

基于生物分子网络探讨桑白皮汤治疗慢性阻塞性肺疾病的作用机制

胡钟姣¹, 彭皓², 郑露露³, 张书滔², 王梦琪⁴, 时政^{1,2*}

1. 遵义医科大学 药学院, 贵州 遵义 563000

2. 成都大学 临床医学院/附属医院, 四川 成都 610106

3. 成都大学 食品与生物工程学院, 四川 成都 610106

4. 成都大学 药学院, 四川 成都 610106

摘要: 目的 利用生物分子网络探讨桑白皮汤治疗慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 的作用机制。方法 通过中药系统药理数据库和分析平台 (TCMSP) 收集桑白皮汤的化学成分和成分对应的靶点, 并利用 Cytoscape 软件构建中药-成分-靶点网络; 通过 GeneCards、TTD 和 DisGeNET 数据库获取与 COPD 相关的靶点, 对成分靶点和疾病靶点取交集, 利用 String 和 Cytoscape 构建交集靶点网络; 利用 DAVID 数据库对交集靶点进行 KEGG 和 GO 富集分析。结果 筛选得到 109 个化学成分, 230 个成分靶点, COPD 相关靶点 1 220 个, 成分和疾病的交集靶点 119 个。KEGG 分析表明桑白皮汤可能通过 PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路、MAPK 信号通路、NF-κB 信号通路、HIF-1 信号通路、凋亡相关通路等发挥治疗 COPD 的作用。GO 分析显示桑白皮汤主要涉及炎症反应、细胞增殖、细胞凋亡、RNA 转录、基因表达等。结论 通过构建生物分子网络, 揭示了桑白皮汤治疗 COPD 的分子机制, 为桑白皮汤的后续研究提供了理论依据。

关键词: 桑白皮汤; 生物分子网络; 慢性阻塞性肺疾病; PI3K-Akt 信号通路

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)08-1556-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.08.002

Mechanism of Sangbaipi Decoction in treatment of chronic obstructive pulmonary disease based on biological network

HU Zhong-jiao¹, PENG Hao², ZHENG Lu-lu³, ZHANG Shu-tao², WANG Meng-qi⁴, SHI Zheng^{1,2}

1. College of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

2. Clinical Medical College & Affiliated Hospital of Chengdu University, Chengdu 610106, China

3. College of Food and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China

4. College of Pharmacy, Chengdu University, Chengdu 610106, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Sangbaipi Decoction in treatment of COPD through biological network. **Methods** The chemical components and corresponding targets of Sangbaipi Decoction were collected by TCMSP, and the network of herb-ingredient-target was constructed by Cytoscape software. The targets related to COPD were obtained from GeneCards, TTD, and DisGeNET databases. The intersection targets of components and disease were integrated. Target network of intersection targets was constructed using String online database and Cytoscape software. The results of KEGG and GO enrichment analysis of intersection targets was obtained from DAVID database. **Results** A total of 109 active components and 230 corresponding targets were obtained. Furthermore, 1 220 COPD related targets and 119 intersection targets were obtained. KEGG analysis revealed that Sangbaipi Decoction might treat COPD through PI3K-Akt signaling pathway, TNF signaling pathway, MAPK signaling pathway, NF-κB signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, and Apoptosis-related pathway. GO analysis demonstrated that Sangbaipi Decoction was mainly involved in inflammatory reaction, cell proliferation, apoptosis, RNA transcription, gene expression. **Conclusion** The molecular mechanism of Sangbaipi Decoction in treatment of COPD were discussed, which might provide a theoretical basis for further exploration.

Key words: Sangbaipi Decoction; biomolecular network; chronic obstructive pulmonary disease; PI3K-Akt signaling pathway

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是最常见的、可预防和可治疗的慢性呼吸系统疾病之一, 其特征是持续的气流受限和呼吸道症状, 起病缓慢、病程较长。据

收稿日期: 2021-01-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81803561); 成都市金牛区医学会科研课题 (JNKY2021-06)

作者简介: 胡钟姣, 硕士研究生, 主要研究方向为临床药学。E-mail: huzhongjiao219@163.com

*通信作者: 时政, 博士, 教授, 主要研究方向为生物信息学。E-mail: drshiz1002@hotmail.com

相关数据显示, COPD 患病率和死亡人数持续上升, 全球 40 岁以上成人患病率为 11.7%, 死亡人数 320 万/年, 而我国 COPD 患病率为 13.7%, 死亡人数 90 万/年, COPD 已成为我国乃至全球的第 3 大常见死因^[1-5]。COPD 治疗方式以药物治疗、氧疗和康复治疗等为主, 这些治疗方式虽能明显缓解患者气流受限的症状, 但不能阻止疾病的进程。其中药物治疗以支气管扩张剂为主, 如 β_2 受体激动剂、抗胆碱能药物, 但都存在不良反应大的问题^[6]。中药已有数千年的药用历史, 相关研究也显示中药可通过多成分、多靶点、多通路协同治疗 COPD, 在治疗 COPD 中展现出极大的优势, 已成为研究的热点^[7]。

桑白皮汤出自明代张景岳的《景岳全书》, 由桑白皮、半夏、紫苏子、杏仁、贝母、山栀、黄芩和黄连 8 味中药组成, 具有清肺降气、化痰止嗽的功效, 临床常用于治疗 COPD、支气管炎和支气管哮喘等疾病^[8]。大量的临床研究表明, 桑白皮汤治疗 COPD 疗效显著^[9-10], 但其作用机制仍不清楚。基于此, 本研究运用生物分子网络与分子对接方法研究桑白皮汤治疗 COPD 的主要活性成分、关键靶点及其分子机制, 为桑白皮汤的临床应用和实验研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 数据库及软件

中药系统药理数据库和分析平台 (TCMSP, <http://tcmspw.com/tcmsp.php>); Therapeutic Target Database 数据库 (TTD, <https://db.idrblab.org/ttd/>); DisGeNET 数据库 (<http://www.disgenet.org/>); Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>); STRING 数据库 (<https://string-db.org/>); DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>); PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>); PDB 数据库 (<http://www1.rcsb.org/>); Cytoscape 3.7.1 软件; R Studio 软件; Bioinformatics&Evolutionary Genomics (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>); AutoDock vina 软件; AutoDock Tools 1.5.6 软件; Pymol 2.3 软件; ChemBio3D 软件。

