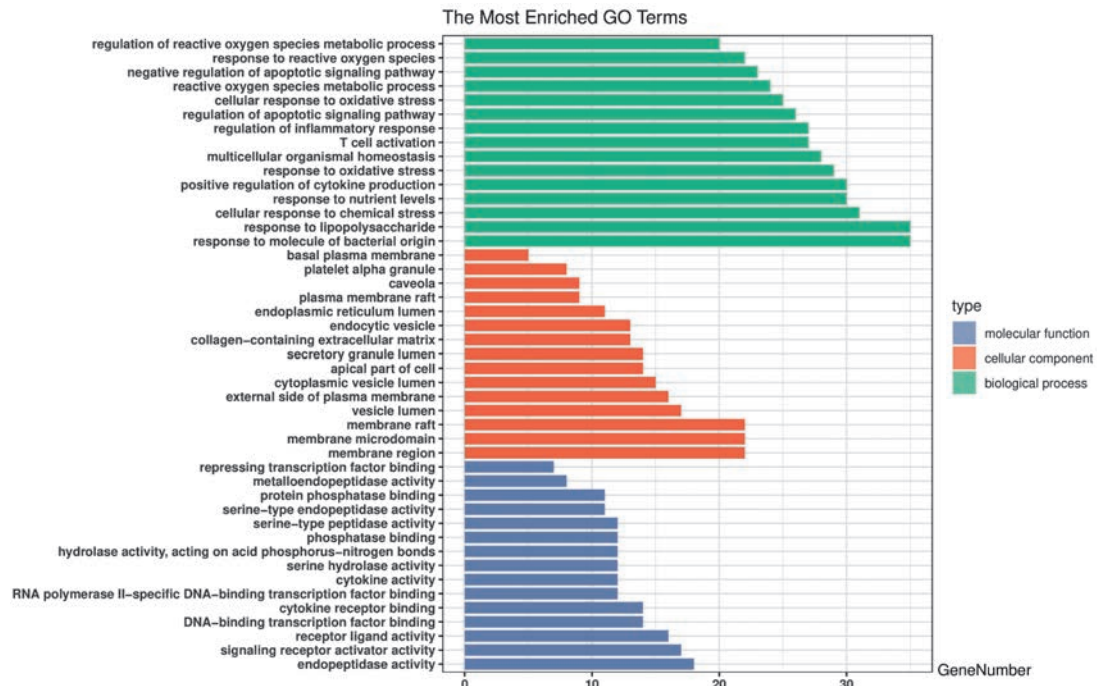


图4 GO功能富集分析条形图

Fig. 4 Bar chart of GO function enrichment analysis

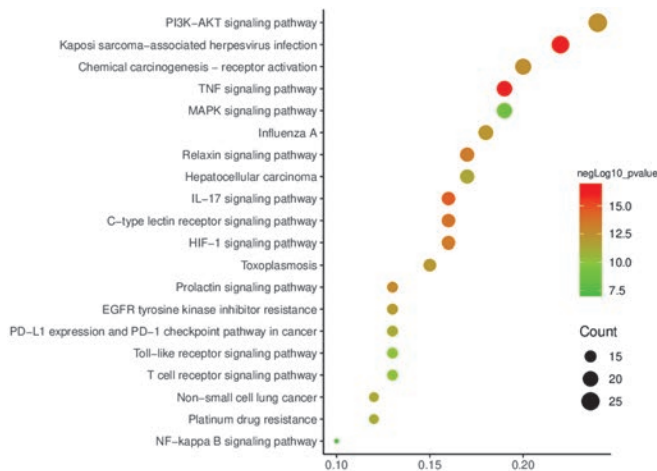
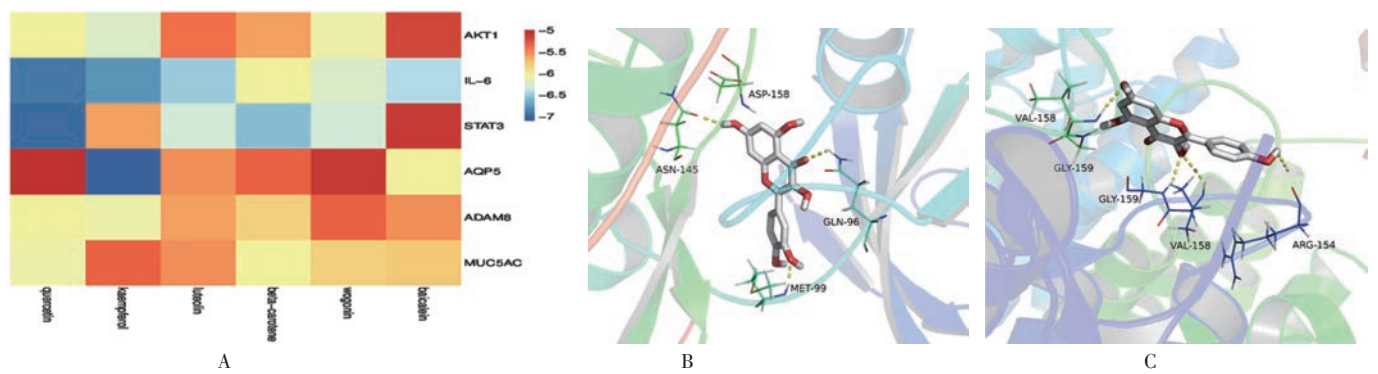


