

基于网络药理学探究苓甘五味姜辛半夏汤治疗咳嗽的作用机制

王 猛¹, 王宽宇^{2*}

¹黑龙江中医药大学研究生院, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江中医药大学附属第一医院外科, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2023年6月2日; 录用日期: 2023年7月20日; 发布日期: 2023年7月31日

摘 要

目的: 采用网络药理学探究苓甘五味姜辛半夏汤治疗咳嗽的潜在作用机制。方法: 从TCMSP、Herb和SwissTargetPrediction收集药物成分和作用靶点。从GeneCards、OMIM、TTD和DRUGBANK获得咳嗽靶点。通过Venny2.1.0获得药物与疾病交集靶点, 即关键靶点, 并通过String11.0构建PPI。用Cytoscape 3.7.1筛选药物成分和核心靶点, 再用DAVID和CB-Dock完成富集分析和分子对接, 最后用微生信进行可视化。结果: 共筛出132个成分和176个靶点, 根据Degree值, Quercetin、Kaempferol等10个为主要成分和PTGS2、ESR1等10个为核心靶点; 富集分析提示药物可能通过影响多生物过程、细胞组分及分子功能, 及钙信号通路、cGMP-PKG信号通路等发挥作用; 分子对接显示主要成分与核心靶点蛋白有良好结合性能。结论: 苓甘五味姜辛半夏汤治疗咳嗽的潜在作用机制涉及免疫炎症反应和氧化应激两方面。

关键词

苓甘五味姜辛半夏汤, 咳嗽, 网络药理学, 分子对接

Exploring the Mechanism of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia Decoction in Cough Treatment: A Network Pharmacology and Molecular Docking Study

Meng Wang¹, Kuanyu Wang^{2*}

¹Graduate School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

²Department of Surgery, First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

*通讯作者。

文章引用: 王猛, 王宽宇. 基于网络药理学探究苓甘五味姜辛半夏汤治疗咳嗽的作用机制[J]. 中医学, 2023, 12(7): 1885-1899. DOI: 10.12677/tcm.2023.127279

Abstract

Objective: The potential mechanism of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia Decoction in the treatment of cough was explored by network pharmacology. **Methods:** Drug components and action targets were collected from TCMSP, Herb and SwissTargetPrediction. Cough targets were obtained from GeneCards, OMIM, TTD, and DRUGBANK. Drug-disease intersection targets, *i.e.*, key targets, were obtained via Venny2.1.0, and PPIs were constructed via String11.0. Cytochrome 3.7.1 was used to screen the drug components and core targets, followed by DAVID and CB-Dock for enrichment analysis and molecular docking, and finally, visualization was performed using microsatellite markers. **Results:** A total of 132 components and 176 targets were identified, with 10 such as Quercetin and Kaempferol as the main components and 10 such as PTGS2 and ESR1 as the core targets according to the Degree value. Enrichment analysis indicated that the drugs might play a role by affecting multi-biological processes, cellular components and molecular functions, as well as the calcium signaling pathway and cGMP-PKG signaling pathway. Molecular docking showed that the main components had good binding properties to the core target proteins. **Conclusion:** The potential mechanisms of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia Decoction in the treatment of cough involve immune inflammation and oxidative stress.

Keywords

Linggan Wuwei Jiangxin Banxia Decoction, Cough, Network Pharmacology, Molecular Docking

Copyright © 2023 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

咳嗽是临床常见症状之一, 在《素问·咳论》中有相关论述, 如“外内合邪, 因而客之, 则为肺咳”“肺咳之状, 咳而喘息有音”等, 现代研究表明, 咳嗽是一种反射性防御动作, 可以清除呼吸道内分泌物或异物。但其也有助于呼吸道感染的扩散, 剧烈咳嗽还可诱发咯血及自发性气胸, 为防止上述情况发生, 多使用镇咳药进行治疗。苓甘五味姜辛半夏汤为《金匮要略》中治疗痰饮咳嗽的方剂, 除申广生用其缓解哮喘伴发的咳嗽等表现有效率为 94.9% [1], 张汇泉将其用于缓解慢性支气管炎伴发的咳嗽, 总结出“咳为主者, 细辛重于干姜” [2]等研究外, 未见深入研究。基于此, 本研究采用网络药理学和分子对接技术, 对苓甘五味姜辛半夏汤中药物活性成分进行作用靶点和通路的预测, 通过构建化合物-靶点-通路网络探究其治疗咳嗽的潜在作用机制。

2. 材料与方法

2.1. 苓甘五味姜辛半夏汤活性成分的筛选及靶点预测

1) 进入 TCMSP [3]数据库, 分别以 6 味中药的中文名称为检索词, 并设置口服利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和药物类药性(drug-like properties, DL) ≥ 0.18 [4], 筛选苓甘五味姜辛半夏汤中较高活性的成分, 并根据已发表的文献进行补充。

2) 对于未检索到靶点的药物活性成分, 进入 Herb 数据库(<http://herb.ac.cn/>), 以未检索到的药物活性成分为检索词, 检索对应靶点。

3) 对于 Herb 数据库未检测到的药物活性成分, 以其 2D 结构式或 Canonical SMILES 式, 上传 SwissTargetPrediction [5] 数据库中进行预测。

2.2. 咳嗽相关靶点的获取及整合

1) 进入 GeneCards [6] 数据库, 以 “cough” 为关键词进行检索, 若靶点过多则设定 Score 大于中位数的目标靶点为咳嗽的靶点, 建立疾病靶点数据库。

2) 进入 OMIM 数据库(<http://www.omim.org>)、TTD 数据库(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd>)中挖掘关于咳嗽的疾病靶点, 进入 DRUGBANK 数据库(<https://www.drugbank.ca>)寻找治疗咳嗽的临床一线西药作用靶点予以补充[7]。

3) 整合 4 个疾病数据库的靶点得到咳嗽相关疾病靶点。

2.3. 交集靶点的获取及 PPI 网络的构建

1) 进入 Venny2.1.0 平台, 将药物靶点与疾病靶点上传, 获得交集靶点并绘制韦恩图。

2) 将交集靶点上传至 STRING11.0 平台(<https://string-db.org>)构建蛋白相互作用网络(protein-protein interaction, PPI) [8], 将生物种类设定为 “Homo sapiens”, 最小互相作用阈值设定为 “highest confidence” (>0.9), 其余设置均为默认, 得到 PPI 网络。

