

基于网络药理学和分子对接技术挖掘半贝丸治疗支气管炎的作用机制

成坤¹, 王峰², 刘源^{1*}, 王子亮¹, 李雪梅¹

1. 商丘市第一人民医院 药学部, 河南 商丘 476100

2. 商丘市第一人民医院 呼吸科, 河南 商丘 476100

摘要: **目的** 通过网络药理学及分子对接技术探讨半贝丸治疗支气管炎的分子作用机制。**方法** 基于 TCMSP 数据库结合文献报道筛选半贝丸的有效活性成分并预测作用靶点, 构建半贝丸“成分-靶点”网络; 运用 GeneCards 数据库和 OMIM 数据库获取支气管炎疾病靶点, 构建韦恩图, 获得半贝丸治疗支气管炎的作用靶点; 采用 Cytoscape 软件构建“疾病-活性成分”网络模型; 运用 String 平台将共同靶点进行蛋白相互作用 (PPI) 网络分析, 通过 Metascape 数据库对靶点进行基因本体 (GO) 功能富集及基因组百科全书 (KEGG) 通路富集; 并采用 SwissDock 在线数据库进行分子对接。**结果** 筛选得到半贝丸活性成分 29 个, 共获得潜在靶点 95 个, 支气管炎疾病靶点 1 964 个, 半贝丸与支气管炎共同靶点 49 个。网络分析结果表明, 半贝丸治疗支气管炎的关键靶点包括蛋白激酶 (Akt1)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、肿瘤抑制因子 P53 (TP53)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、原癌基因 c-Jun 产物 (JUN)、基质金属蛋白酶-9 (MMP9) 等, 主要通过细胞对有机环状化合物的反应、凋亡信号通路、转录调节复合物、半胱氨酸型内肽酶活性参与凋亡信号通路等生物过程发挥作用, KEGG 富集主要涉及磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) /Akt、细胞凋亡、晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (AGE-RAGE) 等信号通路。分子对接结果显示半贝丸中 β -谷固醇、黄芩素、豆甾醇等关键化合物与 Akt1、VEGFA、TP53、CASP3 等关键靶点有较好的结合能力。**结论** 半贝丸治疗支气管炎具有多成分、多靶点和多通路等特征。

关键词: 半贝丸; 支气管炎; 网络药理学; 作用机制; β -谷固醇; 黄芩素; 豆甾醇

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)04-0867-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.04.008

Mechanism of Banbei Pills in treatment of bronchitis based on network pharmacology and molecular docking technology

CHENG Kun¹, WANG Feng², LIU Yuan¹, WANG Ziliang¹, LI Xuemei¹

1. Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu 476100, China

2. Department of Respiratory Medicine, The First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu 476100, China

Abstract: Objective To mining the mechanism of Banbei Pills in treatment of bronchitis by network pharmacology and molecular docking and molecular docking technology. **Methods** To search the chemical components and targets of Banbei Pills by literature mining and TCMSP platform, and construct the “ingredient-target” network of Banbei Pills. To obtain the disease targets of bronchitis by GeneCards and OMIM database, and construct Venn diagram to obtain the targets of Banbei Pills in treatment of bronchitis. The “disease-active ingredient” network model was constructed using Cytoscape software. The common target was analyzed by using String platform for protein interaction (PPI) network analysis, and the target was enriched by GO function and KEGG pathway through Metascape database. SwissDock online database was used for molecular docking. **Result** A total of 29 components, 95 potential targets, 1 964 targets related to bronchitis, and 49 targets of Banbei Pills and bronchitis were obtained. The network analysis results showed that the key targets of Banbei Pills in treatment of bronchitis included Akt1, VEGFA, TP53, CASP3, JUN, and MMP9. Biological processes mainly involved cellular response to organic cyclic compound, apoptotic signaling pathway, transcription factor complex and cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic signaling pathway. KEGG enrichment mainly involved PI3K/Akt, apoptosis, AGE-RAGE and other signaling pathways. The molecular docking results showed that β -sitosterol, baicalin,

收稿日期: 2024-01-08

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20210992)

作者简介: 成坤, 男, 本科, 主管药师, 研究方向为临床药物治疗学。E-mail: fvxte@163.com

*通信作者: 刘源, 男, 本科, 副主任药师, 研究方向为临床药物治疗学。E-mail: llry12@163.com

and sitosterol and other key compounds in Banbei Pills have better binding ability with key targets such as Akt1, VEGFA, TP53, and CASP3. **Conclusion** Banbei Pills in treatment of bronchitis have the characteristics of multi-component, target, and multi-pathway.

Key word: Banbei Pills; bronchitis; network pharmacology; mechanism; β -sitosterol; baicalin; sitosterol

支气管炎是呼吸道的常见疾病之一, 由病毒和细菌反复感染、冷空气、烟雾、粉尘、空气污染、过敏等多种因素导致的以咳嗽、痰多、气促等症状及反复发作的慢性过程为特征的气管、支气管黏膜及其周围组织的炎症。支气管炎归属于中医“咳嗽”“哮喘”“痰饮”等范畴, 中医认为肺主气, 司呼吸, 主宣发、肃降, 通调水道, 外合皮毛, 开窍于鼻。肺气虚弱, 外邪侵入致肺气不得正常宣降而咳嗽、气喘; 脾虚运化失调, 水湿痰饮停聚, 痰饮上逆阻塞气道而喘促痰多; 肾虚则气不归根, 动则气促, 命火不足水失其制, 上泛为痰。中医治疗遵循“急则治其标、缓则治其本”的治疗原则, 急性发作期以治标为主, 缓解期则以调补肺、脾、肾 3 脏而固本为主。半贝丸来源于《重订通俗伤寒论》, 系止咳化痰、开郁散结剂, 以咳嗽多痰为辨证要点。该方由半夏(制)和川贝母组方而成, 味微苦, 现收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第十三册, 方中半夏为天南星科植物半夏的干燥块茎, 性辛味温, 归脾、胃、肺经, 具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结的临床功效; 川贝母性苦味甘, 归肺、心经, 清热润肺、化痰止咳、散结消痈。诸药合用, 共奏止咳化痰、开郁散结之功, 现代常用于治疗支气管炎、癫痫、淋巴结炎等病症。

