

基于网络药理学和实验验证研究射干 - 麻黄对 支气管炎的免疫调节作用

陈锐扬¹, 邸逸凡¹, 潘宇¹, 郭晓瑞¹, 张晶², 徐明远^{2,3*}, 唐中华¹

¹东北林业大学, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江省林业科学院, 黑龙江 哈尔滨

³黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2021年12月9日; 录用日期: 2022年1月17日; 发布日期: 2022年2月28日

摘要

目的: 通过网络药理学研究方法和分子对接技术探索射干 - 麻黄药对支气管炎的作用机制。方法: 使用中药系统药理数据分析平台(TCMSP)检索射干和麻黄的活性成分。使用Gene Cards数据库筛选支气管炎疾病作用靶点, 应用STRING数据库和Cytoscape构建射干和麻黄与支气管炎的作用靶点网络和蛋白相互作用网络(PPI)以寻找关键作用靶点。使用Autodock Vina对射干 - 麻黄的核心成分与关键作用靶点进行分子对接验证。运用DAVID (v6.8)数据库对关键作用靶点进行基因本体(GO)和基因组数据库(KEGG)通路富集分析。结果: 射干 - 麻黄药对的主要活性成分为槲皮素, 木犀草素、山奈酚, 柚皮素和异鼠李素, 作用于支气管炎的关键靶点是TNF、IL-6、IL-1B、MAPK1和VEGFA。分子对接验证结果显示核心成分能与关键作用靶点充分结合而发挥作用, 候选靶点主要富集TNF信号通路、HIF-1信号通路、FoxO信号通路和NOD样受体信号通路。射干 - 麻黄药对可降低支气管肺炎大鼠血中免疫蛋白IgA、IgM、IgG以及免疫因子IL-1、IL-6和TNF- α 的含量。结论: 射干 - 麻黄药对主要的活性成分为槲皮素, 木犀草素、山奈酚, 柚皮素和异鼠李素, 它调控TNF信号通路、HIF-1信号通路、FoxO信号通路和NOD样受体等信号通路降低免疫因子来发挥治疗支气管炎的作用。

关键词

射干, 麻黄, 支气管炎, 网络药理学, 分子对接

Study on Immunomodulatory Effect of *Belamcandae Rhizoma* and *Ephedrae Herba* on Bronchitis Based on Network Pharmacology and Experimental Verification

*通讯作者。

文章引用: 陈锐扬, 邸逸凡, 潘宇, 郭晓瑞, 张晶, 徐明远, 唐中华. 基于网络药理学和实验验证研究射干 - 麻黄对支气管炎的免疫调节作用[J]. 药物化学, 2022, 10(1): 53-69. DOI: 10.12677/hjmce.2022.101007

Ruiyang Chen¹, Yifan Di¹, Yu Pan¹, Xiaorui Guo¹, Jing Zhang², Mingyuan Xu^{2,3*},
Zhonghua Tang¹

¹Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

²Heilongjiang Academy of Forestry, Harbin Heilongjiang

³Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

Received: Dec. 9th, 2021; accepted: Jan. 17th, 2022; published: Feb. 28th, 2022

Abstract

Objective: To explore the molecular mechanism of *Belamcandae Rhizoma* and *Ephedrae Herba* couplet medicines (BREHCM) on bronchitis based on molecular docking technology and network pharmacology. **Methods:** The active components were searched using the traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database Analysis Platform (TCMSP). Gene Cards database was used to screen bronchitis disease targets. The STRING database and Cytoscape were applied to construct the couplet medicines with bronchitis action target network and protein interaction network (PPI). Molecular docking validation of the core components with key targets was performed using Autodock Vina. David (v6.8) was used to perform target Gene Ontology (GO) and KEGG pathway analysis. **Results:** The main active components of BREHCM are quercetin, luteolin, kaempferol, naringin and isorhamnetin. The key targets for bronchitis are TNF, IL-6, IL-1B, mapk1 and VEGFA. The results of molecular docking verification show that the core components can fully combine with the key targets and play a role. Candidate targets mainly enrich TNF signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, FoxO signaling pathway and nod like receptor signaling pathway. BREHCM can reduce the contents of immune proteins IgA, IgM, IgG and immune factors IL-1, IL-6 and TNF- α in the blood of rats with bronchopneumonia. **Conclusion:** The core active ingredients of BREHCM are quercetin, luteolin, kaempferol, naringenin, and isorhamnetin, which may regulate TNF signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, FoxO signaling pathway, and NOD-like receptor signaling pathway to exert therapeutic effects on bronchitis.

