

基于网络药理学探讨吉贝咳喘胶囊止咳、平喘、祛痰的作用机制

余 漂¹, 王祥培², 徐 锋¹, 靳风云¹, 吴红梅^{1*}

¹贵州中医药大学, 贵州 贵阳

²贵州民族大学, 贵州 贵阳

收稿日期: 2021年9月29日; 录用日期: 2022年1月3日; 发布日期: 2022年1月10日

摘 要

目的: 探讨吉贝咳喘胶囊止咳、平喘、祛痰潜在活性成分和可能的作用机制。方法: 通过TCMSP、Swiss Target Prediction、Uniprot等数据库并结合文献挖掘吉贝咳喘胶囊的活性成分和作用靶点, 通过OMIM、Genecards生物数据库筛选出咳嗽、痰、哮喘的相关靶点, 取两者交集, 将交集靶点导入STRING数据库的PPI网络, 筛选核心靶点, 将其导入David数据库进行基因本体(GO)功能、京都基因和基因百科全书(KEGG)通路富集分析。结果: 筛选出吉贝咳喘胶囊168个活性成分和797个潜在靶点, 9894个疾病相关靶点, 药物与疾病共有629个交集靶点。吉贝咳喘胶囊可能通过调节HIF1A、IL-6、MMP9、AKT1、MAPK3等靶点, 干预PI3K-Akt通路、MAPK通路、TNF通路、HIF-1通路、癌症通路等相关信号通路, 从而达到止咳、平喘、祛痰的作用。结论: 该研究通过网络药理学方式预测了吉贝咳喘胶囊止咳、平喘、祛痰的主要活性成分、靶点和相关通路, 可为进一步研究提供参考。

关键词

吉贝咳喘胶囊, 止咳, 平喘, 祛痰, 网络药理学, 作用机制

Study on the Mechanism of Jibei Kechuan Capsule's Antitussive, Antiasthmatic and Expectorant Effects Based on Network Pharmacology

Piao Yu¹, Xiangpei Wang², Feng Xu¹, Fengyun Jin¹, Hongmei Wu^{1*}

¹Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²Guizhou University for Nationalities, Guiyang Guizhou

*通讯作者。

Abstract

Objective: To study the potential active ingredients of Jibei Kechuan Capsule for antitussive, anti-asthmatic and expectorant and its possible mechanism of action. **Methods:** Combining literature with TCMSP, Swiss Target Prediction, Uniprot and other databases obtained the active ingredients and targets of Jibei Kechuan Capsules. The OMIM and Genecards biological databases screened out targets related to cough, asthma, and sputum, and the intersection of the two was selected. Then importing the intersection targets into the STRING database obtained PPI network. Screening the core targets and putting them into the David database conducted enrichment analysis. **Results:** 168 active ingredients and 797 potential targets of the preparation were screened out, 9894 targets related to cough, asthma, and sputum. There are a total of 629 intersection targets between the two. Jibei Kechuan Capsules may interfere with PI3K-Akt pathway, MAPK pathway, TNF pathway, HIF-1 pathway, cancer pathway and other related signal pathways by regulating HIF1A, IL-6, MMP9, AKT1, MAPK3 and other targets, so as to achieve suppression. It had the effect of relieving cough, relieving asthma, and expectorating. **Conclusion:** This study predicts the main active ingredients, targets and related pathways of Jibei Kechuan Capsule for antitussive, antiasthmatic and expectorant through network pharmacology, which can provide reference for further research.

Keywords

Jibei Kechuan Capsule, Antitussive, Antiasthmatic, Expectorant, Network Pharmacology, Mechanism of Action

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种常见、可以预防和治疗的慢性呼吸系统疾病,以持续性的气流受限为主要特征,与吸入烟草烟雾等有害气体和肺泡异常相关[1]。最常见的症状包括呼吸困难、咳嗽和(或)咳痰,由于 COPD 发病率高、病程迁延、病情反复、治疗费用高昂,严重影响患者生活质量,增加社会和家庭负担[2],如今已成为广泛关注的疾病。目前临床主要采用支气管扩张剂(LABA)、皮质类固醇(ICS)、长效胆碱能抗剂(LAMA)等药物的联合治疗,由于价格昂贵、难以有效缓解病情、容易复发,且存在多种不良反应。而中医药在治疗 COPD 时具有症状缓解能力强、复发率低、不良反应少等优势。