2.4. GO 及 KEGG 通路富集分析

进入 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov>), 上传关键作用靶点, 对其进行生物过程(biological process, BP)、细胞成分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)的基因本体论 GO (gene ontology, GO)功能和 KEGG_PATHWAY 的京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。

2.5. 苓甘五味姜辛半夏汤成分 - 咳嗽靶点 - 通路网络图的构建

运用 CytoScape3.7.1 构建苓甘五味姜辛半夏汤成分 - 咳嗽靶点 - 通路网络图, 利用 CytoScape3.7.1 内置工具分析有效成分及作用靶点的 Degree 值, 并根据 Degree 值筛选核心作用靶点及发挥药效的主要活性成分。

2.6. 分子对接验证

进入 RCSB PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>), 以 Scientific Name of Source Organism 为 “Homo sapiens”、Polymer Entity Type 为 “Protein” 和 Refinement Resolution (\AA) ≤ 3.0 为筛选条件, 下载核心作用靶点蛋白的 PDB 格式文件, 又进入 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取药物的核心活性成分的 sdf 格式文件。最后进入 CB-Dock 平台(<http://clab.labshare.cn>), 将受体与配体文件进行分子对接, 并根据 Vina score 值评价靶点与活性成分的结合强度。

3. 结果

3.1. 苓甘五味姜辛半夏汤活性成分及靶点的获取

从 TCMSP 数据库、Herb 数据库, SwissTargetPrediction 平台及文献中, 获得活性成分茯苓 14 个、

甘草 91 个、五味子 8 个、干姜 5 个、细辛 8 个、半夏 13 个, 见表 1。获得作用靶点茯苓 34 个、甘草 239 个、五味子 21 个、干姜 45 个、细辛 108 个、半夏 99 个, 整合后共获得靶点 279 个。

Table 1. Active components of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia decoction

表 1. 苓甘五味姜辛半夏汤活性成分

药名	标记	化合物名称	分子号
茯苓	FL1	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid	MOL000273
	FL2	Trametenolic acid	MOL000275
	FL3	7,9(11)-dehydropachymic acid	MOL000276
	FL4	Cerevisterol	MOL000279
	FL5	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	MOL000280
	FL6	Ergosta-7,22E-dien-3beta-ol	MOL000282
	FL7	Ergosterol peroxide	MOL000283
	FL8	(2R)-2-[(5R,10S,13R,14R,16R,17R)-16-hydroxy-3-keto-4,4,10,13,14-pentamethyl-1,2,5,6,12,15,16,17-octahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	MOL000285
	FL9	3beta-Hydroxy-24-methylene-8-lanostene-21-oic acid	MOL000287
	FL10	Pachymic acid	MOL000289
	FL11	Poricoic acid A	MOL000290
	FL12	Poricoic acid B	MOL000291
	FL13	Poricoic acid C	MOL000292
	FL14	Hederagenin	MOL000296
甘草	GC1	Inermine	MOL001484
	GC2	DFV	MOL001792
	GC3	Mairin	MOL000211
	GC4	Glycyrol	MOL002311
	GC5	Jaranol	MOL000239
	GC6	Medicarpin	MOL002565
	GC7	Isorhamnetin	MOL000354
	GC8	Sitosterol	MOL000359
	GC9	Lupiwighteone	MOL003656
	GC10	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	MOL003896
	GC11	Formononetin	MOL000392
	GC12	Calycosin	MOL000417
	GC13	Kaempferol	MOL000422
	GC14	Naringenin	MOL004328
	GC15	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4-one	MOL004805
	GC16	Euchrenone	MOL004806

Continued

GC17	Glyasperin B	MOL004808
GC18	Glyasperin F	MOL004810
GC19	Glyasperin C	MOL004811
GC20	Isotrifoliol	MOL004814
GC21	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	MOL004815
GC22	Kanzonols W	MOL004820
GC23	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	MOL004824
GC24	Semilicoisoflavone B	MOL004827
GC25	Glepidotin A	MOL004828
GC26	Glepidotin B	MOL004829
GC27	Phaseolinisoflavan	MOL004833
GC28	Glypallichalcone	MOL004835
GC29	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	MOL004838
GC30	Licochalcone B	MOL004841
GC31	Licochalcone G	MOL004848
GC32	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	MOL004849
GC33	Licoricone	MOL004855
GC34	Gancaonin A	MOL004856
GC35	Gancaonin B	MOL004857
GC36	Licorice glycoside E	MOL004860
GC37	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	MOL004863
GC38	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	MOL004864
GC39	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl)chromone	MOL004866
GC40	Glycyrrin	MOL004879
GC41	Licocoumarone	MOL004882
GC42	Licoisoflavone	MOL004883
GC43	Licoisoflavone B	MOL004884
GC44	Licoisoflavanone	MOL004885
GC45	Shinpterocarpin	MOL004891
GC46	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	MOL004898
GC47	Liquiritin	MOL004903
GC48	Licopyranocoumarin	MOL004904
GC49	3,22-Dihydroxy-11-oxo-delta(12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid	MOL004905
GC50	Glyzaglabrin	MOL004907
GC51	Glabridin	MOL004908
GC52	Glabranin	MOL004910

Continued

GC53	Glabrone	MOL004912
GC54	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	MOL004913
GC55	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	MOL004914
GC56	Eurycarpin A	MOL004915
GC57	Glycyroside	MOL004917
GC58	(-)-Medicocarpin	MOL004924
GC59	Sigmoidin-B	MOL004935
GC60	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	MOL004941
GC61	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	MOL004945
GC62	Isoglycyrol	MOL004948
GC63	Isolicoflavonol	MOL004949
GC64	HMO	MOL004957
GC65	1-Methoxyphaseollidin	MOL004959
GC66	Quercetin der.	MOL004961
GC67	3'-Hydroxy-4'-O-Methylglabridin	MOL004966
GC68	Licochalcone a	MOL000497
GC69	3'-Methoxyglabridin	MOL004974
GC70	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	MOL004978
GC71	Inflacoumarin A	MOL004980
GC72	Icos-5-enoic acid	MOL004985
GC73	Kanzonol F	MOL004988
GC74	6-prenylated eriodictyol	MOL004989
GC75	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin	MOL004990
GC76	7-Acetoxy-2-methylisoflavone	MOL004991
GC77	8-prenylated eriodictyol	MOL004993
GC78	Gadelaidic acid	MOL004996
GC79	Vestitol	MOL000500
GC80	Gancaonin G	MOL005000
GC81	Gancaonin H	MOL005001
GC82	Licoagrocarpin	MOL005003
GC83	Glyasperins M	MOL005007
GC84	Glycyrrhiza flavonol A	MOL005008
GC85	Licoagrisoflavone	MOL005012
GC86	18 α -hydroxyglycyrrhetic acid	MOL005013
GC87	Odoratin	MOL005016
GC88	Phaseol	MOL005017
GC89	Xambioona	MOL005018