Keywords

Belamcandae Rhizoma, *Ephedrae Herba*, Bronchitis, Network Pharmacology, Molecular Docking

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

支气管炎是指气管，支气管由于病毒或细菌感染，物理或化学性刺激或过敏的因素的引发的支气管黏膜及其周围组织的慢性或急性非特异性炎症，常见于寒冷季节或气候变化时，也可由急性上呼吸道感染蔓延开来。临床表现为咽喉咳嗽、咳痰不适等症状[1]。常见的支气管炎类型有：急性气管-支气管炎，慢性支气管炎，喘息性支气管炎，过敏性支气管炎，闭塞性支气管炎和毛细支气管炎[2]。副流感病毒、腺病毒为常见的病毒性病原体，嗜血流感杆菌为其主要的细菌感染病原体[3] [4] [5]。西医治疗该疾病主要采取抗感染、支持对症治疗。

射干(*Belamcandae Rhizoma*)和麻黄(*Ephedrae Herba*) (以下英文缩写为 BR-EH)是射干麻黄汤的君药，

该方出自《金匱要略》卷上，具有宣肺祛痰、降气止咳的功效。主治寒痰郁肺结喉证。症见咳嗽，气喘，喉间痰鸣似水鸡声，或胸中似水鸣音，或吐痰涎，苔白膩，脉弦紧或沉紧[6]。前人的研究结果显示，射干麻黄汤临床常用于支气管哮喘、慢性阻塞性肺病尤其是急慢性支气管炎有较好的治疗作用[7] [8] [9] [10] [11]。其中，君药射干为干燥后的鸢尾科植物射干(*Belamcanda chinensis* (L.) DC)的根茎，具有清热解毒，消痰散结，消痰利咽之功效，具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化、清除自由基等现代作用[12]。麻黄为麻黄科麻黄属植物麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf、中麻黄 *Ephedra intermedia* Schrenk et C.A. Mey.或木贼麻黄 *Ephedra equisetina* Bge.的干燥草质茎，性温，气微香，味涩，微苦，具有宣肺平喘，发汗利水之功效，具有松弛支气管平滑肌、免疫抑制、抗氧化、镇咳平喘等作用[13]。两者合用，寒温并用，宣降并举，相使为用，相辅相成，可以共同发挥宣肺平喘、止咳化痰的作用[14]。虽然目前对射干-麻黄药对活性成分及药理作用的研究报道较多，但尚无其治疗支气管炎的相关分子机制研究。

因此，为探讨中药配伍的现代理论依据，本研究利用网络药理学研究思路和方法，对射干-麻黄药对的活性成分，治疗支气管炎的潜在靶点，分子功能及调节的代谢途径进行系统的研究，并使用分子对接技术对其活性成分及治疗支气管炎的潜在靶点进行对接验证。寻找射干-麻黄药对治疗支气管炎的活性成分，探索该药对治疗支气管炎的分子机制，为进一步的动物实验研究提供理论依据。

2. 材料和方法

2.1. 网络药理学研究

2.1.1. 射干-麻黄药对潜在活性成分的筛选

射干-麻黄药对中的化合物是从中药系统药理学[15] (TCMSP, <https://old.tcm-sp-e.com/index.php>)数据库中检索得到的。在这项研究中，使用了三个与药代动力学参数，包括口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ ，半衰期(HL) ≥ 4 和类药性(DL) ≥ 0.18 [16] [17] [18]，来筛选射干-麻黄药对中的潜在活性成分。

2.1.2. 活性成分-靶点网络预测

通过 STITCH (<http://stitch.embl.de/>)和 Swiss Target Prediction [19] [20] (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据库预测活性成分的作用靶点，使用靶点预测数据库中标记的每个靶点的概率值来获取目标的排名列表，并评估预测的准确性。使用 Cytoscape3.7.2 软件建立可视化的活性成分-靶点网络，使用 Cytoscape 软件中的“CytoNCA”的插件筛选核心成分。