中医学认为, COPD 属于“咳嗽”“喘证”“肺胀”范畴,其病位在肺,病机为痰热阻肺,故应以清热化痰、止咳平喘为治则[3]。中医药治疗 COPD 主要是化痰止咳平喘药、清热药等,如玉屏风散、健脾化痰汤等经典复方制剂[4] [5],中药多成分多靶点的作用方式和其毒性低灵活性高的用药方式在治疗 COPD 上表现出良好前景。吉贝咳喘胶囊由麻黄、黄芩、毛大丁草、浙贝母等 11 味药材组成,具有清热宣肺、化痰散结、平喘止咳之功效。研究表明,临床应用于 COPD 痰热郁肺证,复发率低,不良反应少,能有效控制 COPD 患者的症状和体征,提高临床疗效[6]。治疗呼吸系统慢性病多为外邪引发宿痰,本制剂以外邪引发宿痰化热为病证基础,以清热化痰、止咳平喘祛邪来治疗,既重视病证根本病因宿痰,又

重视急性发作的诱发因素。现代研究表明吉贝咳喘胶囊具有止咳、平喘、祛痰等作用[7]。然而，吉贝咳喘胶囊止咳、平喘、祛痰的作用机制尚不清楚。鉴于此，本研究基于网络药理学探讨吉贝咳喘胶囊止咳、平喘、祛痰的作用机制，以期为进一步研究提供参考。

2. 方法

2.1. 吉贝咳喘胶囊活性成分及靶点的获取

通过中药系统药理学数据库和分析平台 TCMSP (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)结合 NCBI 数据库 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)、CNKI 数据库 (<https://www.cnki.net/>)等数据库，检索并筛选 11 味中药活性成分及靶点信息，将筛选出吉贝咳喘胶囊活性成分对应的靶点，通过 Uniprot (<http://beta.uniprot.org/>)数据库，设定物种为“Homo sapiens”对靶点进行标准化处理，将其转换成与之相对应的基因名称，并使用 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据库对靶点信息进行补充，删减重复后并归一整合，最终获得吉贝咳喘胶囊的活性成分及其靶点数据集。

2.2. 疾病的靶点获取

利用 Genecards 数据库(<http://www.genecards.org/>)和 OMIM 数据库(<https://omim.org/>)以“cough”、“phlegm”、“asthma”为关键词检索疾病相关靶点，删除重复靶点并归一整合获得咳嗽、痰和哮喘疾病靶点集。

2.3. “中药 - 成分 - 靶点”网络构建

将筛选后活性成分的作用靶点与咳嗽、痰和哮喘相关疾病靶点进行映射，筛选出共同靶点，并绘制韦恩图。将中药活性成分与其靶点数据集导入 cytoscape 3.8.2 软件，利用 cytoscape 3.8.2 软件构建“中药 - 成分 - 靶点”网络。

2.4. 构建蛋白相互作用(PPI)网络

将“2.3”项下筛选出的药物与疾病的交集靶点导入 STRING 数据库(<https://www.string-db.org/>)，限定物种“Homo sapiens”并以置信度 ≥ 0.7 ，得到蛋白 - 蛋白相互作用(PPI)网络。将 STRING 数据库中的.tsv 文件导入 cytoscape 3.8.2 进行拓扑分析，分析网络连接度(degree)，degree 值越高，表明该节点在网络中越重要，选择 degree 大于其中位数值(median) 2 倍以上的节点作为关键候选靶点。提取候选节点网络关系，分析网络节点的 3 个拓扑特征值“度中心性(degree centrality, DC)”、“介度中心性(betweenness centrality, BC)”和“接近中心性(closeness centrality, CC)”其中拓扑结构特征值越大，网络节点越重要，选择 3 个特征值均大于其相应中位数的节点作为关键靶点。

2.5. GO 富集分析和 KEGG 信号通路分析

将“2.4”项下筛选出的关键靶点，导入 DAVID 数据库(<https://david.abcc.ncifcrf.gov/>)对其进行 GO 富集分析和 KEGG 信号通路分析，以 $P < 0.05$ 进行筛选，基于此得到吉贝咳喘胶囊治疗咳嗽、痰和哮喘的生物学过程和关键信号通路。