中成药复方制剂具有多成分、多靶点、多通路整体作用的特点。网络药理学依托于系统生物学和网络理论^[1-2], 在“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络的基础上, 通过整合大量网络数据库资源, 进行网络分析, 从整体观系统地综合分析药物对疾病的干预和影响, 与中医基础理论之整体观念相吻合。分子对接技术研究药物分子与蛋白靶点间的相互作用, 预测其结合模式及亲合力, 通过结合自由能验证筛选出的主要成分与关键靶点能否有效结合。本研究将上述 2 种技术结合探讨半贝丸治疗支气管炎作用机制, 并为半贝丸后续研究提供思路。

1 方法

1.1 半贝丸成分及靶点获取

通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)获取半贝丸中半夏和川贝母所含化学成分, 以口服生物

利用度(OB) $\geq 30\%$ 及类药性(DL) ≥ 0.18 筛选半贝丸的有效成分。并通过中国知网、万方、维普、PubMed 等数据库分别以“半夏”“*Pinelliae Rhizoma*”“川贝母”“*Fritillariae Cirrhosae Bulbus*”为关键词, 查找文献中有明确与治疗“支气管炎”“*bronchitis*”相关药理活性成分, 建立活性成分数据库; 同时运用 TCMSP 数据库对其靶点蛋白进行预测。采用 UniProt 蛋白质序列数据库将靶点蛋白名转换为靶点基因名。

1.2 半贝丸“成分-靶点”网络模型构建

利用 Cytoscape 软件, 按照半贝丸中活性成分预测的靶点, 建立活性成分与靶点间的相互对应关系, 构建“成分-靶点”网络模型。

1.3 支气管炎靶点获取

在 GeneCards、OMIM 数据库中输入主题词“*bronchitis*”进行检索, 同时对相关疾病靶点进行合并和去重, 即得支气管炎疾病相关靶点, 并把相关基因编码的蛋白质作为药物治疗的潜在作用靶点。

1.4 疾病-活性成分共同靶点的获取

将半贝丸成分靶点和支气管炎疾病靶点录入 Bioinformatics & Evolutionary Genomics 在线软件作图工具平台, 绘制韦恩图, 获得疾病-活性成分共同靶点。

1.5 蛋白相互作用(PPI)网络的构建

在 STRING 数据库在线平台(<https://string-db.org/>)中, 构建 PPI 网络模型, 获得 PPI 网络图。

1.6 基因本体(GO)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析

在 Metascape 数据库(<https://metascape.org/>)中录入交集靶点, 进行生物过程(BP)、细胞组成(CC)、分子功能(MF)的 GO 富集和 KEGG 信号通路分析, 并采用微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)在线工具进行 GO 富集分析弦图和 KEGG 富集分析气泡图, 使其结果可视化。

1.7 分子对接验证

以 PPI 网络模型中 degree 值排名靠前的核心靶点为候选蛋白, 在 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)中获得靶点蛋白 PDB ID, 以 1.2 项下筛选出的半贝丸治疗支气管炎主要活性成分以及常用止咳

化痰药盐酸氨溴索和氢溴酸右美沙芬为候选化合物，在 PubChem 数据库获得活性成分 3D 结构保存为 mol2 格式，运用 PyMOL 软件对蛋白质进行去水、加氢等操作，通过 SwissDock 在线数据库进行分子对接。

2 结果

2.1 半贝丸活性成分筛选结果

共筛选出半夏潜在活性成分 13 个，川贝母潜在活性成分 13 个，其中半夏、川贝母共有活性成分 1 个；除上述成分外文献报道半夏中麻黄碱、伪麻黄碱^[3-4]，川贝母中西贝母碱、贝母甲素对支气管炎均有明确的药理活性^[5-6]，共获得 29 个活性成分，见表 1。通过 TCMSP 数据库对上述成分进行靶点预测，29 个活性成分共获得靶点蛋白 285 个，经标准化汇总去重，最终获得靶点基因 95 个。

2.2 半贝丸活性成分及相应靶点的网络图

利用 Cytoscape 3.7.1 软件将半贝丸的 2 味中药、

29 个活性成分和 95 个相关靶点建立可视网络拓扑图，见图 1。网络共包括 126 个节点，295 条边。结果表明，β-谷固醇、黄芩素、麻黄碱、伪麻黄碱、甾甾醇、卡维丁、松柏苷等主要成分连接的靶点较多，直接或间接作用于前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、PTGS1、肾上腺素能受体 β2 (ADRB2)、钠电压门控通道 α 亚基 5 (SCN5A)、核受体共激活因子 2 (NCOA2)、雄激素受体 (AR)、毒蕈碱型胆碱受体 M3 (CHRM3)、CHRM1 等主要靶点。