2.1.3. 支气管炎疾病相关靶点的筛选

从 GeneCards v4.14 (<https://www.genecards.org/>)数据库中收集支气管炎的疾病靶点[21] [22] [23]。利用 UniprotKB (<https://www.uniprot.org/>)数据库将以上实现的所有靶点标准化为基因名称和 UniProt ID。使用 STRING (<http://string-db.org/>)数据库建立疾病靶点蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络，使用 Cytoscape 软件中的“CytoNCA”的插件筛选支气管炎的核心作用靶点。

2.1.4. 射干-麻黄药对治疗支气管炎作用靶点筛选

将“2.1.2”中得到的射干-麻黄药对作用靶点(图 1)与“2.1.3”中得到的支气管炎疾病靶点(图 2)在 Venny 2.1 (<http://www.liuxiaoyuyuan.cn/>)中合并，找到二者交集即为射干-麻黄药对治疗支气管炎的作用靶点。

2.1.5. 作用靶点的 PPI 网络

将“2.1.4”中获得的作用靶点输入到 STRING 数据库，物种限于“智人”得到作用靶点的 PPI 网络数据。将从 STRING 数据库导出的数据文件导入 Cytoscape 软件进行建立射干-麻黄药对作用于支气管

炎的可视化 PPI 网络。使用 Cytoscape 软件中的“CytoNCA”的插件筛选射干 - 麻黄药对作用于支气管炎的核心靶点。

2.1.6. 核心成分与关键靶点的分子对接验证

在 RCSB PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)中导出“1.5”中筛选的前 5 位核心靶点的 PDB 格式分子结构文件, 物种选择“Homo sapiens”; 在 TCMSP 数据库中(<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)导出“1.2”中筛选的射干 - 麻黄药对前五位核心成分的 mol2 格式分子结构文件。采用 Autodock Tool 对上述核心靶点与核心活性成分进行预处理后使用 Autodock Vina [24]进行分子对接模拟, 得到分子对接的最小结合能。

2.1.7. 基因功能(GO)和 KEGG 代谢途径富集分析

使用 DAVID v6.8 [25] (<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库对 1.4 中得到的射干 - 麻黄药对治疗支气管炎的作用靶点执行 GO 功能分析, 包括生物学过程(BP), 细胞组成(CC)和分子功能(MF), 以及 KEGG 代谢途径富集分析。 P 值 < 0.05 的 GO 项和 P 值 < 0.05 的 KEGG 途径被认为具有重要意义。富集结果使用 R 语言进行图形化展示。

2.2. 动物实验验证

1) 动物及 SPF 级 SD 大鼠雄性, 体质量 180~22 g, 50 只, 购自黑龙江中医药大学实验动物中心, 合格证编号: SCXK(黑) 2015-005, 动物的饲养和使用均符合中国《实验动物管理条例》。

2) 药物射干和麻黄按所用试验用量购自黑龙江中医药大学附属第一医院中药饮片药房, 给药前经相同方法使用蒸馏水煎煮并浓缩为浸膏, 射干、麻黄药对溶液的制备方法参考文献[26]; 大鼠 ELISA 试剂盒(IgA, IgG, IgM, IL-1, IL-6, TNF- α)均购自上海恒远生物科技有限公司。

3) 实验动物模型制备采用烟熏联合气管内注射 LPS 的方法复制支气管炎(CB)大鼠模型[27]。制作 CB 模型的 4 组大鼠放置于有机玻璃烟熏箱中, 用烟叶 150 g, 点燃对大鼠进行烟熏, 每天上午、下午各 1 次, 每次 30 min, 持续 30 d; 正常对照组置于常规环境中饲养。慢性支气管炎组大鼠于第 1、15 天给予气管内注入 LPS, 每只 200 μ g (1 mg/mL), 正常对照组给予气管内注入等体积生理盐水。

4) 动物分组及给药将模型组造模成功大鼠随机分为模型对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 共计 4 组, 每组 10 只。大鼠给药剂量按人与大鼠之间体表面积折算, 低剂量组按 4.55g/kg, 中剂量组 9.10 g/kg, 高剂量组按 18.20 g/kg 给予泻白散, 正常组和模型对照组灌胃生理盐水, 1 次/d, 连续给药 21 d。