1.2 桑白皮汤化学成分和作用靶点筛选

通过 TCMSP 数据库以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 作为筛选条件获得桑白皮汤中各药味的化学成分和成分对应的靶点。Uniprot 数据库对成分靶点进行基因名称转换, 剔除找不到对应基因名的成分靶点。

1.3 中药-成分-靶点网络的构建

将获得的桑白皮汤化学成分和成分靶点信息导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 构建中药-成分-靶点网络图, 使用 Network Analyzer 模块计算度值 (degree), 筛选出 degree 较高的活性成分。

1.4 COPD 相关靶点的挖掘

以 “chronic obstructive pulmonary disease” 为检索词, 分别在 GeneCards 数据库、Therapeutic Target Database (TTD) 数据库、DisGeNET 数据库筛选与 COPD 相关的疾病靶点。

1.5 蛋白相互作用网络 PPI 的构建

将化学成分靶点和疾病靶点取交集, 得到的交集靶点导入 String 数据库, 选择 Multiple proteins, 物种限定为人, 得到蛋白相互作用图, 并将结果保存为 TSV 文件格式。将 String 得到的数据信息导入 Cytoscape 软件进行相互作用蛋白网络的可视化。使用 Network Analyzer 模块计算该网络的 degree, 依据 degree 的大小筛选出 degree 较高的核心蛋白。

1.6 KEGG 和 GO 富集分析

将得到的交集靶点导入 DAVID 数据库, 对靶点进行 KEGG 和 GO 富集分析, 以 $P < 0.05$ 作为筛选条件, 得到分析结果, 用 R 语言对结果进行可视化。

1.7 分子对接

蛋白质晶体结构可通过 PDB 数据库获取, 采用 Pymol 软件删除蛋白分子中的无关小分子后, 将蛋白分子导入 AutoDock Tools 软件删除水分子、添加氢原子并设置原子类型, 最后保存为 pdbqt 文件。化学成分结构通过 PubChem 数据库获取, 用 ChemBio3D 软件对所下载的化合物进行能量最小化, 并转化为 pdb 格式, 将小分子化合物导入 AutoDock Tools 软件删除水分子并添加原子电荷、分配原子类型, 将所有柔性键默认可旋转, 最后保存为 pdbqt 文件。将处理后的化合物作为小分子配体, 蛋白靶点作为受体通过 AutoDock vina 软件进行对接, 并对结果进行分析, 最后采用 Pymol 软件对结果进行可视化。

2 结果

2.1 桑白皮汤的化学成分和靶点整合

从 TCMSP 数据库中获得桑白皮汤化学成分 194 个, 半夏化学成分 116 个, 紫苏子化学成分 128 个, 杏仁化学成分 113 个, 贝母化学成分 63 个, 栀子化学成分 98 个, 黄芩化学成分 143 个, 黄连化学成分 48 个。将筛选条件设置为 $OB \geq 30\%$ 、

DL $\geq$ 0.18, 同时将重复项删除, 最终得到桑白皮 将化学成分的靶点名转换为基因名, 删除重复值后 汤化学成分 109 个, 见表 1。通过 Uniprot 数据库 得到 230 个靶点。

表 1 桑白皮汤主要化学成分信息

Table 1 Information of the main chemical ingredients of Sangbaipi Decoction

编号	化学成分名称	OB/%	DL	来源
MOL000211	mairin	55.38	0.78	桑白皮、杏仁
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	桑白皮、半夏、紫苏子、贝母、 栀子、黄芩
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	桑白皮、栀子、黄连
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	桑白皮、栀子
MOL005043	campest-5-en-3beta-ol	37.58	0.71	桑白皮、紫苏子
MOL002714	baicalein	33.52	0.21	半夏、黄芩
MOL000449	stigmaterol	43.83	0.76	半夏、紫苏子、杏仁、栀子、黄芩
MOL005030	gondoic acid	30.70	0.20	半夏、紫苏子、杏仁
MOL004355	spinasterol	42.98	0.76	紫苏子、杏仁
MOL000953	CLR	37.87	0.68	紫苏子、杏仁
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	杏仁、贝母、黄芩
MOL001458	coptisine	30.67	0.86	黄芩、黄连
MOL002897	epiberberine	43.09	0.78	黄芩、黄连
MOL012681	dimethyl (methylenedi-4,1-phenylene) biscarbamate	50.84	0.26	桑白皮
MOL012686	7-methoxy-5,4'-dihydroxyflavanonol	51.72	0.26	桑白皮
MOL012689	cyclomulberrochromene	36.79	0.87	桑白皮
MOL012692	kuwanon D	31.09	0.80	桑白皮
MOL012714	moracin A	64.39	0.23	桑白皮
MOL012719	moracin O	62.33	0.44	桑白皮
MOL012735	mulberroside C _{qt}	71.39	0.46	桑白皮
MOL012753	sanggenone F	62.42	0.54	桑白皮
MOL012755	sanggenone H	37.50	0.53	桑白皮
MOL012760	sanggenone M	68.29	0.85	桑白皮
MOL001474	sanguinarine	37.81	0.86	桑白皮
MOL003758	iristectorigenin (9CI)	71.55	0.34	桑白皮
MOL003856	moracin B	55.85	0.23	桑白皮
MOL003857	moracin C	82.13	0.29	桑白皮
MOL003858	moracin D	60.93	0.38	桑白皮
MOL003860	moracin F	53.81	0.23	桑白皮
MOL004912	glabrone	52.51	0.50	桑白皮
MOL001004	pelargonidin	37.99	0.21	桑白皮
MOL012800	3,5,7-trihydroxy-2-(3-hydroxyphenyl)chromone	59.71	0.24	桑白皮
MOL002514	sexangularetin	62.86	0.30	桑白皮
MOL001755	24-ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76	半夏
MOL002670	cavidine	35.64	0.81	半夏
MOL002776	baicalin	40.12	0.75	半夏
MOL000519	coniferin	31.11	0.32	半夏