2.3 支气管炎疾病靶点

以“bronchitis”为关键词，在 GeneCards、OMIM 数据库中检索并筛选得到支气管炎相关的疾病靶点 1 964 个。

2.4 疾病 - 活性成分共同靶点

将 95 个活性成分靶点基因与 1 964 个支气管炎靶点取交集，构建韦恩图，获得半贝丸治疗支气管炎的潜在作用靶点 49 个，见图 2。

表 1 半贝丸活性成分
Table 1 Active ingredients of Banbei Pills

编号	活性成分	OB/%	DL	来源
MOL001755	24-ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76	半夏
MOL002670	cavidine	35.64	0.81	半夏
MOL002714	baicalein	33.52	0.21	半夏
MOL002776	baicalin	40.12	0.75	半夏
MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76	半夏
MOL005030	gondoic acid	30.70	0.20	半夏
MOL000519	coniferin	31.11	0.32	半夏
MOL006936	10,13-eicosadienoic	39.99	0.20	半夏
MOL006937	12,13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7,10-dienoic acid	42.15	0.24	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
MOL006594	eciphin	43.35	0.03	半夏
MOL006637	psi-ephedrin	52.25	0.03	半夏
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	半夏、川贝母
MOL001749	ZINC03860434	43.59	0.35	川贝母
MOL000359	sitosterol	36.91	0.75	川贝母
MOL004440	peimisine	57.40	0.81	川贝母
MOL009027	cyclopamine	55.42	0.82	川贝母
MOL009572	chuanbeinone	41.07	0.71	川贝母
MOL009579	ent-(16S)-atisan-13,17-oxide	47.74	0.43	川贝母
MOL009586	isovericine	48.23	0.67	川贝母
MOL009588	korseveriline	35.16	0.68	川贝母
MOL009589	korseverinine	53.51	0.71	川贝母
MOL009593	verticinone	60.07	0.67	川贝母
MOL009596	sinpemine A	46.96	0.71	川贝母
MOL009599	songbeinone	45.35	0.71	川贝母
MOL009582	sipeimine	16.18	0.67	川贝母
MOL004445	verticine	17.42	0.67	川贝母

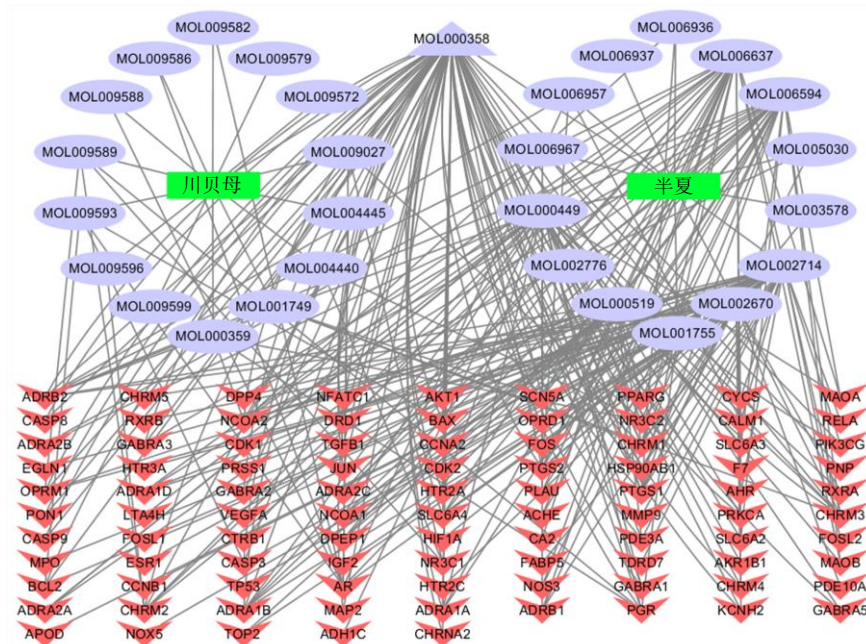


图 1 半夏丸“成分-靶点”网络图

Fig. 1 “Ingredients-target” diagram of Banbei Pills

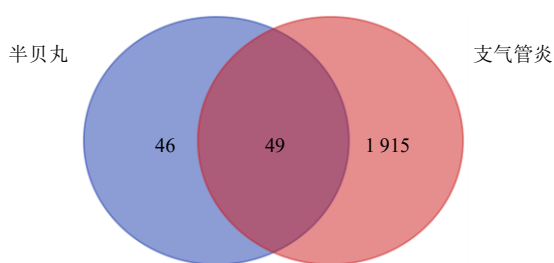


图 2 疾病-活性成分共同靶点韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of common targets of diseases and active ingredients

2.5 PPI 网络构建

根据半夏丸治疗支气管炎的 49 个潜在作用靶点，导入 STRING 数据库在线平台中，获得 PPI 网络，见图 3。网络图中共有 49 个节点，321 条边，平均节点数 13.1，平均局部聚类系数 0.661。以 degree 值较高的靶点为核心基因，前 9 位分别为蛋白激酶 (Akt1)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、肿瘤抑制因子 P53 (TP53)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、原癌基因 c-Jun 产物 (JUN)、基质金属蛋白酶-9 (MMP9)、PTGS2、雌激素受体 (ESR1)、细胞色素 C (CYCS)。

2.6 GO 富集结果

把筛选得到的交集靶点输入到 Metascape 数据库中，选定物种为人，点击个性化分析 (custom analysis) 进行 GO 富集分析和 KEGG 信号通路分