5) 免疫球蛋白及细胞因子末次给药后 24 h, 腹主动脉取血, 静置离心, 分离血清, -20°C 保存备用。严格按照试剂盒说明书采用 ELISA 法测定试验大鼠血清中免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 和细胞因子 IL-1、IL-6、TNF- α 的含量。

6) 数据统计及处理试验数据采用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示。采用 SPSS25.0 统计分析软件进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 差异极显著。

3. 结果

3.1. 射干 - 麻黄的活性成分

从 TCMSP 数据库中共收集了 419 个化合物: 其中, 射干 56 个, 麻黄 363 个。经过 $\text{OB} \geq 30\%$, $\text{DL} \geq 0.18$ 和 $\text{HL} \geq 4$ 的 ADME 筛选后, 从射干中筛选出 15 个潜在活性成分, 从麻黄中筛选出 17 个潜在活性成分, 去除了 2 种重复化合物后, 共筛选出 30 个射干 - 麻黄药对的潜在活性成分(表 1)。

3.2. 射干 - 麻黄的潜在作用靶点

通过 STITCH 和 Swiss Target Prediction 数据库预测出射干的 334 个潜在靶点和射干的 154 个潜在靶

点。去重后共得到射干 - 麻黄药对 25 个活性成分作用的 343 个潜在靶点。利用 Cytoscape 软件建立了具有 368 个节点和 822 个边缘的射干 - 麻黄药对活性成分 - 靶点可视网络(图 1)。通过中心度的筛选, 槲皮素(quercetin), 木犀草素(luteolin), 山奈酚(kaempferol), 异鼠李素(isorhamnetin)和柚皮素(naringenin)是中心度前 5 位的核心成分(表 2)。

Table 1. Active components of *BR-EH*

表 1. 射干 - 麻黄药对活性成分信息

编号	Mol ID	Molecule Name	MW	OB (%)	DL	HL	靶点数	药材归属
1	MOL002823	Herbacetin	302.25	36.07	0.27	14.8	12	麻黄
2	MOL000422	kaempferol	286.25	41.88	0.24	14.74	91	麻黄
3	MOL000098	quercetin	302.25	46.43	0.28	14.4	216	麻黄
4	MOL000006	luteolin	286.25	36.16	0.25	15.94	93	麻黄, 射干
5	MOL000358	beta-sitosterol	414.79	36.91	0.75	5.36	48	麻黄
6	MOL000449	Stigmasterol	412.77	43.83	0.76	5.57	41	麻黄, 射干
7	MOL001494	Mandenol	308.56	42	0.19	5.39	5	麻黄
8	MOL001755	24-Ethylcholest-4-en-3-one	412.77	36.08	0.76	5.49	3	麻黄
9	MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	414.79	36.91	0.75	5.07	6	麻黄
10	MOL002881	Diosmetin	300.28	31.14	0.27	16.34	14	麻黄
11	MOL004328	naringenin	272.27	59.29	0.21	16.98	49	麻黄
12	MOL004576	taxifolin	304.27	57.84	0.27	14.41	14	麻黄
13	MOL005043	campest-5-en-3beta-ol	400.76	37.58	0.71	4.43	9	麻黄
14	MOL005190	eriodictyol	288.27	71.79	0.24	15.81	17	麻黄
15	MOL005573	Genkwanin	284.28	37.13	0.24	16.1	18	麻黄
16	MOL005842	Pectolarigenin	314.31	41.17	0.3	16.56	14	麻黄
17	MOL011319	Truflex OBP	334.5	43.74	0.24	4.9	7	麻黄
18	MOL002322	isovitexin	432.41	31.29	0.72	16.45	7	射干
19	MOL001735	Dinatin	300.28	30.97	0.27	16.44	21	射干
20	MOL000351	Rhamnazin	330.31	47.14	0.34	13.54	24	射干
21	MOL000354	isorhamnetin	316.28	49.6	0.31	14.34	49	射干
22	MOL003741	anhydrobelachinal	468.74	43.57	0.78	4.83	0	射干
23	MOL003743	belachinal	486.76	31.24	0.64	5.3	0	射干
24	MOL003744	belamcandal	528.8	30.07	0.67	4.84	0	射干
25	MOL003753	dihydrokaempferide	302.3	50.56	0.27	14.74	8	射干
26	MOL003754	epianhydrobelachinal	468.74	43.57	0.78	5	0	射干
27	MOL003758	Iristectorigenin (9CI)	330.31	71.55	0.34	16.32	21	射干
28	MOL003759	Iristectorigenin A	330.31	63.36	0.34	16.82	22	射干
29	MOL003769	Irolone	298.26	46.87	0.36	19.59	13	射干
30	MOL003773	Mangiferolic acid	442.75	36.16	0.84	5.71	0	射干