3. 结果

3.1. 吉贝咳喘胶囊潜在活性成分及靶点

通过 TCMSP 数据库限定($OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$)再结合文献检索筛选出麻黄、黄芩、浙贝母、炙僵蚕、炙桑白皮、炙葶苈子、吉祥草、毛大丁草、地龙、天竺黄、蛤壳的活性成分总共 168 个，其中

麻黄 21 个、黄芩 31 个、浙贝母 5 个、炙僵蚕 22 个、炙桑白皮 23 个、炙葶苈子 9 个、吉祥草 12 个、毛大丁草 22 个、地龙 11 个、天竺黄 8 个、蛤壳 4 个，将活性成分对应的靶点输入 Uniprot 数据库，并使用 Swiss Target Prediction 数据库对靶点信息进行补充，删除去重，共筛选出 797 个药物靶点。药物活性成分及靶点情况如表 1，复方中活性成分根据 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 值，11 味中药活性成分交集的基本信息见表 2。

Table 1. Basic information of “active ingredient-target” of Jibei Kechuan Capsules

表 1. 吉贝咳喘胶囊“活性成分-靶点”基本信息

中药名称	活性成分/个	预测靶点/个
黄芩	31	387
麻黄	21	436
毛大丁草	22	681
炙桑白皮	23	511
浙贝母	5	61
炙僵蚕	22	1092
炙葶苈子	9	292
地龙	11	402
天竺黄	8	118
蛤壳	4	94
吉祥草	12	424

Table 2. Intersection compound information table of Jibei Kechuan Capsules

表 2. 吉贝咳喘胶囊交集化合物信息表

MOLID	化合物	OB/%	DL	药物
MOL000358	β -谷甾醇	36.91	0.75	a, b, c, d, e, h, j
MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76	b, c
MOL000006	木犀草素	36.16	0.25	c, j
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28	c, d, e, i, j
MOL004328	柚皮素	59.29	0.21	c, j
MOL000422	山奈酚	41.88	0.24	c, d, e, i
MOL005043	campest-5-en-3beta-ol	37.58	0.71	c, d
MOL001004	pelargonidin	37.99	0.21	d, h

注：a.毛大丁草；b.黄芩；c.麻黄；d.炙桑白皮；e.炙葶苈子；f.地龙；g.天竺黄；h.浙贝母；i.炙僵蚕；j.吉祥草；k.蛤壳。

3.2. 疾病靶点

通过 Genecards 数据库和 OMIM 数据库相交集得到咳嗽、痰、哮喘疾病靶点共 9894 个，与吉贝咳喘胶囊相交靶点为 629 个(图 1)。

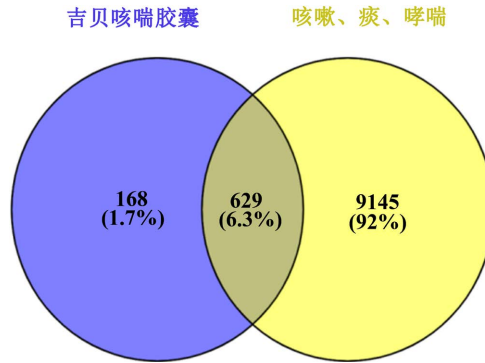


Figure 1. Venn diagram of the targets of Jibeikou capsules in the treatment of cough, phlegm, and asthma
图 1. 吉贝咳喘胶囊治疗咳嗽、痰、哮喘的靶点韦恩图

3.3. “中药 - 成分 - 靶点”网络的构建

将吉贝咳喘胶囊各味中药、活性成分、靶点导入 cytoscape 3.8.2 软件构建“中药 - 成分 - 靶点”网络(图 2), 结果显示: 该网络共有 1068 个节点、5163 条边, 表示活性成分和潜在靶点之间的作用关系。网络中同一活性成分可作用于不同靶点, 而不同活性成分也可共同作用于同一靶点, 体现了吉贝咳喘胶囊治疗咳嗽、哮喘、痰具有多成分多靶点的协同作用特点。