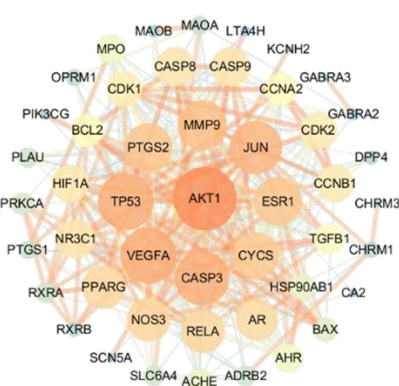


图 3 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network diagram

析。GO 分析共得获得 4 751 个富集结果 ($P < 0.01$)，其中 BP3 890 项，主要涉及细胞对有机环状化合物的反应、对无机物的反应、对有毒物质反应、细胞对药物反应、凋亡信号通路、细胞对氮化合物反应、生殖结构发育、类固醇激素反应、离子传输调节、对氧气水平的反应等；CC378 项，主要涉转录调节复合物、膜筏、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物、突触后膜组成部分、细胞器外膜、枝晶膜、富含 ficolin-1 颗粒内腔、分泌颗粒腔、细胞质核周区域、粘附连接；MF 483 项，主要涉及蛋白质结构域特异性结合、蛋白质同源二聚化活性、热休克蛋白结合、核受体活动、一氧化氮合酶调节活性、半胱氨酸型内肽酶活性参与凋亡信号通路、组蛋白激

酶活性、肽结合、支架蛋白结合、神经递质受体活性等。在 BP、MF 和 CC 中,以 P 值大小排序,分别选取排名前 10 条目,采用微生信在线工具进行 GO 富集分析弦图,使其结果可视化,见图 4。

2.7 KEGG 通路富集分析结果

通过 Metascape 数据库进行 KEGG 信号通路富集分析,得到 380 条通道 ($P < 0.01$),按富集基因数目排序后取前 20 条信号通路,采用微生信在线