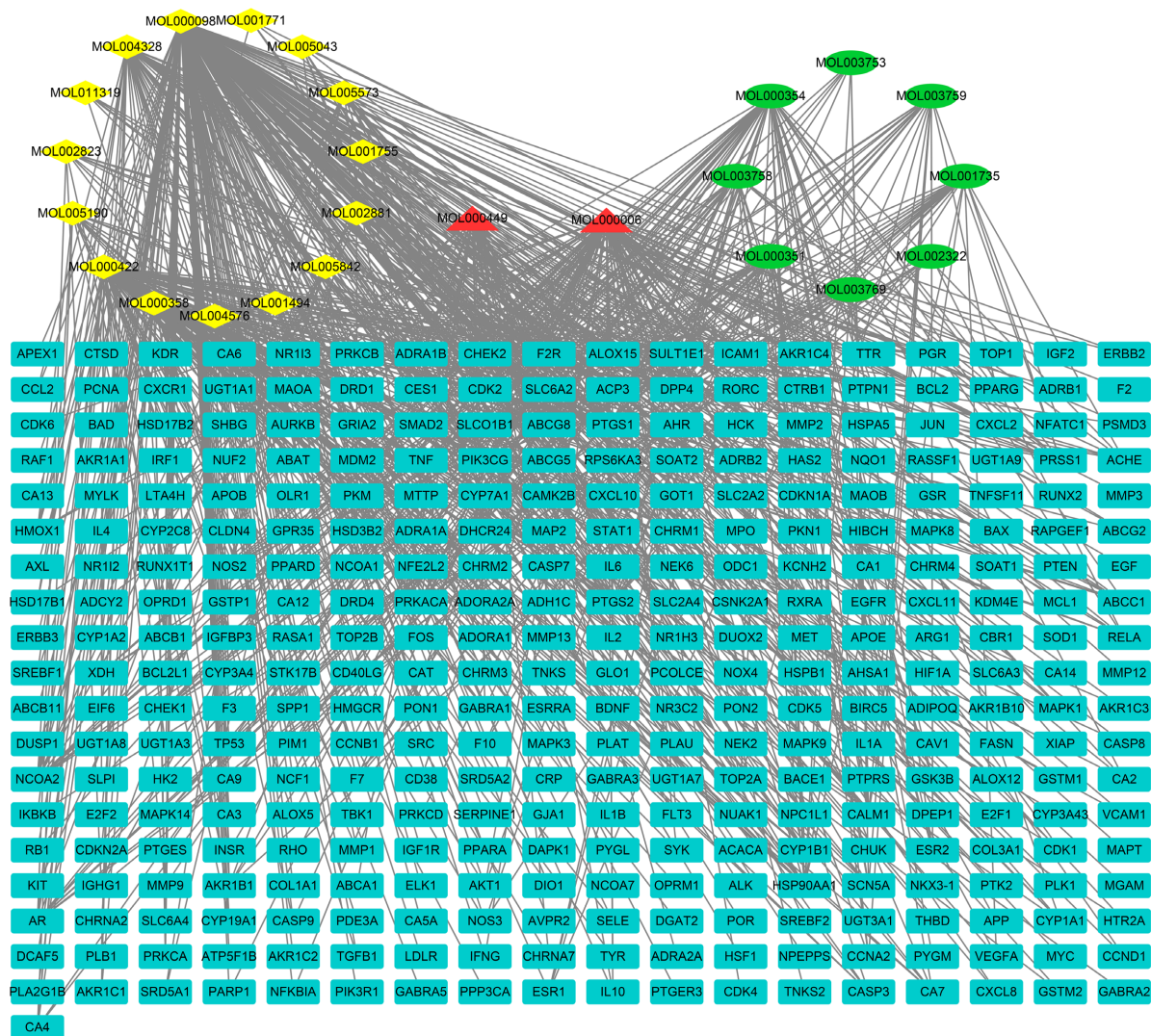


Figure 1. Active ingredient-target network of BR-EH. Yellow is the active ingredient of *Ephedrae Herba*, light green is the active ingredient of *Belamcandae Rhizoma*, and red is the common ingredient of both. Dark green is the target of the active ingredient