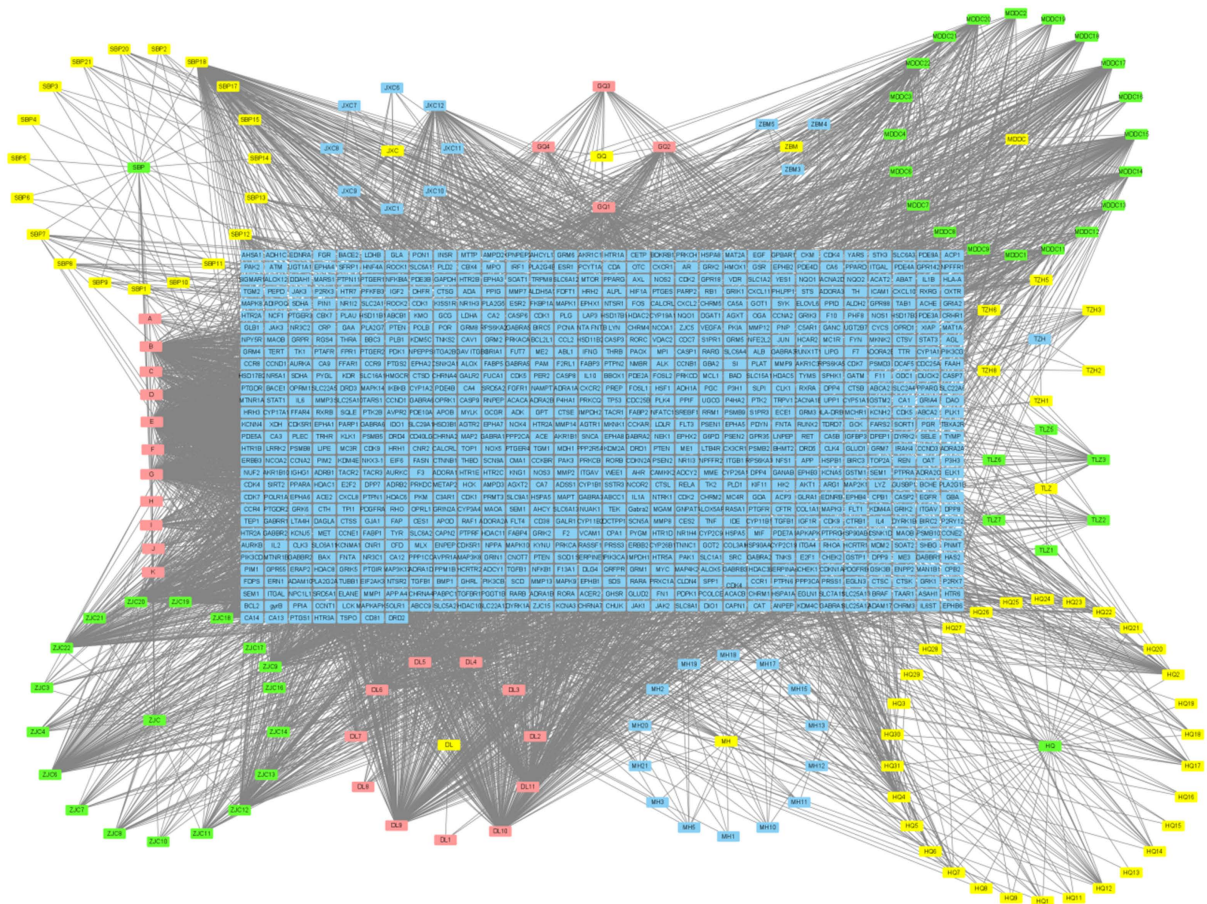


Figure 2. Network of “Traditional Chinese Medicine-Ingredients-Target”
图 2. 中药 - 成分 - 靶点网络图

3.4. 构建 PPI 网络

将上述吉贝咳喘胶囊与咳嗽、痰、哮喘的交集靶点分别利用 STRING 数据库进行分析, 得到蛋白互作网络(图 3), 分析得出节点数为 627、边数分别为 5365、平均节点度值分别为 17.1。将其结果导入 Cytoscape 3.8.2 软件进行拓扑分析, 并选取 degree > 2 倍中位数的候选关键靶点 202 个, 最后采用 3 个拓扑特征值筛选得到 41 个关键靶点(图 4)。