续表 1

编号	化学成分名称	OB/%	DL	来源
MOL006936	10,13-eicosadienoic	39.99	0.20	半夏
MOL006957	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone	46.89	0.27	半夏
MOL003578	cycloartenol	38.69	0.78	半夏
MOL006967	beta-D-ribofuranoside, xanthine-9	44.72	0.21	半夏
MOL012888	citrostadienol	43.28	0.79	紫苏子
MOL012893	(E)-(4-methylbenzylidene)-(4-phenyltriazol-1-yl)amine	57.87	0.19	紫苏子
MOL001439	arachidonic acid	45.57	0.20	紫苏子
MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58	紫苏子
MOL005481	2,6,10,14,18-pentamethylcosa-2,6,10,14,18-pentaene	33.40	0.24	紫苏子
MOL000006	luteolin	36.16	0.25	紫苏子
MOL007449	24-methylidenelophenol	44.19	0.75	紫苏子
MOL009681	obtusifoliol	42.55	0.76	紫苏子
MOL010921	estrone	53.56	0.32	杏仁
MOL002211	11,14-eicosadienoic acid	39.99	0.20	杏仁
MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24	杏仁
MOL002311	glycyrol	90.78	0.67	杏仁
MOL004841	licochalcone B	76.76	0.19	杏仁
MOL004903	liquiritin	65.69	0.74	杏仁
MOL004908	glabridin	53.25	0.47	杏仁
MOL005017	phaseol	78.77	0.58	杏仁
MOL007207	machiline	79.64	0.24	杏仁
MOL012922	l-SPD	87.35	0.54	杏仁
MOL001749	ZINC03860434	43.59	0.35	贝母
MOL004440	peimisine	57.40	0.81	贝母
MOL009027	cyclopamine	55.42	0.82	贝母
MOL009586	isovericine	48.23	0.67	贝母
MOL009588	korseveriline	35.16	0.68	贝母
MOL009589	korseverinine	53.51	0.71	贝母
MOL009593	verticinone	60.07	0.67	贝母
MOL009596	sinpemie A	46.96	0.71	贝母
MOL001406	croctin	35.30	0.26	栀子
MOL001941	ammidin	34.55	0.22	栀子
MOL004561	sudan III	84.07	0.59	栀子
MOL001494	mandenol	42.00	0.19	栀子
MOL001942	isoimperatorin	45.46	0.23	栀子
MOL002883	ethyl oleate (NF)	32.40	0.19	栀子
MOL003095	5-hydroxy-7-methoxy-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)chromone	51.96	0.41	栀子
MOL007245	3-methylkempferol	60.16	0.26	栀子
MOL001689	acacetin	34.97	0.24	黄芩
MOL000173	wogonin	30.68	0.23	黄芩
MOL000228	(2R)-7-hydroxy-5-methoxy-2-phenylchroman-4-one	55.23	0.20	黄芩
MOL002909	5,7,2,5-tetrahydroxy-8,6-dimethoxyflavone	33.82	0.45	黄芩

续表 1

编号	化学成分名称	OB/%	DL	来源
MOL002910	carthamidin	41.15	0.24	黄芩
MOL002913	dihydrobaicalin_qt	40.04	0.21	黄芩
MOL002914	eriodictiol (flavanone)	41.35	0.24	黄芩
MOL002915	salvigenin	49.07	0.33	黄芩
MOL002917	5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone	45.05	0.33	黄芩
MOL002925	5,7,2',6'-Tetrahydroxyflavone	37.01	0.24	黄芩
MOL002927	skullcapflavone II	69.51	0.44	黄芩
MOL002928	oroxylin a	41.37	0.23	黄芩
MOL002932	panicolin	76.26	0.29	黄芩
MOL002933	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavone	36.56	0.27	黄芩
MOL002934	NEOBAICALEIN	104.34	0.44	黄芩
MOL002937	DIHYDROOROXYLIN	66.06	0.23	黄芩
MOL000525	norwogonin	39.40	0.21	黄芩
MOL000552	5,2'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone	31.71	0.35	黄芩
MOL000073	ent-epicatechin	48.96	0.24	黄芩
MOL001490	bis[(2S)-2-ethylhexyl] benzene-1,2-dicarboxylate	43.59	0.35	黄芩
MOL002879	diop	43.59	0.39	黄芩
MOL008206	moslosooflavone	44.09	0.25	黄芩
MOL010415	11,13-eicosadienoic acid, methyl ester	39.28	0.23	黄芩
MOL012245	5,7,4'-trihydroxy-6-methoxyflavanone	36.63	0.27	黄芩
MOL012246	5,7,4'-trihydroxy-8-methoxyflavanone	74.24	0.26	黄芩
MOL012266	rivularin	37.94	0.37	黄芩
MOL001454	berberine	36.86	0.78	黄连
MOL002894	berberrubine	35.74	0.73	黄连
MOL002903	(R)-canadine	55.37	0.77	黄连
MOL002904	berlambine	36.68	0.82	黄连
MOL002907	corchoroside A_qt	104.95	0.78	黄连
MOL000622	magnograndiolide	63.71	0.19	黄连
MOL000785	palmatine	64.60	0.65	黄连
MOL002668	worenine	45.83	0.87	黄连

2.2 中药-成分-靶点网络的构建与分析

将上述 8 味中药、109 个化学成分和 230 个靶点分别定义网络文件和属性文件后,导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建中药-成分-靶点网络图,该网络共有 346 个节点和 1 806 条边,见图 1。使用 Network Analyzer 工具计算出 degree,根据 degree 值筛选出前 10 的活性成分,degree 越高表明该节点与其他节点存在越多的相关作用关系,推测可能是桑白皮汤治疗 COPD 的主要药效成分,见表 2。其中槲皮素(querletin)为桑白皮、栀子、黄连的共有成分, β -谷甾醇(beta-sitosterol)为桑白皮、半夏、紫苏子、贝母、栀子、黄芩的共有成分,豆甾醇(stigmasterol)

为半夏、紫苏子、杏仁、栀子、黄芩的共有成分,山柰酚(kaempferol)为桑白皮、栀子的共有成分,黄芩素(baicalein)为半夏、黄芩的共有成分。

2.3 PPI 网络的构建

通过 GeneCards 数据库以 relevance score ≥ 20 为筛选条件,共获得 COPD 相关疾病靶点 1 150 个;通过 DisGeNET 数据库获得 COPD 相关疾病靶点 68 个;通过 TTD 数据库获得 COPD 相关疾病靶点 76 个。将以上 3 个数据库的靶点合并,删除重复项,得到 1 220 个疾病靶点。将疾病靶点与成分靶点取交集,如图 2 所示,最终得到交集靶点 119 个。