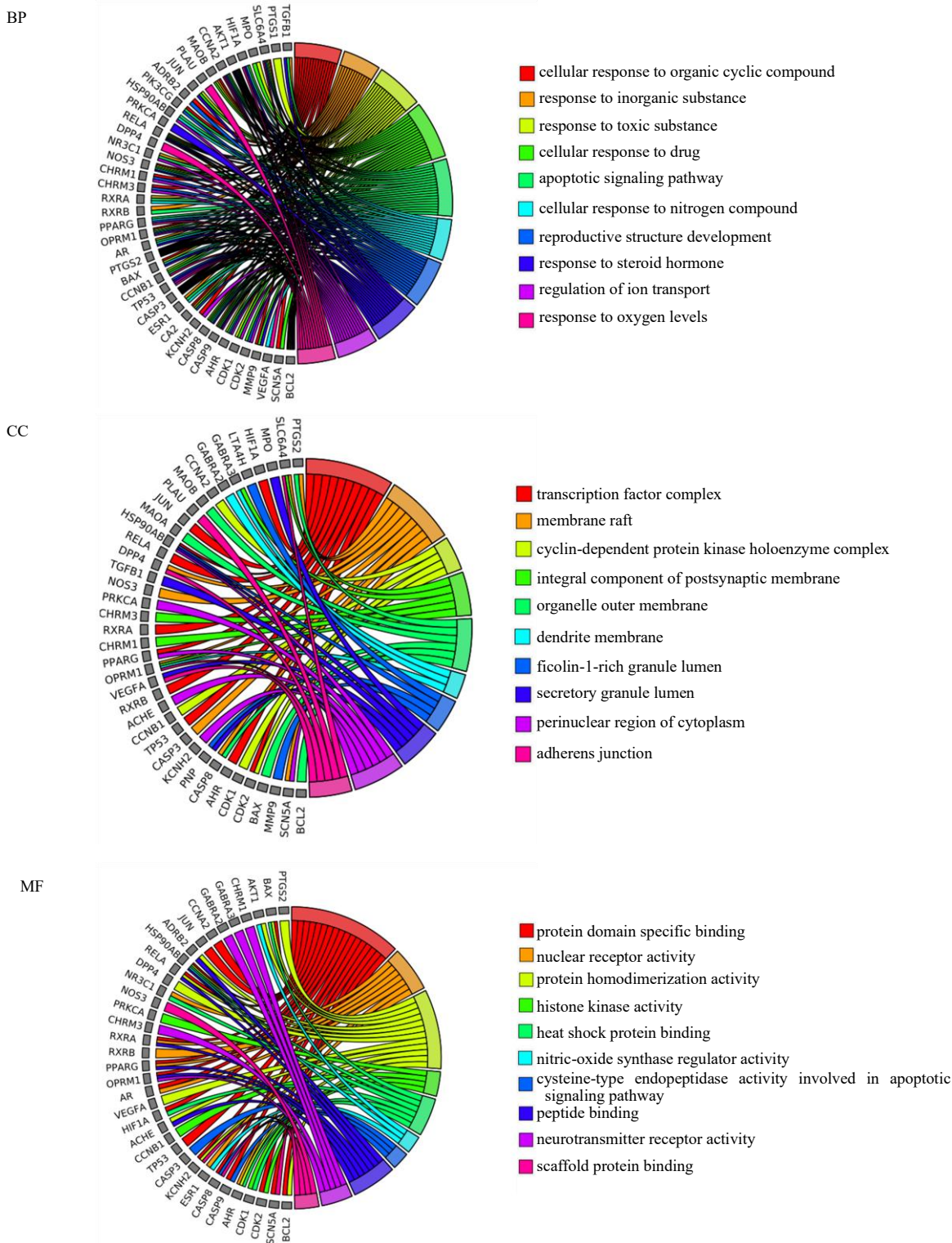


图 4 GO 功能分析

Fig. 4 GO function analysis

工具进行 KEGG 富集分析气泡图，使其结果可视化，见图 5。前 20 条 KEGG 通路及其信息见表 2。

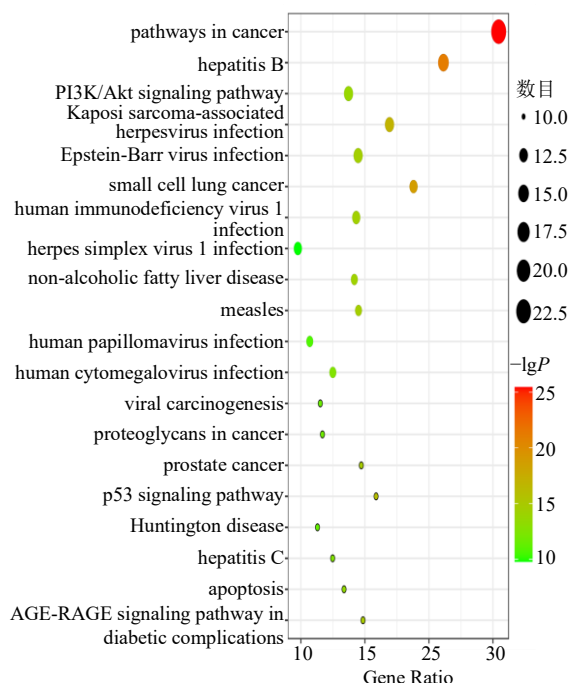


图 5 KEGG 通路分析

Fig. 5 KEGG pathway analysis

2.8 分子对接验证

为验证活性成分与关键靶点的结合能力，将 PPI 网络中 degree 值较高的前 4 个关键靶点 Akt1、VEGFA、TP53、CASP3，与靶点连接最多的活性成分 β -谷固醇、黄芩素、麻黄碱、伪麻黄碱和豆甾醇以及临床上治疗支气管炎常用的止咳化痰药盐酸氨溴索、氢溴酸右美沙芬进行分子对接验证，通过 SwissDock 在线数据库获得分子对接结果，见表 3。从分子对接结合能判断成分与相关潜在靶点的结合程度，结合能 <0 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$) 表明分子与配体能够有效结合；结合能 ≤ -7.0 kcal/mol 表明分子与靶点结合较紧密。从表 3 结果可以看出 β -谷固醇与 Akt1、VEGFA、TP53、CASP3，黄芩素与 Akt1、VEGFA、CASP3，豆甾醇与 Akt1、VEGFA、TP53、CASP3 等结合较紧密，见图 6。

3 讨论

本研究通过分析半贝丸“成分-靶点”网络，挖掘出半贝丸中关键化合物为 β -谷固醇、黄芩素、麻黄碱、伪麻黄碱、豆甾醇、卡维丁、松柏苷等。 β -谷甾醇对脂多糖诱导的急性肺损伤有较好的保护作用，可通过阻止肿瘤坏死因子、白细胞介素-6 的释放和下调核转录因子- κ B 信号转导通路的活化等

表 2 前 20 条 KEGG 通路关键靶点

Table 2 Key targets of the top 20 KEGG pathways

编号	通道	基因数	基因名称
hsa05200	pathways in cancer	23	Akt1、AR、Bax、Bcl-2、CASP3、CASP8、CASP9、CDK2、ESR1、HIF1A、HSP90AB1、JUN、MMP9、PPARG、PRKCA、PTGS2、RELA、RXRA、RXRB、TGFB1、TP53、VEGFA、CYCS
hsa05161	hepatitis B	15	Akt1、Bax、Bcl-2、CASP3、CASP8、CASP9、CCNA2、CDK2、JUN、MMP9、PRKCA、RELA、TGFB1、TP53、CYCS
ko04151	PI3K/Akt signaling pathway	13	Akt1、Bcl-2、CASP9、CDK2、CHRM1、HSP90AB1、NOS3、PIK3CG、PRKCA、RELA、RXRA、TP53、VEGFA
hsa05167	Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	13	Akt1、Bax、CASP3、CASP8、CASP9、HIF1A、JUN、PIK3CG、PTGS2、RELA、TP53、VEGFA、CYCS
hsa05169	Epstein-Barr virus infection	13	Akt1、Bax、Bcl-2、CASP3、CASP8、CASP9、CCNA2、CDK1、CDK2、JUN、RELA、TP53、CYCS
hsa05222	small cell lung cancer	12	Akt1、Bax、Bcl-2、CASP3、CASP9、CDK2、PTGS2、RELA、RXRA、RXRB、TP53、CYCS
hsa05170	human immunodeficiency virus 1 infection	12	Akt1、Bax、Bcl-2、CASP3、CASP8、CASP9、CCNB1、CDK1、JUN、PRKCA、RELA、CYCS
hsa05168	herpes simplex virus 1 infection	12	Akt1、Bax、Bcl-2、CASP3、CASP8、CASP9、CDK1、CDK2、JUN、RELA、TP53、CYCS
hsa05162	measles	11	Akt1、Bax、Bcl-2、CASP3、CASP8、CASP9、CDK2、JUN、RELA、TP53、CYCS
hsa04932	non-alcoholic fatty liver disease	11	Akt1、Bax、CASP3、CASP8、JUN、PTGS1、PTGS2、RELA、RXRA、TGFB1、CYCS

表 2 (续)