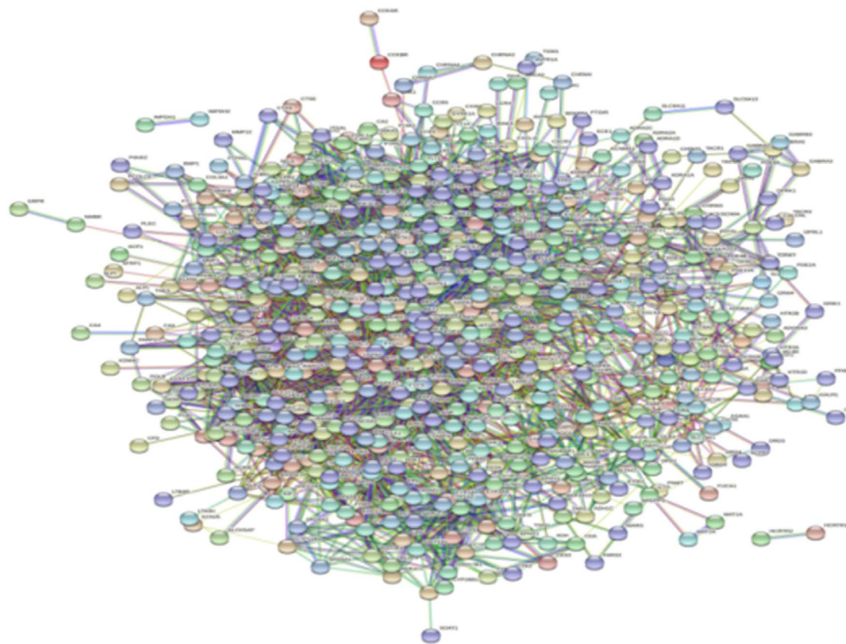


Figure 3. The key target PPI network of Jibeikou Capsule in the treatment of cough, sputum and asthma
图 3. 吉贝咳喘胶囊治疗咳嗽、痰、哮喘的关键靶点 PPI 网络

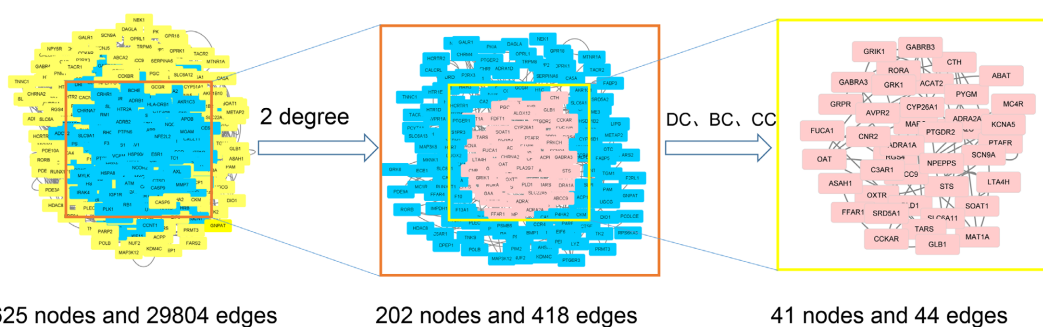


Figure 4. Target screening flowchart of key nodes of Jibeikou Capsules
图 4. 吉贝咳喘胶囊关键节点的目标筛选流程图

3.5. GO 富集分析和 KEGG 信号通路分析

为了更全面且深入研究吉贝咳喘胶囊止咳、平喘、祛痰的作用机制, 吉贝咳喘胶囊治疗咳嗽、痰、哮喘的靶点导入 DAVID 数据库进行 GO 生物过程分析和 KEGG 通路富集分析。结果显示, 吉贝咳喘胶囊治疗咳嗽、痰、哮喘的关键靶点涉及共 318 条 GO 生物过程($P < 0.05$), 包括生物学过程(BP) 250 条, 分子功能(MF) 42 条, 细胞组成(CC) 26 条, 绘制各类别前 10 的条目(见图 5), 主要集中在细胞外间隙、胞浆和线粒体外膜中, 并涉及了药物反应、酶结合、蛋白质结合、细胞因子活性、蛋白激酶活性等。KEGG 信号

通路富集分析得到 89 条可能与吉贝咳喘胶囊治疗咳嗽、痰、哮喘的作用机制有关的信号通路(前 20 条通路气泡图见图 6) ($P < 0.01$), 主要包括癌症通路、乙型肝炎通路、TNF 通路、PI3K-Akt 通路、MAPK 通路等。