图5 KEGG通路富集分析气泡图

Fig. 5 Bubble diagram of KEGG pathway enrichment analysis

COPD的作用机制进行了较全面地分析。活性成分 - 共有靶点网络分析发现,槲皮素、山柰酚、木犀草素等为核心成分。魏萍等^[11]研究发现,槲皮素能降低转化生长因子 β_1 (TGF - β_1)、 α - 平滑肌肌动蛋白(α - SMA)、TNF - α 等的表达水平,缓解大鼠的肺组织炎症和纤维化损伤。山柰酚可降低炎性因子TNF - α 等的表达水平,减少炎性细胞聚集,抑制炎症反应^[12]。木犀草素具有抗纤维化、抑制炎症反应、调节免疫等作用,可显著降低COPD患者体内血清TNF - α 水平,使肺功能指标如最大通气量、呼气峰流速等得到明显改善^[13]。

PPI及KEGG通路富集分析发现,AKT1,IL - 6,STAT3,AQP5,ADAM8,MUC5AC为核心靶点,主要调控PI3K / AKT,TNF,MAPK,IL - 17,HIF - 1等信号通路,



A. 核心成分与核心靶点分子对接热图 B. STAT3和quercetin对接模式图 C. AQP5和kaempferol对接模式图

图6 分子对接图

A. Heat map of molecular docking of core components and core targets B. Docking mode diagram of STAT3 and quercetin C. Docking mode diagram of AQP5 and kaempferol

Fig. 6 Diagrams of molecular docking

从而发挥治疗 COPD 的作用。AKT 可由活化的 PI3K 募集而活化,进而广泛参与细胞自噬、增殖、凋亡等生物调控^[14]。通过下调 PI3K 和 AKT1 基因表达、上调 mTOR 基因表达,减轻 COPD 模型大鼠肺组织炎性细胞的浸润及纤维组织增生,从而缓解肺组织损伤,起到抗 COPD 的作用^[15]。PI3K / AKT / 哺乳动物雷帕素靶蛋白 (mTOR) 通路为细胞内的基本信号转导途径,上调 PI3K / AKT / mTOR 的表达可使呼吸道平滑肌细胞增殖、迁移及黏附,并使细胞外基质成分积累,导致气道壁增厚而发生 COPD^[16]。MAPK 是细胞中的一组丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶,主要包括胞外信号调节激酶 (ERK)、c - Jun 氨基端蛋白激酶 (JNK)、p38。当 JNK 及 p38 被激活时,可修复气道上皮细胞及促进黏蛋白 MUC5AC 的表达^[17]。STAT 为 JAK 激酶 (JAK) 的下游基因,共同组成的 JAK / STAT 信号通路在细胞增殖及凋亡中至关重要。通过促进 JAK, STAT3 等磷酸化,进而上调 JAK / STAT 的表达,可引发炎症反应,促进 COPD 肺血管重塑^[18]。辅助性 T 细胞 17 (Th17) 及其特异性细胞因子参与介导 COPD 产生及进展过程中的多个环节,尤以 IL - 6, IL - 17A, TNF - α 等对肺局部的炎症、自噬、纤维化等发挥重要作用,因 IL - 6, IL - 17A, TNF - α 等各类特异性细胞因子的异常高表达而推进了 COPD 的进程^[19]。HIF - 1 α 可上调一氧化氮合酶基因,参与肺血管的重塑,进一步参与 COPD 的发生与发展^[20]。本研究结果表明,平喘止咳方可能通过槲皮素、山柰酚、木犀草素等主要活性成分作用于 AKT1, IL - 6, STAT3 等相关靶点,从而调控 PI3K / AKT, TNF, MAPK 等信号通路而发挥治疗 COPD 的作用。