Continued

	GC90	Dehydroglyasperins C	MOL005020
	GC91	Quercetin	MOL000098
五味子	WWZ1	Longikaurin A	MOL004624
	WWZ2	Deoxyharringtonine	MOL005317
	WWZ3	Angeloylgomisin O	MOL008956
	WWZ4	Schizandrer B	MOL008957
	WWZ5	Gomisin-A	MOL008968
	WWZ6	Gomisin G	MOL008974
	WWZ7	Gomisin R	MOL008978
	WWZ8	Wuweizisu C	MOL008992
干姜	GJ1	1-Monolinolein	MOL002464
	GJ2	[(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl] (1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	MOL002501
	GJ3	Sexangularetin	MOL002514
	GJ4	Beta-sitosterol	MOL000358
	GJ5	Sitosterol	MOL000359
细辛	XX1	4,9-dimethoxy-1-vinyl- β -carboline	MOL012140
	XX2	Caribine	MOL012141
	XX3	Cryptopin	MOL001460
	XX4	Sesamin	MOL001558
	XX5	[(1S)-3-[(E)-but-2-enyl]-2-methyl-4-oxo-1-cyclopent-2-enyl] (1R,3R)-3-[(E)-3-methoxy-2-methyl-3-oxoprop-1-enyl]-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	MOL002501
	XX6	(3S)-7-hydroxy-3-(2,3,4-trimethoxyphenyl)chroman-4-one	MOL002962
	XX7	Kaempferol	MOL000422
	XX8	ZINC05223929	MOL009849
半夏	BX1	24-Ethylcholest-4-en-3-one	MOL001755
	BX2	Cavidine	MOL002670
	BX3	Baicalein	MOL002714
	BX4	Baicalin	MOL002776
	BX5	Beta-sitosterol	MOL000358
	BX6	Stigmasterol	MOL000449
	BX7	Gondoic acid	MOL005030
	BX8	Coniferin	MOL000519
	BX9	10,13-eicosadienoic	MOL006936
	BX10	12,13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7,10-dienoic acid	MOL006937
	BX11	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone	MOL006957
	BX12	Cycloartenol	MOL003578
	BX13	Beta-D-Ribofuranoside, xanthine-9	MOL006967

3.2. 咳嗽相关靶点的获取

从 Genecards 数据库、OMIM 数据库、TTD 数据库和 DRUGBANK 数据库分别获得 2566 个, 249 个, 17 个和 108 个咳嗽相关疾病靶点, 整合后共得到靶点 2810 个。

3.3. 苓甘五味姜辛半夏汤成分 - 咳嗽靶点 PPI 网络的构建

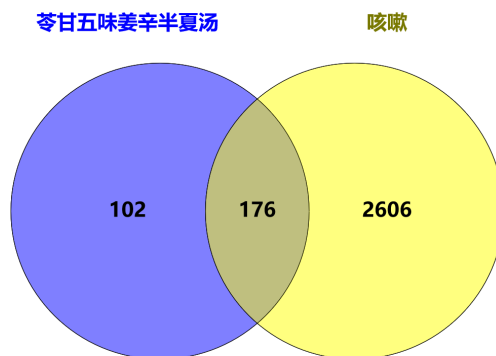


Figure 1. Linggan Wuwei Jiangxin Banxia decoction-Wayne diagram of cough target
图 1. 苓甘五味姜辛半夏汤 - 咳嗽靶点韦恩图

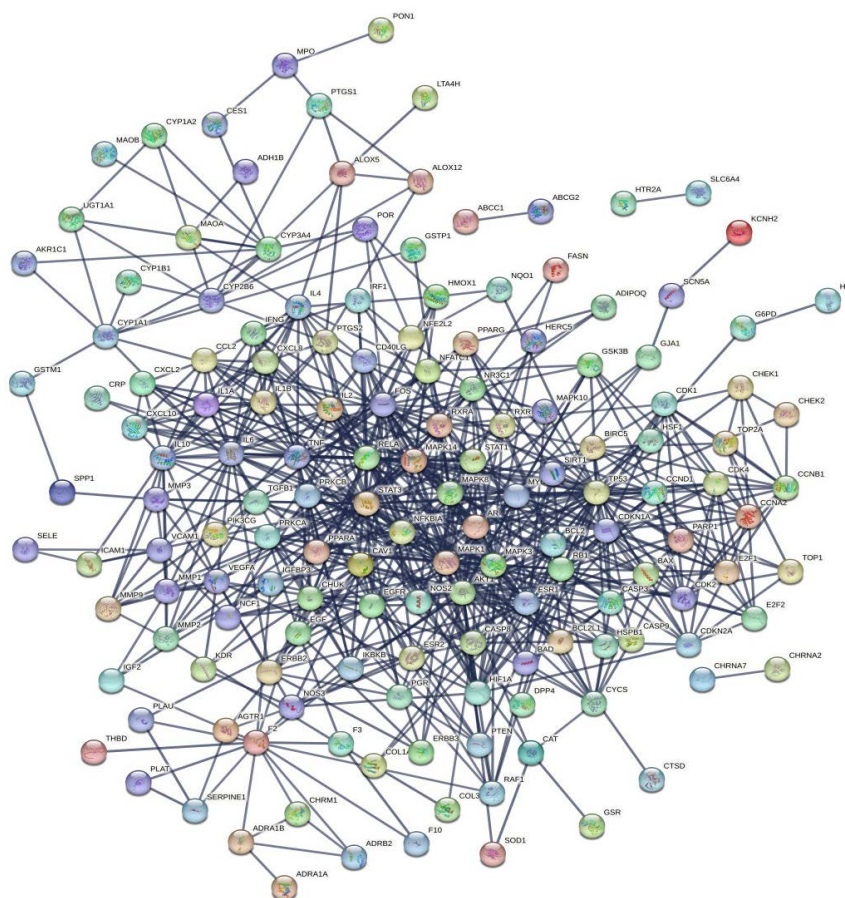


Figure 2. PPI network diagram of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia decoction-Cough target
图 2. 苓甘五味姜辛半夏汤 - 咳嗽靶点 PPI 网络图