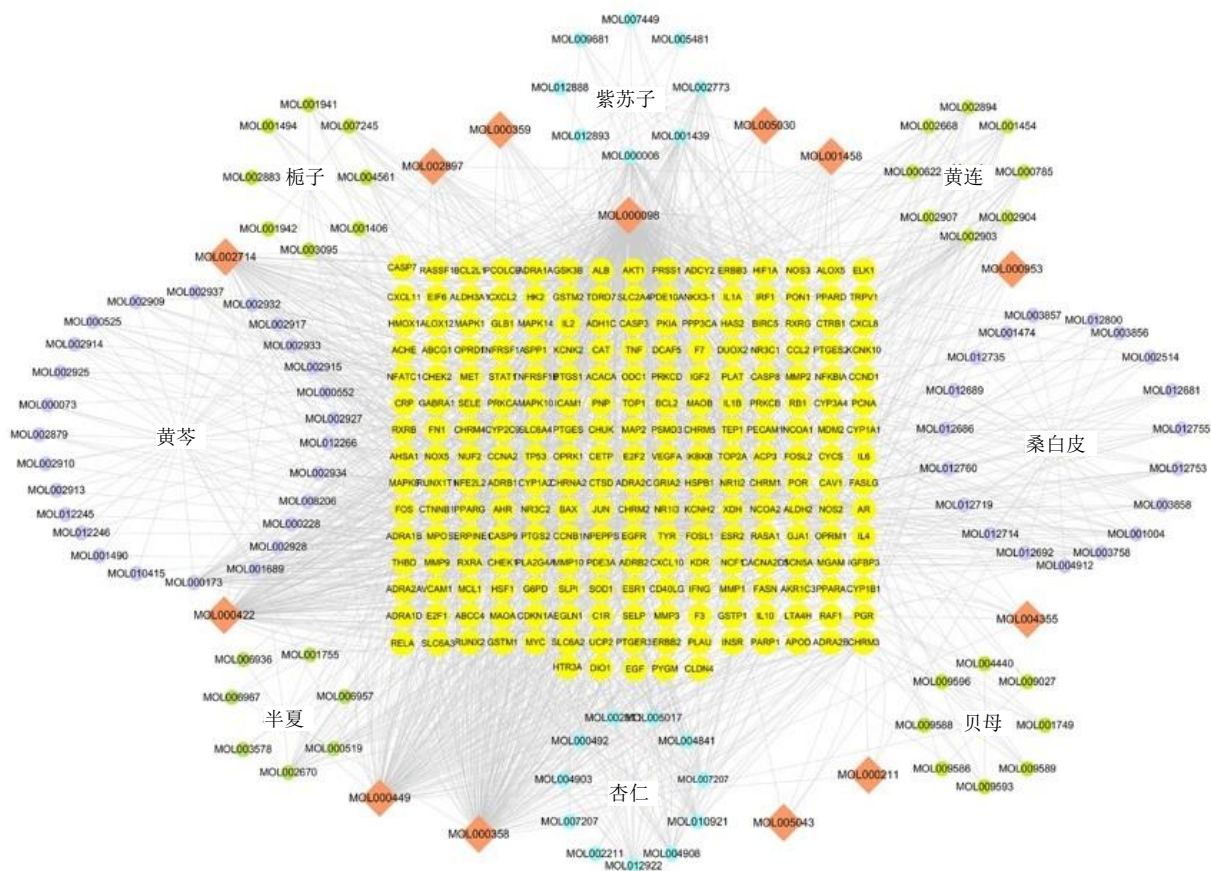


图 1 中药-成分-靶点网络

Fig. 1 Traditional Chinese medicine-component-target network

表 2 度值前 10 的活性成分

Table 2 Top 10 active ingredients of degree value

化合物 ID	度值	化合物名称	OB/%	DL
MOL000098	396	quercetin	46.43	0.28
MOL000358	168	beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL000449	130	stigmaterol	43.83	0.76
MOL000422	102	kaempferol	41.88	0.24
MOL002714	62	baicalein	33.52	0.21
MOL000006	51	luteolin	36.16	0.25
MOL000173	38	wogonin	30.68	0.23
MOL001439	34	arachidonic acid	45.57	0.20
MOL002903	23	(R)-canadine	55.37	0.77
MOL002670	22	cavidine	35.64	0.81

将上述所得交集靶点导入 String 数据库, 获得 PPI 网络的相关数据。将从 String 数据库中获得的 数据导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建交集靶点的 PPI 网络图, 该网络包含 119 个节点和 2 505 条边, 见图 3。该网络平均度值为 41.20, 其中白蛋白 (ALB)、

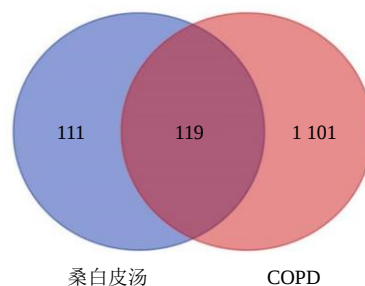


图 2 成分-疾病交集靶点 Venn 图

Fig. 2 Venn diagram of component-disease intersection targets

白细胞介素-6 (IL-6)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1)、血管内皮生长因子 (VEGFA)、肿瘤坏死因子 (TNF) 等 degree 较大, 见表 3, 说明与其他蛋白相互作用力度强, 可能是桑白皮汤发挥药效作用的蛋白。

2.4 KEGG 和 GO 富集分析

将 119 个交集靶点蛋白上传至 DAVID 6.8 数据库, 进行 KEGG 和 GO 富集分析, 其中 GO 分析包括细胞组分 (CC)、分子功能 (MF) 和生物过程 (BP)。