综上所述,本研究中采用网络药理学和分子对接技术初步揭示了平喘止咳方通过多成分、多靶点、多通路治疗 COPD 的分子机制。但因数据库更新不及时、收录不全等原因,仅单纯通过数据库及网络模型预测,无法完全评价平喘止咳方在体内的具体代谢过程,需后续实验进一步验证。

参考文献

[1] 赵子铎, 刘海英, 卢林, 等. 慢性阻塞性肺疾病合并营养不良的研究进展[J]. 中国当代医药, 2021, 28(14): 31 - 34.
[2] 苏淑丹. 中医药治疗慢性阻塞性肺疾病的研究进展[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2021, 5(10): 26 - 29.
[3] 袁琛, 刘桂颖, 朱振刚. 咳喘胶囊联合呼吸导引术对稳定期 COPD 患者肺功能及运动耐力的影响[J]. 天津中医药, 2020, 37(7): 769 - 772.
[4] 赵玉秀, 钱景莉, 官凯悦, 等. 六君子汤合玉屏风散治疗 COPD 稳定期肺脾气虚证的疗效观察[J]. 浙江临床医学, 2020, 22(7): 969 - 971.

[5] 马波, 王思恒, 王善博. 平喘止咳汤对慢阻肺急性加重期 (AECOPD) 的临床治疗价值观察[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(16): 182.
[6] LI JS, ZHAO P, LI Y, et al. Systems pharmacology - based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufei Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease[J]. Sci Rep, 2015, 5: 15290.
[7] 单丽芳, 康国娇, 张超, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨四物汤抗乳腺癌的作用机制[J]. 中草药, 2021, 52(13): 3943 - 3953.
[8] 朱章志, 施岚尔, 刘江涛, 等. 基于网络药理学探讨青蒿治疗人急性髓系白血病作用机制[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(1): 1 - 4.
[9] AHMED MF, SANTALI EY, EL - HAGGAR R. Novel piperazine - chalcone hybrids and related pyrazoline analogues targeting VEGFR - 2 kinase; design, synthesis, molecular docking studies, and anticancer evaluation [J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2021, 36(1): 307 - 318.
[10] 陈倩倩, 杨铭, 李雪, 等. 基于网络药理学探析川芎平喘合剂治疗慢性阻塞性肺疾病的研究[J]. 中国药师, 2020, 23(3): 422 - 429.
[11] 魏萍, 陈志斌, 王春娥, 等. 槲皮素对慢性阻塞性肺疾病大鼠的保护作用[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(21): 2570 - 2575.
[12] 谢敏子, 纪树亮, 庄轰发, 等. 基于转录组学与网络药理学探讨补中益气丸治疗慢性阻塞性肺疾病的机制[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(2): 182 - 190.
[13] 刘娟, 王军, 邓庆华. 慢性阻塞性肺疾病炎症机制及中药单体成分对其治疗作用的研究进展[J]. 中国药房, 2018, 29(8): 1145 - 1149.
[14] 谢凯, 梁瀛今, 卞晴晴, 等. 基于 PI3K / AKT / mTOR 通路调控 A549 细胞自噬探讨补肺益肾方治疗 COPD 的机制[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(4): 2294 - 2298.
[15] 吴中华, 闫玲玲, 杨爱东, 等. 鱼腥草素钠对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺组织 PI3K、AKT1 及 mTOR mRNA 表达的影响[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(1): 8 - 12.
[16] 史方海, 陈忠仁. 虎杖苷对慢性阻塞性肺疾病大鼠 PI3K / AKT / mTOR 通路以及气道炎症的影响[J]. 药物评价研究, 2020, 43(10): 1983 - 1987.
[17] 封继宏, 张珊珊, 毕明达. 中医药干预慢性阻塞性肺疾病相关信号通路传导的研究进展[J]. 中国医药导报, 2020, 17(30): 37 - 40.
[18] 余仙娟, 沈亚青, 徐俭朴, 等. 基于 JAK - STAT 信号通路研究保肺定喘汤干预 COPD 肺血管重构的分子机制[J]. 浙江中医药大学学报, 2020, 44(12): 1210 - 1214.
[19] 张超云, 李宏艺, 郝鹏飞, 等. 基于 IL - 17A / TNF - α 信号通路的桔梗汤有效部位群干预 COPD 模型大鼠的实验研究[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2021, 23(6): 1951 - 1957.
[20] 宋园园. 慢性阻塞性肺疾病上皮细胞中 HIF - 1 α 与 MUC5AC 表达及正反馈机制[D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
(收稿日期: 2021 - 09 - 10; 修回日期: 2022 - 01 - 11)