通过 Venny2.1.0 平台, 将获得的药物活性成分靶点与咳嗽相关的疾病靶点取交集, 并绘制韦恩图, 得到苓甘五味姜辛半夏汤成分 - 咳嗽共同靶点 176 个, 并以此作为关键作用靶点, 见图 1。再将共同靶点提交至 STRING11.0 平台, 得到苓甘五味姜辛半夏汤成分 - 咳嗽靶点 PPI 网络, 见图 2。

3.4. 苓甘五味姜辛半夏汤关键作用靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

将获得的关键作用靶点上传至 DAVID 数据库进行 GO 富集分析, 得到苓甘五味姜辛半夏汤 176 个关键作用靶点的 GO 富集分析结果 205 条, 各选其前 20 条进行展示, 见图 3。涉及细胞内类固醇激素受体信号通路、信号转导和腺苷酸环化酶抑制 G 蛋白偶联乙酰胆碱受体信号通路等生物过程; 涉及质膜、突触前膜的组成成分和小凹等细胞成分; 涉及酶结合、RNA 聚合酶 II 转录因子活性, 配体激活的序列特异性 DNA 结合和蛋白结合等分子功能。

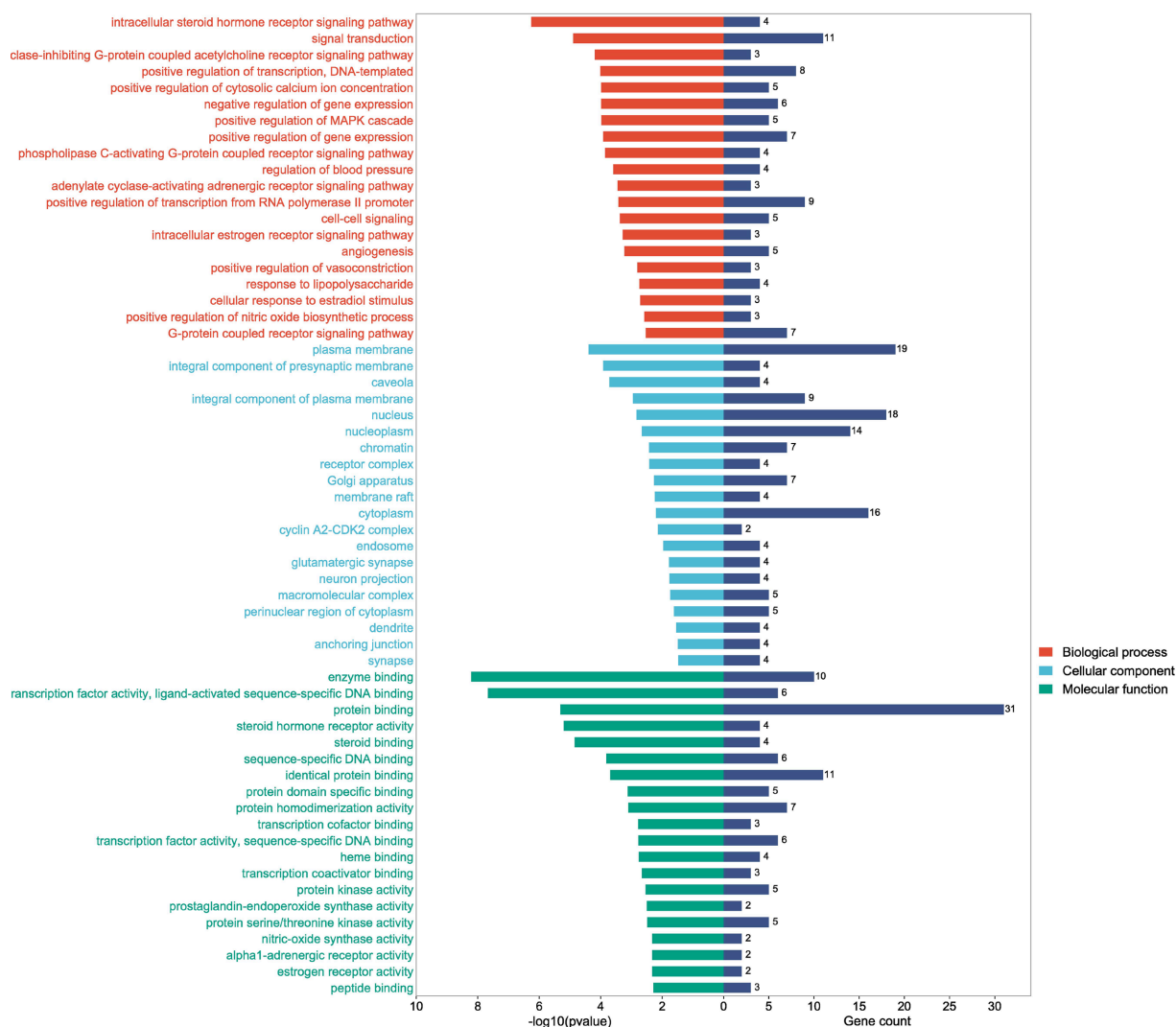


Figure 3. GO analysis of the main components of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia decoction

图 3. 苓甘五味姜辛半夏汤主要成分靶点的 GO 分析

得到 KEGG 富集分析结果 37 条, 选其前 10 条进行展示, 见图 6。其中涉及钙信号通路、cGMP-PKG 信号通路、VEGF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、雌激素信号通路等。见图 4。