图 1. 射干 - 麻黄药对的成分 - 靶点作用网络。黄色为麻黄活性成分，浅绿色为射干活性成分，红色为两药共有成分；深绿色为作用靶点

Table 2. Core active ingredients of BR-RH

表 2. 射干 - 麻黄药对的核心活性成分

化合物	Degree	Average ShortestPathLength	Betweenness Centrality	Closeness Centrality	Radiality
quercetin	216	1.7738	0.6274	0.5637	0.9964
luteolin	93	2.4550	0.1573	0.4073	0.9933
kaempferol	91	2.4387	0.1417	0.4101	0.9933
isorhamnetin	49	2.6894	0.0602	0.3718	0.9922
naringenin	49	2.7003	0.1204	0.3703	0.9921
beta-sitosterol	48	2.6730	0.1090	0.3741	0.9923
Stigmasterol	41	2.7112	0.0820	0.3688	0.9921

3.3. 支气管肺炎的疾病靶点

在 GeneCards 搜索得到支气管肺炎的 1127 个潜在作用靶点, 选择靶点评分大于中位数的 427 靶点作为支气管肺炎的主要作用靶点。将靶点上传到 STRING 数据库获取了靶点的 PPI 网络, 并用 Cytoscape 软件建立了具有 353 个节点和 4969 条边的支气管肺炎作用靶点可视化网络(图 2)。