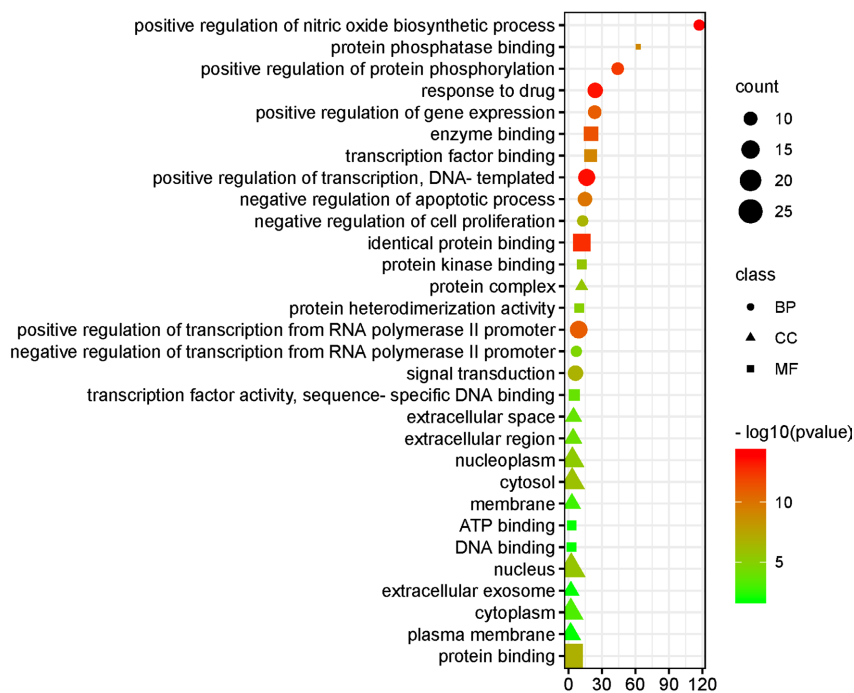


Figure 5. GO biological function enrichment analysis
图 5. GO 生物功能富集分析

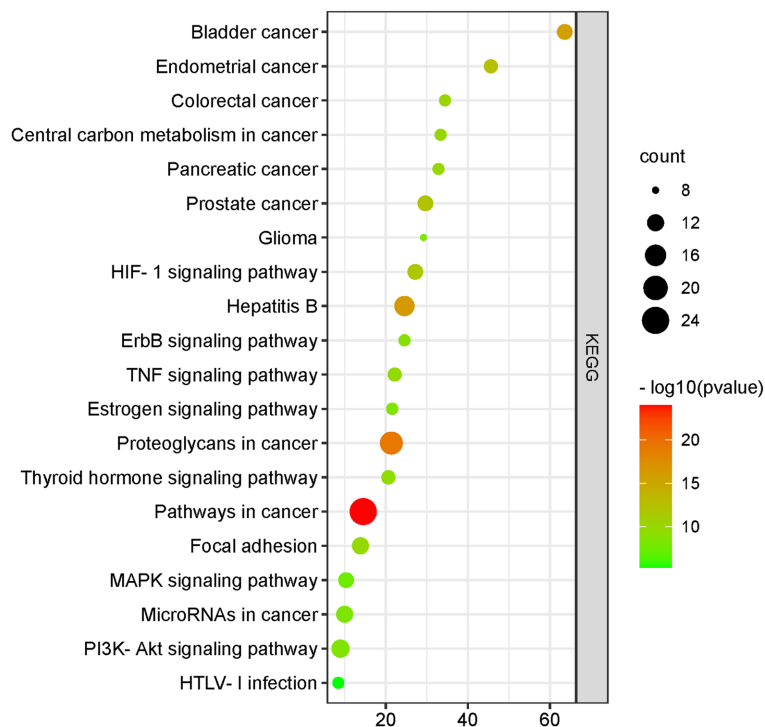


Figure 6. Enrichment analysis of KEGG signaling pathway
图 6. KEGG 信号通路富集分析

4. 讨论

吉贝咳喘胶囊由麻黄、毛大丁草、黄芩、浙贝母、地龙、炙桑白皮、炙葶苈子、炙僵蚕、吉祥草、蛤壳、天竺黄等 11 味药材组成, 上述之药皆能入肺经治肺病。麻黄, 辛、微苦, 取宣肺平喘之义; 毛大丁草, 入肺经以清热解毒、止咳化痰; 黄芩, 味苦性寒入肺经具有清热燥湿, 泻火解毒; 浙贝母苦, 寒, 入肺心经以清热化痰止咳, 解毒散结消痈; 蛤壳之苦、咸, 寒以清肺化痰兼以散结; 吉祥草, 能润肺止咳; 桑白皮甘、寒归肺经, 泻肺平喘; 葶苈子, 归肺经, 泻肺平喘; 天竺黄, 味甘, 性寒能入心经以清热豁痰、清心定惊; 僵蚕咸、辛, 平以化痰散结; 地龙咸, 寒入肺经以通络、平喘。诸药合理配伍, 具有清热宣肺, 化痰散结, 平喘止咳之功效[8]。

通过对吉贝咳喘胶囊中的有效成分进行分析, 部分化合物已经证实具有治疗咳嗽、痰、哮喘的作用, 尤其是一些与基因关联较多的活性成分木犀草素、 β -谷甾醇、柚皮素、槲皮素、豆甾醇等, 木犀草素能够有效地减轻哮喘幼鼠的氧化应激反应[9]。 β -谷甾醇可通过抑制铜绿假单胞菌依赖的蛋白激酶 C 的 α 亚型表达, 从而改善患者肺部炎症[10], 柚皮素具有止咳化痰平喘的作用[11]。槲皮素对气道炎症有抑制作用, 对哮喘反应具有缓解作用[12]。豆甾醇可调节哮喘豚鼠的气道炎症[13]。

通过对吉贝咳喘胶囊 PPI 网络和富集分析, 核心靶点为 HIF1A、IL-6、MMP9、JUN、TP53、AKT1、MAPK3 等, 主要通过干预 PI3K-Akt 通路、MAPK 通路、TNF 通路、HIF-1 通路、癌症通路等相关信号通路达到治疗 COPD 过程中咳嗽、痰、哮喘相关症状的作用。