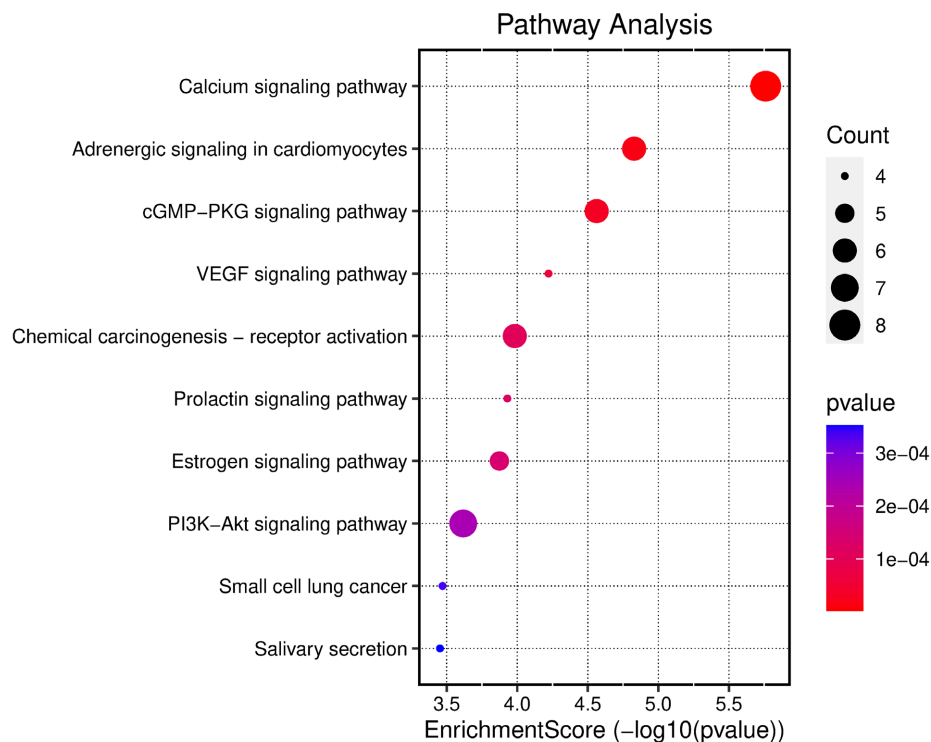


Figure 4. KEGG analysis of main component targets of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia decoction
图 4. 苓甘五味姜辛半夏汤主要成分靶点的 KEGG 分析

3.5. 苓甘五味姜辛半夏汤活性成分 - 咳嗽靶点 - 通路网络图的构建

运用 CytoScape3.7.1 构建苓甘五味姜辛半夏汤活性成分 - 咳嗽靶点 - 通路网络, 见图 5。通过软件内置的 Network Analyzer 分析其网络拓扑学参数。图中节点颜色根据 Degree 值进行设定, Degree 值越大, 节点颜色越深。该网络图中共有 308 个节点(包括 176 个靶点和 132 个活性成分)和 1607 条边, 由于活性成分及作用靶点数量较多, 故将 Degree 值按降序进行排列, 取排名前 10 的活性成分和作用靶点作为主要活性成分和核心作用靶点, 并进行展示, 见表 2。

Table 2. Main active components and core targets of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia Decoction
表 2. 苓甘五味姜辛半夏汤主要活性成分及核心作用靶点

主要活性成分	核心作用靶点
Quercetin	PTGS2
Kaempferol	ESR1
7-Methoxy-2-methyl isoflavone	AR
Beta-sitosterol	PPARG
Medicarpin	NOS2
Glyasperin B	F10
Formononetin	CDK2
Shinpterocarpin	CCNA2
Licochalcone A	ESR2
Vestitol	GSK3B

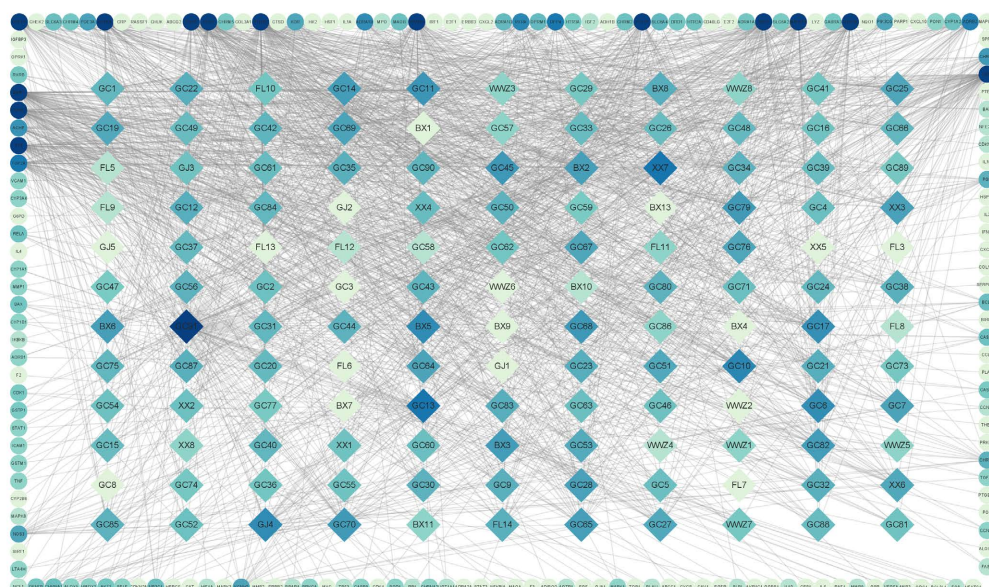


Figure 5. Components of Linggan Wuwei Jiangxin Banxia decoction-Cough target-Pathway network diagram