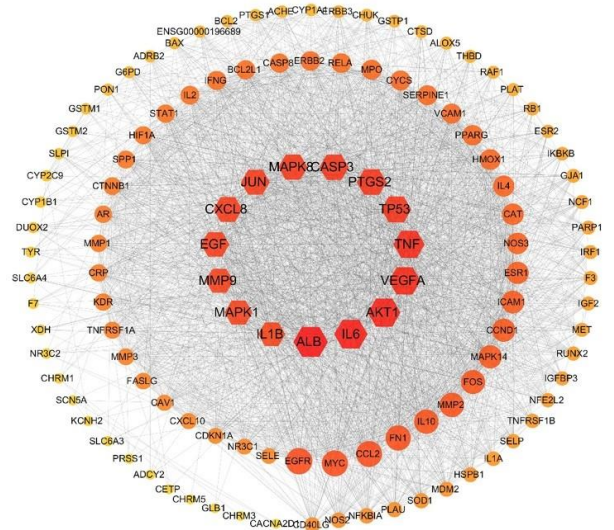


图 3 成分-疾病交集靶点网络

Fig. 3 Component-disease intersection target network

表 3 度值前 15 的靶点

Table 3 Top 15 targets of degree values

序号	靶点名称	基因	度值
1	serum albumin	ALB	99
2	interleukin-6	IL-6	95
3	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	AKT1	93
4	vascular endothelial growth factor A	VEGFA	90
5	tumor necrosis factor	TNF	89
6	cellular tumor antigen p53	TP53	85
7	prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2	84
8	caspase-3	CASP3	83
9	mitogen-activated protein kinase 8	MAPK8	82
10	interleukin-8	CXCL8	81
11	transcription factor AP-1	JUN	81
12	pro-epidermal growth factor	EGF	80
13	mitogen-activated protein kinase 1	MAPK1	78
14	matrix metalloproteinase-9	MMP9	78
15	interleukin-1 beta	IL1B	76

以 $P < 0.05$ 作为筛选条件, 得到 KEGG 富集分析通路 100 条, 其中有 30 条通路参与了 COPD 的治疗, 按 P 值从小到大筛选前 20 条, 主要涉及 TNF 信号通路、Toll 样受体信号通路、MAPK 信号通路、T 细胞受体信号通路、NOD 样受体信号通路、NF- κ B 信号通路、HIF-1 信号通路、叉头转录因子 (FoxO) 信号通路、细胞凋亡相关通路以及 p53 信号通路等, 见图 4。

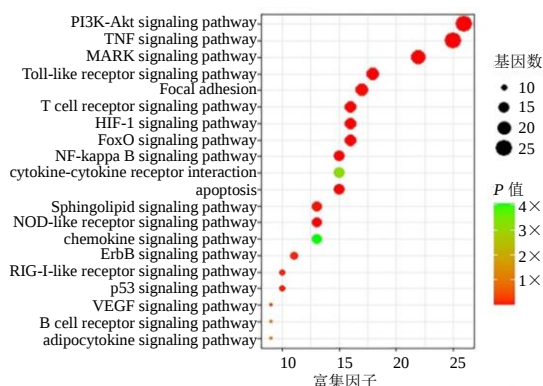


图 4 交集靶点 KEGG 信号通路富集分析

Fig. 4 KEGG signaling pathway enrichment analysis of intersection target

根据筛选条件, 在 GO 富集分析中, 得到生物学过程 (BP) 443 个、分子功能 (MF) 83 个、细胞组分 (CC) 49 个, 根据 P 值从小到大筛选出前 20 条展示, 见图 5。其中 BP 主要包括 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、凋亡过程的负调控、炎症反应、基因表达的正调控、细胞增殖的正调控、衰老等。MF 主要涉及蛋白质、酶、转录因子、受体、血红素、细胞因子等。CC 主要涉及细胞核、细胞外隙、细胞质膜、细胞质、线粒体、溶酶体等。图中气泡大小代表基因的数量, 颜色代表富集显著性 P 值大小。

2.5 分子对接

为进一步证实所得结果的可靠性, 采用分子对接技术对成分和靶点进行验证。在中药-成分-靶点网络中选取 degree 值较高的前 6 个成分包括槲皮素、 β -谷甾醇、豆甾醇、山柰酚、黄芩素、木犀草素作为候选对接核心成分; 选取交集靶点网络中 degree 值较高的靶点 ALB (PDB ID: 6HSC)、IL-6 (PDB ID: 4O9H)、AKT1 (PDB ID: 6SB0)、VEGFA (PDB ID: 4KZN)、TNF (PDB ID: 2AZ5) 作为候选的对接蛋白。研究表明, 配体与受体蛋白的结合能越低, 即小于 -20.92 kJ/mol, 说明两者有较好的结合性^[11]。对接结果表明, 6 个成分与 5 个蛋白结合能均小于 -20.92 kJ/mol, 见表 4。对比其他靶点, 本研究发现 VEGFA 与化合物结合能普遍偏高, 结合较差, 可能是由于 VEGFA 的靶点口袋不明确。

利用 Pymol 软件对桑白皮汤中的核心成分与主要蛋白对接结果进行可视化, 部分结果见图 6, 可以很清晰的看到化合物与蛋白氨基酸残基的结合。其中槲皮素与 IL-6 中的活性氨基酸残基 GLN-183、