查阅文献可知, 体外研究发现高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)可调节 PI3K/Akt 通路, 诱导人气道平滑肌细胞(HASMC)的增殖和迁移参与哮喘气道重塑防治[14]; β -谷甾醇干预颗粒细胞后 P-AKT 和 P-PI3KCA 表达上调, β -谷甾醇组促进颗粒细胞增殖[15]; 咳嗽变异性哮喘患儿外周血 miR-146a 表达上调, 可能通过下调 Th1/Th2 比例, 促进 IL-6、TNF- α 分泌, 参与咳嗽变异性哮喘的发生[16]; 麻杏石甘汤可能通过降低 MMP-9 和 TIMP-1 的表达改善哮喘模型小鼠气道重塑状态[17]; MAPK 在人体细胞内存在多条通路, 并且广泛参与哮喘的发生与发展, p38MAPK 通路可促进炎症反应, 调控 Th1/Th2 细胞因子的比例, 诱导细胞间黏附分子表达[18]。研究表明 HIF-1 α 在治疗 COPD 中密切相关[19]; 真核起始因子 6 (eIF6)可以激活多个 AKT 相关的癌症信号通路以调节结肠癌(CRC)中的细胞增殖、侵袭、细胞周期和凋亡[20]。

5. 结论

综上所述, 吉贝咳喘胶囊镇咳、平喘、祛痰主要通过 PI3K-Akt 通路、乙型肝炎通路、MAPK 通路、TNF 通路、HIF-1 通路、癌症通路等通路途径, 以达到控制咳嗽、痰、哮喘的发生发展, 但本研究只是在分子机制上进行探讨预测, 具体药物作用机制仍需进一步实验进行验证。

基金项目

贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(项目合同编号: 黔科合中专[2004]44 号); 贵阳市科技局中药现代化专项(项目合同编号: [2007]筑科农合同字第 3-1 号)。

参考文献

- [1] Rabe, K.F., Hurd, S., Anzueto, A., *et al.* (2007) Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Gold Executive Summary. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **176**, 532-555. <https://doi.org/10.1164/rccm.200703-456SO>
- [2] 刘新平, 王展儒. 理肺化痰通脉方治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期临床研究[J]. 陕西中医, 2020, 41(4): 484-486.