编号	通道	基因数	基因名称
hsa05163	human cytomegalovirus infection	11	<i>Akt1</i> , <i>Bax</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CASP9</i> , <i>PRKCA</i> , <i>PTGS2</i> , <i>RELA</i> , <i>TP53</i> , <i>VEGFA</i> , <i>CYCS</i>
hsa05165	human papillomavirus infection	11	<i>Akt1</i> , <i>Bax</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CCNA2</i> , <i>CDK2</i> , <i>PRKCA</i> , <i>PTGS2</i> , <i>RELA</i> , <i>TP53</i> , <i>VEGFA</i>
hsa05215	prostate cancer	10	<i>Akt1</i> , <i>AR</i> , <i>Bcl-2</i> , <i>CASP9</i> , <i>CDK2</i> , <i>HSP90AB1</i> , <i>MMP9</i> , <i>PLAU</i> , <i>RELA</i> , <i>TP53</i>
hsa04115	p53 signaling pathway	10	<i>Bax</i> , <i>Bcl-2</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CASP9</i> , <i>CCNB1</i> , <i>CDK1</i> , <i>CDK2</i> , <i>TP53</i> , <i>CYCS</i>
ko04210	apoptosis	10	<i>Akt1</i> , <i>Bax</i> , <i>Bcl-2</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CASP9</i> , <i>JUN</i> , <i>RELA</i> , <i>TP53</i> , <i>CYCS</i>
hsa05160	hepatitis C	10	<i>Akt1</i> , <i>Bax</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CASP9</i> , <i>CDK2</i> , <i>RELA</i> , <i>RXRA</i> , <i>TP53</i> , <i>CYCS</i>
hsa05203	viral carcinogenesis	10	<i>Bax</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CCNA2</i> , <i>CDK1</i> , <i>CDK2</i> , <i>JUN</i> , <i>PRKCA</i> , <i>RELA</i> , <i>TP53</i>
hsa05016	Huntington disease	10	<i>Bax</i> , <i>CASP3</i> , <i>CASP8</i> , <i>CASP9</i> , <i>PPARG</i> , <i>PTGS1</i> , <i>PTGS2</i> , <i>SLC6A4</i> , <i>TP53</i> , <i>CYCS</i>
ko04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	10	<i>Akt1</i> , <i>Bax</i> , <i>Bcl-2</i> , <i>CASP3</i> , <i>JUN</i> , <i>NOS3</i> , <i>PRKCA</i> , <i>RELA</i> , <i>TGFB1</i> , <i>VEGFA</i>
ko05205	proteoglycans in cancer	10	<i>Akt1</i> , <i>CASP3</i> , <i>ESR1</i> , <i>HIF1A</i> , <i>MMP9</i> , <i>PLAU</i> , <i>PRKCA</i> , <i>TGFB1</i> , <i>TP53</i> , <i>VEGFA</i>

表 3 分子对接结果

Table 3 Scores of molecular docking

化合物	结合能/(kcal·mol ⁻¹)			
	Akt1	VEGFA	TP53	CASP3
β-谷固醇	-8.60	-7.43	-7.46	-7.84
黄芩素	-7.69	-7.24	-6.61	-7.37
麻黄碱	-6.89	-6.60	-6.42	-6.11
伪麻黄碱	-6.51	-6.49	-6.31	-6.37
豆甾醇	-8.18	-7.54	-7.12	-8.77
盐酸氨溴索	-9.31	-8.25	-7.75	-9.02
氢溴酸右美沙芬	-6.34	-7.57	-7.46	-7.35

途径来发挥平喘的作用^[7-8]；黄芩素具有抗病毒、抗菌、抗炎等作用，能够明显抑制铜绿假单胞菌的丛集运动和颤搐运动，破坏铜绿假单胞菌已形成的生物被膜，有效降低慢性支气管炎、弥漫性泛细支气管炎等肺疾病患者的感染几率。对呼吸道合胞病毒具有直接灭活作用，通过调节谷氨酰胺代谢，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢，甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢，有效抑制婴幼儿毛细支气管炎、支气管肺炎的发生^[9-10]。黄芩素通过下调 α -平滑肌肌动蛋

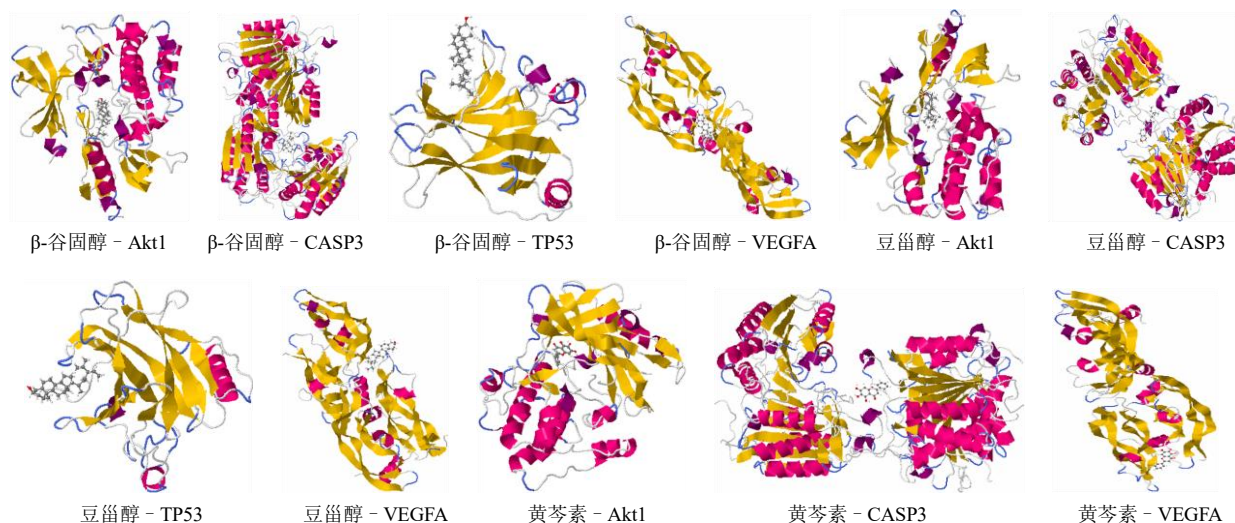


图 6 分子对接图

Fig. 6 Molecular docking diagram

白，抑制转化生长因子- β 体外诱导肺成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化过程^[11]。麻黄碱和伪麻黄碱可以直接作用于 α 和 β 受体，能够直接或间接地发挥拟肾上腺素作用，松弛支气管平滑肌，抑制支气管平滑肌细胞增殖，舒张支气管，达到治疗咳嗽和支气管炎的作用^[3, 12-13]。豆甾醇抗炎、抗氧化、抗肿瘤、