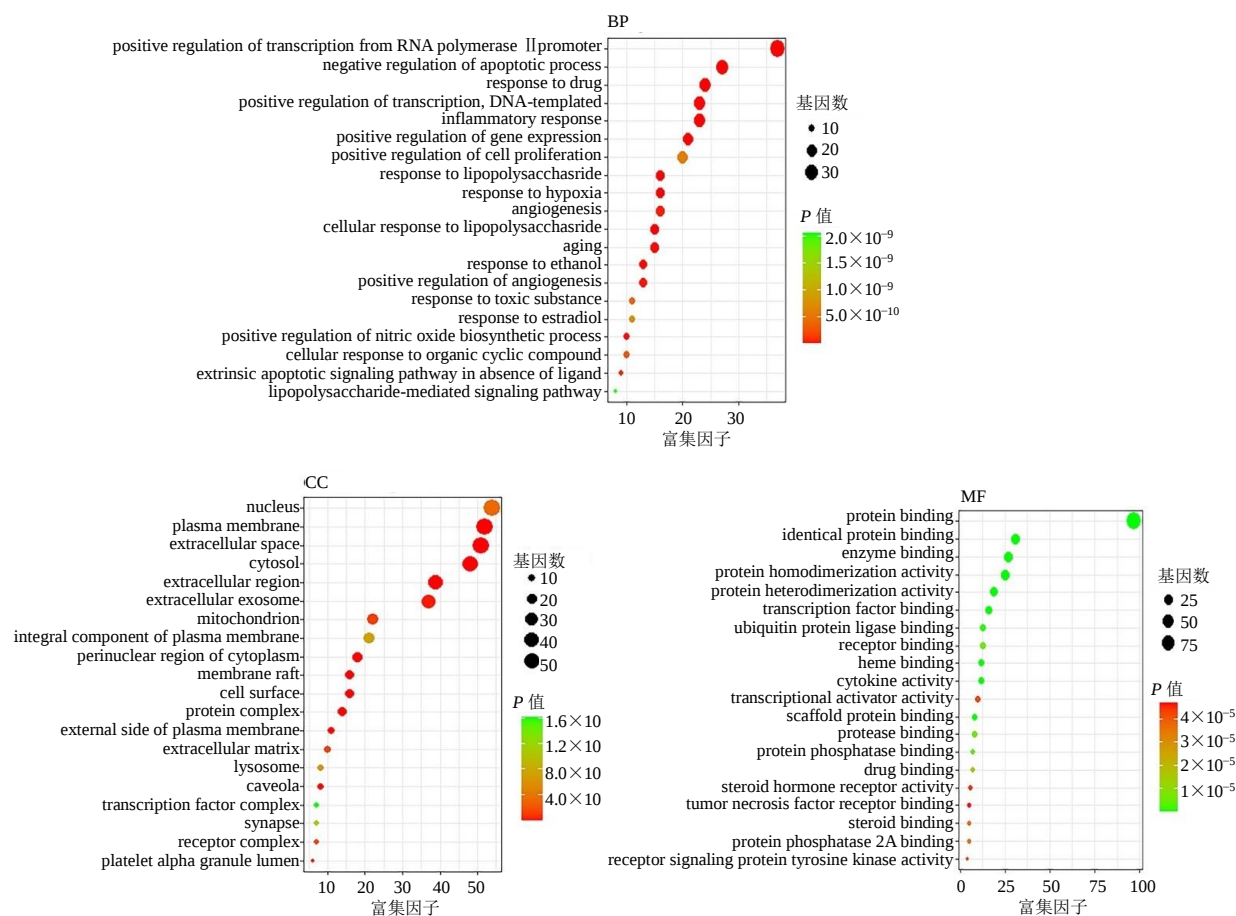


图 5 交集靶点 GO 富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis of intersection target

表 4 核心成分与主要靶蛋白的分子对接结果

Table 4 Molecular docking result of core components and main targets

靶点名称	结合能/(kJ·mol ⁻¹)					
	槲皮素	β-谷甾醇	豆甾醇	山柰酚	黄芩素	木犀草素
ALB	-32.38	-38.66	-34.23	-31.00	-31.13	-32.89
IL-6	-25.02	-31.51	-30.96	-24.89	-24.06	-25.48
AKT1	-31.09	-38.16	-39.58	-30.92	-28.74	-30.46
VEGFA	-22.51	-24.60	-24.73	-22.80	-22.51	-22.72
TNF	-27.32	-32.84	-31.88	-27.41	-26.28	-26.28

GLN-75、PHE-78、ARG-179 形成氢键，β-谷甾醇与 IL-6 中的 GLU-99、GLU-95、GLN-127、THR-138 形成氢键，豆甾醇与 IL-6 中的 THR-138、GLN-127、LYS-128、GLU-99、PRO-141 形成氢键，这些氢键的存在说明这些化合物能够很好地匹配蛋白的活性口袋。

3 讨论

COPD 属中医“肺胀”“痰饮”等范畴，多由机

体虚损引起，其病位主要在肺、脾、肾 3 脏。《丹溪心法·咳嗽》描述该病为：“肺胀而咳，或左或右不得眠，此痰挟瘀血碍气而病。”其明确指出本病的基本病机为痰瘀伏肺、肺气郁闭，由此可见，痰、瘀、脏虚是导致 COPD 的主要病理因素。对于 COPD 的治疗，古代医家强调急性发作期以治标为主，稳定期则着重于扶正补虚，而桑白皮汤加减为治疗 COPD 急性发作期的经典方剂，方中桑白皮、