图 5. 苓甘五味姜辛半夏汤成分 - 咳嗽靶点 - 通路网络图

3.6. 分子对接验证结果

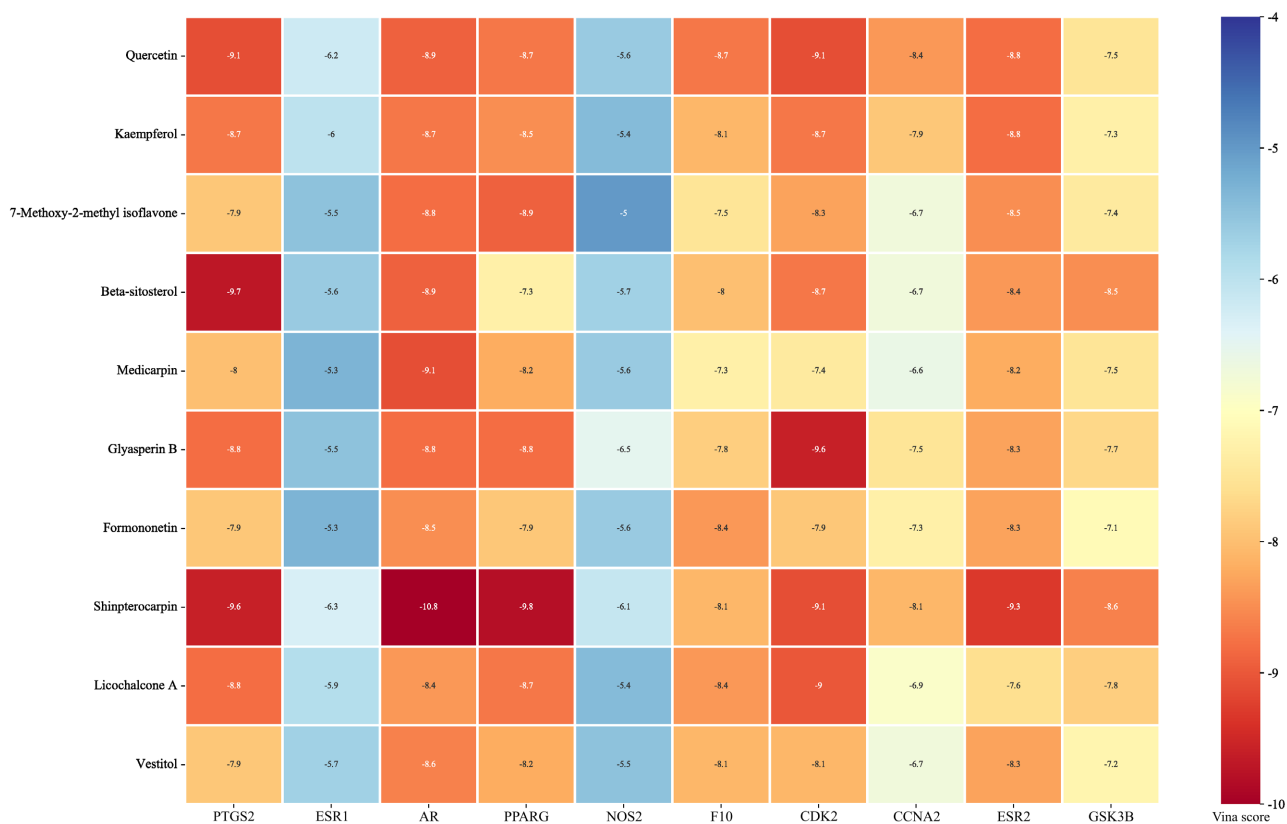


Figure 6. Thermogram of docking between main active components and core target molecules

图 6. 主要活性成分与核心靶点分子对接热图

将得到的主要活性成分和核心作用靶点进行分子对接, 以 Vina score ≤ -5.0 为标准, 结果表明苓甘五味姜辛半夏汤的核心活性成分与治疗咳嗽的核心作用靶点有良好的结合性, 见图 6。

4. 讨论

咳嗽是呼吸系统疾病如急性气管-支气管炎、咳嗽性哮喘、慢性咽炎、上呼吸道感染、肺间质纤维化等的常见表现[9], 现代医学认为进入呼吸道的病原体可引起呼吸道黏膜的免疫应答, 而被释放的炎症因子能引起咳嗽[10]。

研究发现, PGE₂、TXB₂、12-HHT、LTC₄、VEGF 等炎症因子能引起咳嗽。PGE₂、TXB₂ 和 12-HHT 是花生四烯酸环氧代谢途径中的产物。PGE₂ 能通过刺激气道内的感觉神经末梢引起咳嗽[11][12]; TXB₂ 能通过增加呼吸道对炎症因子的敏感性, 从而促进支气管平滑肌收缩[13]引起咳嗽; 花生四烯酸脂氧代谢途径中的产物 LTC₄, 能促进嗜酸性粒细胞的浸润[14], 可使支气管平滑肌痉挛[15]引起咳嗽; VEGF 与炎性病变有关, 有研究表明, 其水平与血清中增高的嗜酸性粒细胞气道炎症明显相关[16]。

4.1. 苓甘五味姜辛半夏汤中主要活性成分的作用机制

苓甘五味姜辛半夏汤的主要活性成分中, Quercetin 能显著抑制 12-HHT、TXB₂ 和 PGE₂ 的合成[17], 又能通过降低 AKT1 的表达抑制 PI3K-AKT 信号通路[18], 还能下调 VEGF 和 NOS2 的表达; Kaempferol 能下调 COX-2 及 VEGF 的表达[19]; 7-Methoxy-2-methyl isoflavone 能调节炎症信号通路, 可通过结合雌激素受体来发挥作用[20]; Beta-sitosterol、Licochalcone A、Glyasperin B 能下调 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子和 COX-2 的表达[21][22][23], Beta-sitosterol 对 COX-2 的抑制率为 82.7% [24], Glyasperin B 也有良好的抗炎效果[25], Licochalcone A 通过活化 PPAR γ 下调炎症因子的表达[26]; Medicarpin 具有抑制 LTC₄ 生成的作用[27]; Formononetin 能通过抑制炎症因子的释放调控氧化应激[28], 下调 VEGF 的表达[29]; Vestitol 能抑制 NF- κ B 通路的激活, 诱导巨噬细胞进入 M2 极化[30]从而减轻炎症反应; Shinpterocarpin 能与肺部的 ACE2 较好结合[31][32], ACE2-Ang(1-7)-Mas 轴可抑制炎症反应和抗氧化应激[33]。

4.2. 苓甘五味姜辛半夏汤中主要活性成分的分子对接验证

分子对接结果表明, 苓甘五味姜辛半夏汤的主要活性成分通过与 PTGS2、AR、PPARG、ESR2、NOS2 等核心作用靶点结合发挥止咳作用。PTGS2 是 PG 合成的主要限速酶, 当受到 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子刺激后, 其表达迅速增加[34]; AR 能参与调节炎症反应, 有研究表明, 降低大鼠的睾酮水平可增加血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等炎症因子的含量[35]; PPARG 在抑制炎症反应中发挥重要作用[36]; ESR2 能减少炎症信号, 有研究表明, 肠道内的 ESR2 从本质上保护 TNF- α 诱导的损伤[37]; NOS2 能参与炎症反应, 促进 IL-6、IL-8 等炎症因子的合成[38]。