降低胆固醇疗效显著^[14]，可刺激网状内皮系统增生，加强巨噬细胞的能力，明显减少由脂多糖刺激增多的致炎因子环氧化酶-2 和诱生型一氧化氮合酶 mRNA 的表达，同时通过减少前列腺素 E2 和一氧化氮的释放发挥抗炎作用^[15-16]。豆甾醇可显著抑制 A7r5 细胞中血管紧张素 II 诱导的活性氧的增加，增

加血管紧张素II处理的 A7r5 细胞中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性,在 A7r5 细胞中的抗氧化作用^[16]。卡维丁具有较强的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除作用,其抗氧化活性显现浓度相关性,具有一定的抗炎活性^[17],现有文献报道对卡文定碱和松柏苷研究相对较少,但本研究显示这 2 种成分能与较多靶点像连接,表明卡文定碱和松柏苷具有潜在治疗支气管炎活性,需要进一步深入研究。在半贝丸治疗支气管炎的过程中,以上化合物发挥了重要作用。

PPI 网络结果显示,半贝丸治疗支气管炎的关键靶点主要有 Akt1、VEGFA、TP53、CASP3、JUN、MMP9、PTGS2、ESR1、CYCS 等。Akt1 参与代谢、增殖、细胞存活、生长等多种生物学过程,是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 信号通路中的关键节点^[18],对调节炎症反应具有重要作用^[19],直接影响肺部及气道炎症^[20]。VEGFA 是一种高度保守的二聚体糖蛋白,通过影响毛细血管后静脉和小静脉增加血管通透性,主要由肺血管内皮细胞和上皮细胞合成分泌,可促进血管内皮增生,具有抗内皮细胞凋亡作用,是血管生成的重要调节因子,受炎症因子、缺氧诱导因子-1 α 等调节,通过增加超氧化物歧化酶的表达产生抗氧化保护作用,对肺脏的生长发育、维持生理功能、修复损伤具有重要意义,与慢性炎症性气道疾病相关^[21]。TP53 可调控细胞凋亡、细胞周期阻滞,其协同 p300 基因抑制核因子 κ B、Toll 样受体 4 和泛素连接酶 TRAF6 的活化,负调控肿瘤坏死因子 α 等炎症因子的分泌^[22]。CASP3 是细胞凋亡的关键效应因子,对机体受损伤的细胞予以清除从而维持自身稳定^[23-26],CASP3 的表达与肺水肿以及肺组织中细胞凋亡呈正相关,与肺功能呈负相关,药物对肺组织中 CASP3 干预后,CASP3 表达减少,可有效减轻细胞凋亡,进而改善肺功能^[27]。原癌基因 C-jun 产物 Jun 与原癌基因 c-fos 产物 Fos 结合形成异二聚体 AP-1 或多聚体型反式因子,组成 AP-1 转录因子,在转录水平调节下游靶基因的表达,直接调控炎性蛋白的合成,调控平滑肌细胞的活化和增殖^[28-29]。MMP9 是高度保守的钙锌离子依赖性内切酶超家族之一,能调节其他蛋白酶及细胞因子活性,通过释放血管内皮生长因子参与血管生成,分解呼吸道和肺内结构复合物,参与呼吸道和肺的重建^[30]。MMP9 水平与气道炎症炎性细胞的数量呈正相关,

MMP9 增加可导致气道损伤,促进血管生成、成纤维细胞增生和气道重塑^[31]。综上所述,半贝丸可能通过调节上述关键靶点的表达,从而发挥治疗支气管炎的作用。

通过 Metascape 数据库进行 KEGG 信号通路富集分析发现,半贝丸治疗支气管炎的核心靶点涉及癌症信号通路、小细胞肺癌等通路。其中 PI3K/Akt 信号通路在炎症、肿瘤、代谢等相关疾病的发病机制研究具有重要意义^[32];激活 PI3K/Akt 信号通路可促进呼吸道上皮细胞炎症反应^[33];细胞凋亡是细胞基因控制的细胞自主有序死亡^[18],气道上皮细胞过度凋亡,其完整性被破坏,导致气道局部微环境稳态被破坏^[33];晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (AGE-RAGE) 信号通路可激活核因子- κ B 信号通路,引起多种黏附因子、趋化因子、生长因子、炎症因子的释放,产生更多炎症介质,造成气道高反应和组织损伤等^[34-35]。

本研究采用网络药理学探讨了半贝丸治疗支气管炎的作用机制,分析出半贝丸的主要成分可能是 β -谷固醇、黄芩素、麻黄碱、伪麻黄碱、豆甾醇、卡维丁、松柏苷等,作用靶点可能是 Akt1、VEGFA、TP53、CASP3、JUN、MMP9,其作用通路可能是 PI3K/Akt 信号通路、细胞凋亡、AGE-RAGE 信号通路。后续研究可以在此基础上对筛选出的关键靶点和通路加以验证,为半贝丸的临床治疗提供指导。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 牛明,张斯琴,张博,等.《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药,2021,52(14): 4119-4129.
- [2] 姜金玲,候骄洋,姚国栋.基于网络药理学的黄瑞香抗胃癌作用机制探讨及实验验证 [J]. 药物评价研究,2023,46(1): 24-36.
- [3] 李忠红,聂晶,倪坤仪,等.不同产地半夏的化学成分分析及比较 [J]. 分析科学学报,2005,21(4): 393-395.
- [4] 杨冰月,李敏,敬勇,等.半夏及其炮制品化学成分及功效的差异研究 [J]. 中草药,2018,49(18): 4349-4355.
- [5] 金鑫,李春楠,张辉.贝母属药材中生物碱类化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 中药材,2022,45(9): 2273-2279.
- [6] Wang D D, Wang S, Chen X, et al. Antitussive, expectorant and anti-inflammatory activities of four alkaloids isolated from bulb of *Fritillaria wabuensis* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(1): 189-193.
- [7] 姚凤,周清燕,熊瑛,等. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用研究 [J]. 中国农学通报,