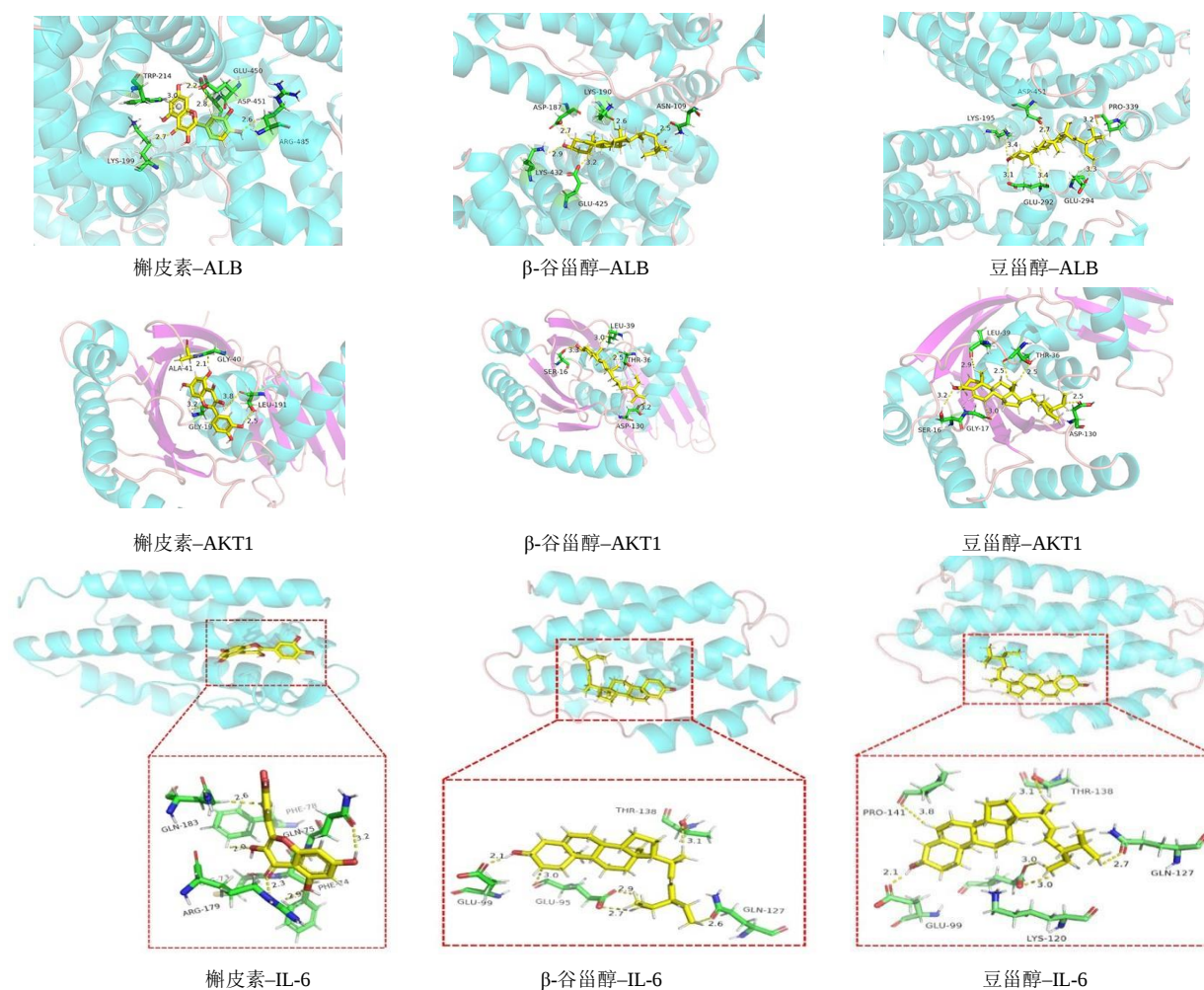


图 6 槲皮素、β-谷甾醇、豆甾醇与 ALB、AKT1、IL-6 蛋白的分子对接图

Fig. 6 Docking diagram of quercetin, β-sitosterol, stigmasterol and ALB, AKT1, IL-6

黄芩同为君药。其中桑白皮味甘性寒，归肺经，具有泻肺平喘的功效，黄芩主入上焦，二药相伍，以达清热泻肺平喘之功。贝母、半夏宣肺化痰，紫苏子、杏仁降气化痰平喘，栀子、黄连清热泻肺，各药味配伍，共凑清热化痰、止咳平喘的功效^[12-14]。现代研究表明 COPD 的发病机制主要包含以下几个方面：气道炎症、氧化应激、蛋白酶-抗蛋白酶失衡、胆碱能神经张力增高等。药理学研究表明，桑白皮汤加减可通过降低炎症反应、氧化应激而发挥治疗 COPD 的作用^[15]。

根据“中药-成分-靶点”网络分析发现，桑白皮汤中主要活性成分有槲皮素、β-谷甾醇、豆甾醇、山柰酚、黄芩素、木犀草素等。槲皮素是一种天然黄酮类化合物，具有抗氧化、抗炎、抗病毒等的作用，在肺部组织中含量较高^[16-17]。相关研究表明，

槲皮素可通过减少鼻病毒诱导的 COPD 小鼠的肺部炎症反应，发挥治疗 COPD 的作用^[18]。β-谷甾醇、豆甾醇都属于植物甾醇。其中 β-谷甾醇可通过增加 J774A 中酪氨酸磷酸酶 SHP-1 的活性使 STAT1 和 NF-κB 通路下调，降低促炎细胞因子和趋化因子的表达，从而发挥抗炎作用^[19]。山柰酚具有抗氧化、抗炎和抗菌等活性，可通过下调 IL-23 和 MMP-9 水平参与治疗 COPD^[20]。黄芩素的抗炎和抗氧化活性与其降低活性氧 (ROS) 的表达、下调 NF-κB 通路、抑制炎症因子和趋化因子的表达有关^[21]。

PPI 相互作用蛋白网络显示桑白皮汤中的有效成分可能通过 ALB、IL-6、AKT1、VEGFA、TNF、TP53 等蛋白发挥治疗 COPD 的作用。ALB 是一种含量丰富的多功能蛋白，能与许多内源性外源性化合物结合，如其与脂多糖和其他细菌产物（脂壁

酸和肽聚糖)、活性氧、一氧化氮、前列腺素等结合,从而调节全身和器官的炎症反应^[22]。IL-6 是一种重要的多效性细胞因子,参与多种细胞的生长、分化以及功能调节,参与了炎症反应和免疫应答等病理过程,相关研究表明其与 COPD 炎症所致气流阻塞过程密切相关^[23]。AKT1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,该蛋白参与了多种生物学过程,如细胞存活、增殖和转录,在包括肺在内的各种组织中表达^[24]。在 p16 缺失的转基因小鼠中,胰岛素样生长因子(IGF1)及其下游 AKT1 信号通路被激活,对香烟诱导的 COPD 肺气肿的肺泡再生具有促进作用,从而明显改善肺功能^[25]。在哮喘-慢阻肺重叠综合征患者血清中观察到血清 IL-8 和 VEGFA 的高表达,其中 VEGFA 的特异性高,可作为诊断哮喘-慢阻肺重叠综合征的生物标志物,提示 VEGFA 可能影响 COPD 的进程^[26-27]。

KEGG 通路分析显示,PI3K-Akt、TNF、MAPK、p53、ErbB、HIF-1、NF- κ B 信号通路等可能为桑白皮汤发挥治疗作用的通路。磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 主要参与调节细胞生长、增殖、运动、抑制细胞凋亡、促进血管生成等过程,研究表明^[28]细胞外基质(ECM)蛋白可通过激活 PI3K/Akt 信号通路,使 COPD 大鼠模型的气道平滑肌细胞发生增殖、迁移和黏附。有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)由 p38、ERK、JNK、ERK4 亚族组成,其中 p38 MAPK 在气道平滑肌细胞中表达,可被炎性细胞因子、氧化应激以及生长因子等激活,参与炎症反应的发生以及调节细胞增殖^[29-30]。此外,分子对接结果表明,6 个核心成分与 5 个主要靶蛋白的结合能均小于-20.92 kJ/mol,表明成分与靶点具有较好的结合性,可以起到治疗 COPD 的作用。