- [3] Zhu, B.F., Wang, Y.F., Ming, J., *et al.* (2018) Disease Burden of COPD in China: A Systematic Review. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, **13**, 1353-1364. <https://doi.org/10.2147/COPD.S161555>
- [4] 程羽, 陈静, 张晓梅, 羊忠山, 袁嘉丽, 陈雨. 玉屏风散加味方干预慢性阻塞性肺疾病气道重塑的探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22): 108-112.
- [5] 陈康. 自拟益气健脾化痰汤治疗 COPD 稳定期疗效及对中医症状积分、肺功能的影响[J]. 北方药学, 2021, 18(2): 65-66.
- [6] 张军, 葛正行. 吉贝咳喘胶囊治疗 AECOPD 痰热郁肺证的临床疗效观察[C]//贵州省中西医结合学会呼吸专业委员会. 贵州省中西医结合学会呼吸专业委员会 2015 年年会论文汇编. 贵阳: 贵州省中西医结合学会, 2015: 3.
- [7] 靳风云, 葛正行, 韩云霞. 一种治疗哮喘病的中药制剂及其制备方法[P]. 中国, CN101869656A. 2010-10-27.
- [8] 国家药典委员会. 中国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 57-392.
- [9] 邹华, 王颖, 秦晓宇, 等. 木犀草素通过抗氧化应激和抑制 COX-2 信号通路抑制哮喘幼鼠气道炎症[J]. 解剖科学进展, 2019, 25(6): 634-636.
- [10] Lampronti, I., Dececchi, M.C., Rimessi, A., *et al.* (2017) β -Sitosterol Reduces the Expression of Chemotactic Cytokine Genes in Cystic Fibrosis Bronchial Epithelial Cells. *Frontiers in Pharmacology*, **8**, 236. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00236>
- [11] 陈欲云, 马清萍, 王涛, 等. 柚皮素止咳化痰平喘作用的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(19): 355-358.
- [12] 朱翔, 肖云斌, 易晓莲. 槲皮素对支气管哮喘小鼠气道炎症的作用及机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(13): 19-22.
- [13] Antwi, A.O., Obiri, D.D., Osafo, N., *et al.* (2017) Stigmasterol Modulates Allergic Airway Inflammation in Guinea Pig Model of Ovalbumin-Induced Asthma. *Mediators of Inflammation*, **2017**, Article ID: 2953930. <https://doi.org/10.1155/2017/2953930>
- [14] 柏芳芳, 陈子, 韩露, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对人气道平滑肌细胞增殖和迁移及 Akt 磷酸化的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2016, 36(7): 794-797.
- [15] 赵帅, 陈冬梅, 虎娜, 等. β -谷甾醇通过 PI3K/AKT 通路影响颗粒细胞增殖及凋亡[J]. 宁夏医科大学学报, 2021, 43(4): 339-344.
- [16] 陈巧俊, 叶梅珍, 钱铃, 等. 咳嗽变异性哮喘患儿外周血 miR-146 表达及与 Th1/Th2 平衡的关系[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(13): 2508-2511.
- [17] 徐凤, 张岩, 商华, 等. 麻杏石甘汤对哮喘模型小鼠气道重塑及肺组织 MMP-9 和 TIMP-1 表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(2): 353-359.
- [18] Li, L.-B., Leung, D.Y.M., and Goleva, E. (2015) Activated p38 MAPK in Peripheral Blood Monocytes of Steroid Resistant Asthmatics. *PLoS ONE*, **10**, e0141909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141909>
- [19] Zong, Y.H., Jiang, L., Zhang, M.X., *et al.* (2015) Limb Remote Ischemic Postconditioning Protects Cerebral Ischemia from Injury Associated with Expression of HIF-1 α in Rats. *BMC Neuroscience*, **16**, Article No. 97. <https://doi.org/10.1186/s12868-015-0235-6>
- [20] Lin, J., Yu, X., Xie, L., *et al.* (2019) eIF6 Promotes Colorectal Cancer Proliferation and Invasion by Regulating AKT-Related Signaling Pathways. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, **15**, 1556-1567. <https://doi.org/10.1166/jbn.2019.2792>