- 2015, 31(2): 55-61.
- [8] 董丽霞, 蒋小岗, 李梦姣, 等. 黄芩素对 TGF- β 1 体外诱导肺成纤维细胞向肌成纤维细胞转化的影响 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(3): 406-412.
- [9] 董必英, 孔晋亮, 陈一强, 等. 黄芩素抑制铜绿假单胞菌运动能力的体外研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(15): 3361-3363.
- [10] 孔晋亮, 陈一强, 闫萍, 等. 黄芩水煎液对铜绿假单胞菌生物被膜清除作用的体外研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006(5): 347-348.
- [11] 史佩玉, 林樑, 陈国铭, 等. 基于网络药理学的葶苈子潜在作用机制研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(20): 2823-2828.
- [12] 许继德, 谢强敏, 陈季强, 等. 麻黄碱与总皂苷对豚鼠气管平滑肌松弛的协同作用 [J]. 中国药理学通报, 2002(4): 394-397.
- [13] 景红娟. 麻黄碱直接激活控制心节律的心脏 IKs 电流机理的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [14] 张勇, 王志颐, 江满杰, 等. 蒲地蓝消炎口服液治疗慢性支气管炎急性发作临床研究 [J]. 中国药业, 2015, 24(3): 16-18.
- [15] 周志远, 卢群, 刘洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展 [J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17.
- [16] 汪帅, 孙宇, 李春梅, 等. 豆甾醇的研究进展概述 [J]. 中国药业, 2019, 28(23): 96-98.
- [17] 何志超, 王冬梅, 李国成, 等. 岩黄连生物碱类成分及其抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(11): 1526-1531.
- [18] 蔡申燕, 石佳勇, 骆天炯. 基于网络药理学探究杏仁-桔梗药对治疗急性支气管炎的作用机制研究 [J]. 海南医学院学报, 2021, 27(4): 294-301.
- [19] Zhang Y, Jiang Y L, Lu D J. Diosmetin suppresses neuronal apoptosis and inflammation by modulating the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway in a rat model of pneumococcal meningitis [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 2238-2245.
- [20] Jiang H H, Abel P W, Toews M L, et al. Phosphoinositide 3-kinase gamma regulates airway smooth muscle contraction by modulating calcium oscillations [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 334(3): 703-709.
- [21] 牛欢. 海南黎、汉族慢性阻塞性肺疾病 VEGFA 基因多态性及其蛋白水平的对比研究 [D]. 衡阳: 南华大学, 2017.
- [22] 王媛, 白贵斌, 王娟, 等. p53 信号通路在 MTB 感染肺泡 II 型上皮细胞系 A549 中的免疫调控作用 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2019, 47(8): 8-16.
- [23] 张军城, 张涛, 李耀辉, 等. 解表清里复方干预急性支气管炎的网络药理学机制 [J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(9): 1774-1780.
- [24] 侯宇, 廖芬芳, 刘漫宇, 等. c-myc 抑制剂 10058-F4 对 Ph+ALL 细胞凋亡的影响及相关机制研究 [J]. 广东药科大学学报, 2019, 35(2): 285-288.
- [25] 许雅清, 李海龙, 邱家权, 等. 痛泻二草方对肝郁脾虚型溃疡性结肠炎大鼠相关基因的影响 [J]. 中医临床研究, 2016, 8(8): 3-7.
- [26] 张静晓, 刘晓洁, 杨春, 等. 几种天然产物与 CASP3 靶点的相互作用机制探索 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2017, 19(11): 1824-1828.
- [27] 张永星. shRNA 介导的 caspase-3 基因沉默对移植肺缺血再灌注损伤的保护作用的实验研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2010.
- [28] 何兰芳, 李元广, 丘韶校. C-jun 在慢性支气管炎大鼠肺中的表达及与气道重塑间的关系初探 [J]. 中国实用医药, 2012, 7(16): 258-259.
- [29] 严郑元. 平喘宁调节寒哮大鼠肺组织 EGF、RAF、ERK2、P-ERK2、MEK2、C-JUN 干预气道重塑的研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2016.
- [30] 袁吉丽. MMP-9 及 TIMP-1 在儿童闭塞性细支气管炎的表达水平及临床意义 [D]. 广州: 广州医科大学, 2015.
- [31] 王萍, 秦晓群. 基质金属蛋白酶-9 与支气管哮喘 [J]. 医学临床研究, 2007(3): 507-509.
- [32] Cantley L C. The phosphoinositide 3-kinase pathway [J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1655-1657.
- [33] 尹芳, 胡月圆, 易娟, 等. 李斯特菌溶血素通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进呼吸道上皮细胞炎症反应及 MUC5AC 表达 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(3): 282-286.
- [34] 周盈, 曹磊, 平芬. 慢性阻塞性肺疾病相关性炎症细胞因子的研究进展 [J]. 临床荟萃, 2020, 35(3): 273-276.
- [35] 高亚, 刘明, 杨珂璐, 等. 热毒宁注射液治疗新冠肺炎的有效成分和机制初探 [J]. 中国医药导刊, 2020, 22(3): 145-152.

[责任编辑 高源]