本研究通过生物分子网络揭示了桑白皮汤治疗 COPD 的药效物质基础、作用靶点及其作用机制,结果表明,桑白皮汤可通过多成分、多靶点、多通路治疗 COPD。桑白皮汤中的活性成分槲皮素、 β -谷甾醇、豆甾醇、山柰酚、黄芩素、木犀草素等可能通过与 ALB、IL-6、AKT1、VEGFA、TNF、TP53 等蛋白结合,进而调节 PI3K-Akt、TNF、MAPK、HIF-1、NF- κ B 信号通路、凋亡相关通路等,发挥抗炎、抑制细胞凋亡、抗氧化应激等作用。该研究从细胞以及分子层面预测了桑白皮汤治疗 COPD 的作用机制,为桑白皮汤的后续研究奠定了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sotgia S, Paliogiannis P, Sotgiu E, et al. Systematic review and meta-analysis of the blood glutathione redox state in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Antioxidants* (Basel), 2020, 9(11): E1146.
- [2] Wang C, Xu J Y, Yang L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2018, 391(10131): 1706-1717.
- [3] Adeloye D, Chua S, Lee C, et al. Global and regional estimates of COPD prevalence: Systematic review and meta-analysis [J]. *J Glob Health*, 2015, 5(2): 020415.
- [4] Li J Y, Ye Z G. The potential role and regulatory mechanisms of MUC5AC in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Molecules*, 2020, 25(19): E4437.
- [5] An J, Zhou H, Yang T, et al. Relationship of psychological factors with daily activities and quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease in a Chinese rural population [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(2): 1675-1684.
- [6] Wang C X, Zhou J D, Wang J Q, et al. Progress in the mechanism and targeted drug therapy for COPD [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 248.
- [7] 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.
- [8] 武 夏, 朱亚飞, 马 锐, 等. 桑白皮汤对豚鼠离体气管平滑肌的舒张作用 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2020, 42(10): 987-990, 995.
- [9] 刘洁静, 冯京帅, 李 霞, 等. 桑白皮汤加减治疗慢阻肺急性加重期(痰热壅肺型)的疗效观察 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(12): 1884-1889.
- [10] 苗 頔, 王 祺. 桑白皮汤治疗痰热郁肺型慢性阻塞性肺疾病急性期的研究进展 [J]. *中国处方药*, 2021, 19(4): 29-30.
- [11] 裴 超, 邵霖霖, 刘 晶, 等. 基于网络药理学与分子对接技术探讨红花治疗视网膜静脉阻塞的作用机制研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(11): 1844-1851.
- [12] 卜芸芸. 桑白皮汤加减联合雾化吸入治疗老年慢阻肺急性加重期疗效 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(89): 187-188.
- [13] 吴成明, 程玉峰, 赵园园. 桑白皮汤对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(痰热郁肺证)患者氧化应激的影响 [J]. *中国中医急症*, 2018, 27(2): 331-333.
- [14] 范娟娟, 李 光, 史慧莲. 桑白皮汤加味治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的疗效观察 [J]. *中国医药科学*,

- 2019, 9(3): 17-20, 32.
- [15] 程茹. 桑白皮汤加减治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期62例[J]. 浙江中医杂志, 2018, 53(10): 730.
- [16] 朱晓芹, 刘志强, 王博龙. 基于生物分子网络和分子对接研究槲皮素抗宫颈癌的机制[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(1): 23-31.
- [17] Batiha G E, Beshbishy A M, Ikram M, et al. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: quercetin [J]. *Foods*, 2020, 9(3): E374.
- [18] Farazuddin M, Mishra R, Jing Y X, et al. Quercetin prevents rhinovirus-induced progression of lung disease in mice with COPD phenotype [J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0199612.
- [19] Valerio M, Awad A B. β -sitosterol down-regulates some pro-inflammatory signal transduction pathways by increasing the activity of tyrosine phosphatase SHP-1 in J774A.1 murine macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(8): 1012-1017.
- [20] Li J S, Liu X F, Dong H R, et al. Effective-constituent compatibility-based analysis of Bufe Yishen formula, a traditional herbal compound as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Integr Med*, 2020, 18(4): 351-362.
- [21] Dinda B, Dinda S, DasSharma S, et al. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalein against inflammatory disorders [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 131: 68-80.
- [22] Arroyo V, García-Martinez R, Salvatella X. Human serum albumin, systemic inflammation, and cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2014, 61(2): 396-407.
- [23] Bradford E, Jacobson S, Varasteh J, et al. The value of blood cytokines and chemokines in assessing COPD [J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 180.
- [24] Bozinovski S, Vlahos R, Hansen M, et al. Akt in the pathogenesis of COPD [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2006, 1(1): 31-38.
- [25] Cottage C T, Peterson N, Kearley J, et al. Targeting p16-induced senescence prevents cigarette smoke-induced emphysema by promoting IGF1/Akt1 signaling in mice [J]. *Commun Biol*, 2019, 2: 307.
- [26] Ding Q L, Sun S F, Zhang Y, et al. Serum IL-8 and VEGFA are two promising diagnostic biomarkers of asthma-COPD overlap syndrome [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2020, 15: 357-365.
- [27] Yang D L, Yan Y, Hu F, et al. CYP1B1, VEGFA, BCL2, and CDKN1A affect the development of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Chronic Obstr Pulm Dis*, 2020, 15: 167-175.
- [28] Wang Z Y, Li R, Zhong R. Extracellular matrix promotes proliferation, migration and adhesion of airway smooth muscle cells in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease via upregulation of the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3): 3143-3152.
- [29] Guo Y J, Pan W W, Liu S B, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(3): 1997-2007.
- [30] Banerjee A, Koziol-White C, Panettieri R Jr. p38 MAPK inhibitors, IKK2 inhibitors, and TNF α inhibitors in COPD [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, 12(3): 287-292.

[责任编辑 高源]