4.3. 苓甘五味姜辛半夏汤治疗咳嗽通路的作用机制

KEGG 富集分析结果表明, 苓甘五味姜辛半夏汤的主要活性成分发挥止咳作用的通路, 可能为钙信号通路、cGMP-PKG 信号通路、VEGF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路和雌激素信号通路。钙信号通路与气管收缩有关, 而气管收缩会引发如咳嗽、喷嚏等表现, 除此外, 还参与气道炎症等许多生物反应[39]; cGMP-PKG 信号通路通过介导一氧化氮和利钠肽的作用调节多种生理过程, 其与气管收缩关系密切[40]; VEGF 信号通路能介导巨噬细胞与肥大细胞的趋化, 增强炎症反应。VEGF 还能自身分泌, 导致呼吸道炎症反应更进一步扩大[41]; PI3K-Akt 信号通路能介导炎性细胞聚集、VEGF 的表达、细胞增殖等[42]; 雌激素信号通路, 有研究表明, 通常雌激素的急性丢失会增加活性氧的水平, 能激活 NF- κ B 和促炎细胞

因子的产生, 表明其具有明显的抗炎特性[43]。

综上所述, 苓甘五味姜辛半夏汤止咳的潜在作用机制涉及免疫炎症反应和氧化应激两方面, 主要是以 Quercetin、Kaempferol、7-Methoxy-2-methyl isoflavone、Beta-sitosterol、Licochalcone A、Glyasperin B、Formononetin 等活性成分, 在钙信号通路、cGMP-PKG 信号通路、VEGF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路和雌激素信号通路等通路下, 通过作用于 PTGS2、AR、PPARG、ESR2、NOS2 等核心作用靶点, 下调部分炎症因子如 PGE2、TNF- α 等的表达, 减少其对气管的刺激, 从而发挥止咳作用。由于本研究仅限于网络药理学层面, 所以具体的调控机制、关键作用靶点还需通过谱效关系研究、动物或细胞实验等进行验证。

参考文献

- [1] 申广生. 加味苓甘五味姜辛半夏汤在婴幼儿哮喘中的作用[J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29(1): 56-58.
- [2] 张汇泉. 苓甘五味姜辛半夏汤治疗肺心病[J]. 四川中医, 1985(12): 24.
- [3] Ru, J.L., Li, P., Wang, J.N., et al. (2014) TCMSP: A Database of Systems Pharmacology for Drug Discovery from Herbal Medicines. *Journal of Cheminformatics*, **6**, Article No. 13. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-6-13>
- [4] Tian, S., Li, Y.Y., Wang, J.M., Zhang, J. and Hou, T.J. (2011) ADME Evaluation in Drug Discovery. 9. Prediction of Oral Bioavailability in Humans Based on Molecular Properties and Structural Fingerprints. *Molecular Pharmaceutics*, **8**, 841-851. <https://doi.org/10.1021/mp100444g>
- [5] Gfeller, D., Michielin, O. and Zoete, V. (2013) Shaping the Interaction Landscape of Bioactive Molecules. *Bioinformatics*, **29**, 3073-3079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt540>
- [6] Fishilevich, S., Nudel, R., Rappaport, N., et al. (2017) GeneHancer: Genome-Wide Integration of Enhancers and Target Genes in GeneCards. *Database: The Journal of Biological Databases and Curation*, **2017**, bax028. <https://doi.org/10.1093/database/bax028>
- [7] Wishart, D.S., Feunang, Y.D., Guo, A.C., et al. (2018) DrugBank 5.0: A Major Update to the DrugBank Database for 2018. *Nucleic Acids Research*, **46**, D1074-D1082. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1037>
- [8] Szklarczyk, D., Gable, A.L., Lyon, D., et al. (2019) STRING v11: Protein-Protein Association Networks with Increased Coverage, Supporting Functional Discovery in Genome-Wide Experimental Datasets. *Nucleic Acids Research*, **47**, D607-D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- [9] 尤巧云, 朱张求, 童佳兵. 童佳兵辨治咳嗽经验浅析[J]. 中医药临床杂志, 2023, 35(2): 233-237.
- [10] 熊莹. 支原体肺炎患儿的免疫功能状态评价[D]: [硕士学位论文]. 新乡: 新乡医学院, 2020.
- [11] Tilley, S.L., Hartney, J.M., Erikson, C.J., et al. (2003) Receptors and Pathways Mediating the Effects of Prostaglandin E2 on Airway Tone. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, **284**, L599-L606. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00324.2002>
- [12] Maher, S.A., Birrell, M.A. and Belvisi, M.G. (2009) Prostaglandin E2 Mediates Cough via the EP3 Receptor: Implications for Future Disease Therapy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **180**, 923-928. <https://doi.org/10.1164/rccm.200903-0388OC>
- [13] Hojo, M., Ikura, M., Hirashima, J., Suzuki, M. and Sugiyama, H. (2014) A Comparison of Long-Term Anti-Inflammatory Effect of Two ICS/LABA Combination Inhalers; Fix-Dosed Maintenance Therapy with Budesonide/Formoterol and Salmeterol/Fluticasone. *Allergology International*, **63**, 103-111. <https://doi.org/10.2332/allergolint.13-OA-0590>
- [14] Deeks, E.D. and Brusselle, G. (2017) Reslizumab in Eosinophilic Asthma: A Review. *Drugs*, **77**, 777-784. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0740-2>
- [15] 韩冬, 董雪莲, 邱智东. 1-甲基海因对哮喘大鼠模型的平喘作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2014(3): 543-548.
- [16] 古力鲜·马合木提, 穆清爽, 努尔阿米娜·铁力瓦尔地, 等. 支气管哮喘不同表型的 PDGF 及 VEGF 表达水平及其意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(12): 1160-1162.
- [17] Marija, L., Ivana, B., Nataša, S., et al. (2018) Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Quercetin and Its Derivatives. *Journal of Functional Foods*, **40**, 68-75. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.047>
- [18] Wan, Y.X., Xu, L., Liu, Z.Y., et al. (2019) Utilising Network Pharmacology to Explore the Underlying Mechanism of Wumei Pill in Treating Pancreatic Neoplasms. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **19**, Article No. 158.

- <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2580-y>
- [19] Safarpour, S., Pirzadeh, M., Ebrahimpour, A., *et al.* (2022) Protective Effect of Kaempferol and Its Nanoparticles on 5-Fluorouracil-Induced Cardiotoxicity in Rats. *BioMed Research International*, **2022**, Article ID: 2273000. <https://doi.org/10.1155/2022/2273000>
- [20] 刘艳梅, 李陈垚, 张慈浩, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨虎地肠溶胶囊治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 实用中医内科杂志, 2023, 37(3): 10-14.
- [21] 冯思敏, 宁可, 邵平, 等. β -谷甾醇和豆甾醇对小鼠急性结肠炎的治疗作用研究[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(12): 80-86.
- [22] Lee, I.A., Kim, E.J. and Kim, D.H. (2012) Inhibitory effect of β -Sitosterol on TNBS-Induced Colitis in Mice. *Planta Medica*, **78**, 896-898. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1298486>
- [23] Kwon, H.S., Park, J.H., Kim, D.H., *et al.* (2008) Licochalcone A Isolated from Licorice Suppresses Lipopolysaccharide-Stimulated Inflammatory Reactions in RAW264.7 Cells and Endotoxin Shock in Mice. *Journal of Molecular Medicine*, **86**, 1287-1295. <https://doi.org/10.1007/s00109-008-0395-2>
- [24] Nair, J.J., Aremu, A.O. and Van Staden, J. (2012) Anti-Inflammatory Effects of *Terminalia phanerophlebia* (Combretaceae) and Identification of the Active Constituent Principles. *South African Journal of Botany*, **81**, 79-80. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.06.00>
- [25] Zeng, F., Weng, Z., Zheng, H., *et al.* (2021) Preparation and Characterization of Active Oxidized Starch Films Containing Licorice Residue Extracts and Its Potential against Methicillin-Resistant *S. Aureus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **187**, 858-866. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.179>
- [26] 杨晓娟, 鄢国松, 牛明, 等. 基于网络药理学的气滞胃痛颗粒治疗胃炎作用机制探讨和实验验证[J]. 药物评价研究, 2022, 45(12): 2430-2442.
- [27] Miller, D.K., Sadowski, S., Han, G.Q. and Joshua, H. (1989) Identification and Isolation of Medicarpin and a Substituted Benzofuran as Potent Leukotriene Inhibitors in an Anti-Inflammatory Chinese Herb. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, **38**, 137-143. [https://doi.org/10.1016/0952-3278\(89\)90098-7](https://doi.org/10.1016/0952-3278(89)90098-7)
- [28] 王洪双, 何珍, 徐贺朋, 等. 基于数据挖掘和网络药理学的慢性肾小球肾炎用药规律和作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(10): 1366-1376.
- [29] Auyeung, K.K., Law, P. and Ko, J.K. (2012) Novel Anti-Angiogenic Effects of Formononetin in Human Colon Cancer Cells and Tumor Xenograft. *Oncology Reports*, **28**, 2188-2194. <https://doi.org/10.3892/or.2012.2056>
- [30] 赵婷, 宋颖, 张喜莲. 二陈汤治疗腺样体肥大的作用机制探讨[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(3): 476-481.
- [31] 王汉, 宋红新, 王敦方, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨宣肺败毒方治疗新型冠状病毒肺炎的潜在作用机制[J]. 海南医学院学报, 2020, 26(18): 1361-1372.
- [32] 王恩龙, 何黎黎, 李婧. 基于网络药理学与分子对接技术的化湿败毒颗粒治疗新型冠状病毒肺炎作用机制及活性成分筛选研究[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(7): 149-154.
- [33] 李宝宝, 赵建, 丁日高, 等. 肾素-血管紧张素系统在 ALI/ARDS 中作用研究进展[J]. 中国职业医学, 2021, 48(5): 566-570.
- [34] 张鸽, 胡月, 王倩倩, 等. 基于网络药理学探讨加味导赤散治疗心脾积热证复发性口腔溃疡的活性成分及作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(21): 3980-3987.
- [35] 尹利军, 王晓慧. 雄激素及其受体在肥胖、肥胖相关疾病及脂质代谢紊乱中的作用[J]. 生理学报, 2018, 70(3): 319-328.
- [36] Necela, B.M., Su, W. and Thompson, E.A. (2008) Toll-Like Receptor 4 Mediates Cross-Talk between Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ and Nuclear Factor- κ B in Macrophages. *Immunology*, **125**, 344-358. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2008.02849.x>
- [37] Linnea, H., Rajitha, I., Madeleine, B., *et al.* (2020) Intestinal Estrogen Receptor β Suppresses Colon Inflammation and Tumorigenesis in Both Sexes. *Cancer Letters*, **492**, 54-62. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.06.021>
- [38] 何毅豪, 王冰, 杨骏, 等. 基于网络药理学和体外细胞实验探讨芍药甘草汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 上海中医药大学学报, 2022, 36(6): 59-69.
- [39] 申永刚, 高汇雯, 肖慧, 等. 钙释放激活钙通道蛋白 1 和基质相互作用分子 1 对哮喘大鼠气管收缩的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(19): 2659-2662.
- [40] Dimitropoulou, C., White, R.E., Ownby, D.R. and Catravas, J.D. (2005) Estrogen Reduces Carbachol-Induced Constriction of Asthmatic Airways by Stimulating Large-Conductance Voltage and Calcium-Dependent Potassium Channels. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **32**, 239-247.

<https://doi.org/10.1165/rcmb.2004-0331OC>

- [41] 邵娜, 蔡琦玲, 袁连方. 血管内皮生长因子(VEGF)与呼吸系统疾病相关性研究进展[J]. 继续医学教育, 2016, 30(4): 107-109.
- [42] 吕伟伟, 郑锐, 谭明旗. PI3K/Akt 信号通路在哮喘气道重塑中的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(15): 2961-2965.
- [43] Marta, M. and Santos, C. (2013) Estrogens, Osteoarthritis and Inflammation. *Joint Bone Spine*, **80**, 368-373.
<https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2012.11.008>