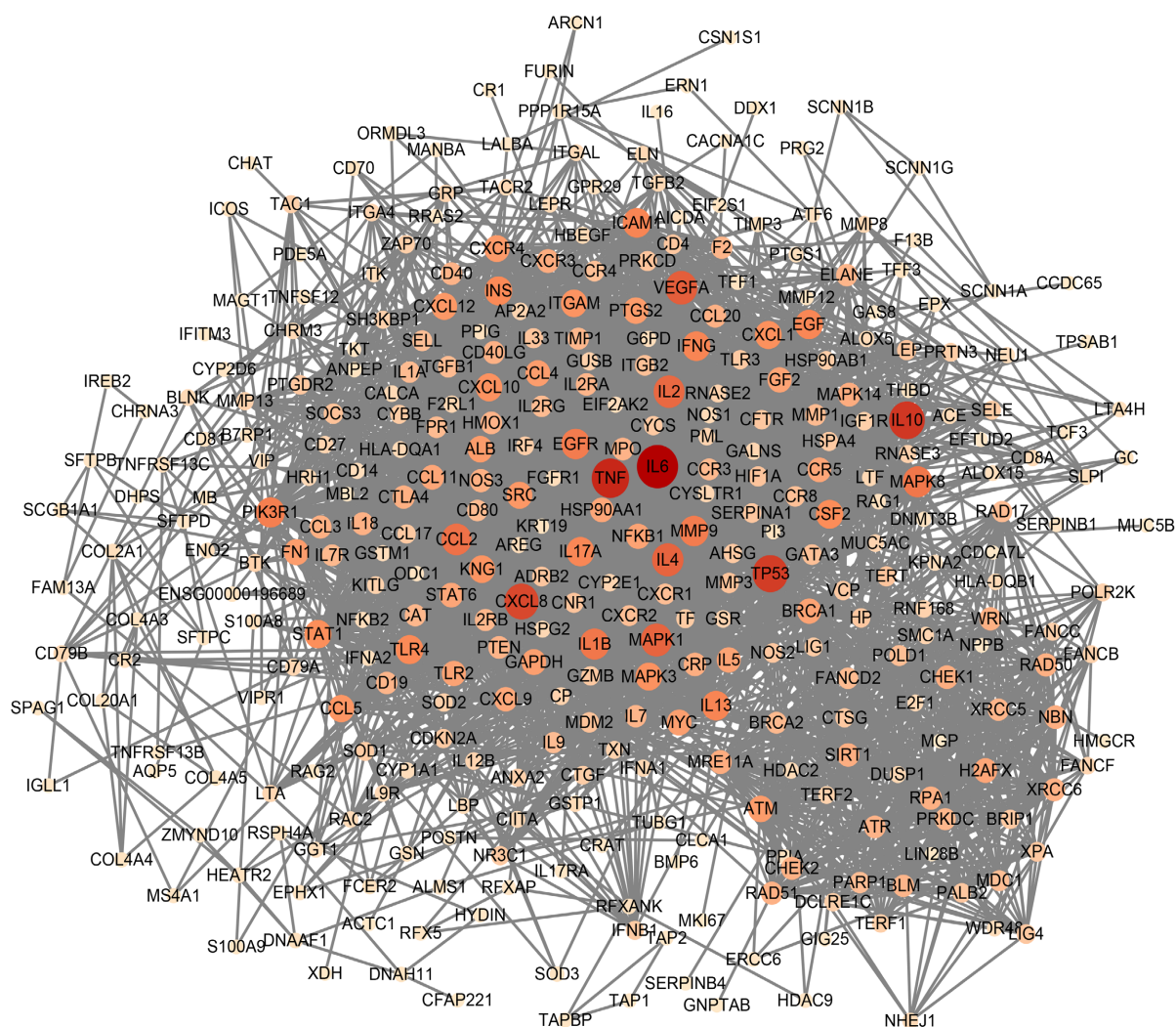


Figure 2. Disease targets network of bronchitis

图 2. 支气管肺炎疾病靶点网络

3.4. 射干 - 麻黄治疗支气管肺炎作用靶点及 PPI 网络的建立

将在“3.2”中得到的麻黄 - 射干的 343 个作用靶点与“3.3”中得到的 427 个作用靶点输入到 Venny 2.1 共得到 70 交集靶点为射干 - 麻黄治疗支气管肺炎的潜在作用靶点(图 3, 表 3)。在 STRING 数据库获得了 70 个共同靶点的 PPI 网络数据, 将上述数据导入到 Cytoscape 软件中建立了由 67 个节点和 522 个边缘组成的 PPI 网络(图 4(a))。选择 5 个中心度最高的靶点作为射干 - 麻黄作用于支气管肺炎的核心靶点, 包括肿瘤坏死因子(TNF)、白介素 6 (IL-6)、白介素 1B (IL-1B)、促分裂原激活蛋白激酶 1 (MAPK1)和血管内皮生长因子 A (VEGFA) (图 4(b))。

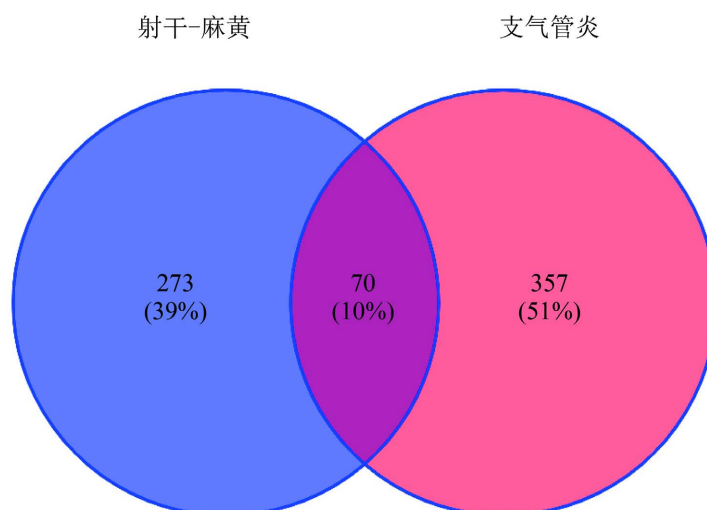


Figure 3. Screening the target of *BR-EH* in the treatment of bronchitis
图 3. 射干 - 麻黄药对治疗支气管肺炎的作用靶点的筛选

Table 3. Potential targets of *BR-EH* in the treatment of bronchitis

表 3. 射干 - 麻黄药对治疗支气管肺炎的潜在作用靶点

基因	蛋白名称	Uniprot ID
ALOX5	Polyunsaturated fatty acid 5-lipoxygenase	P09917
CD40LG	CD40 ligand	P29965
EGFR	Epidermal growth factor receptor	P00533
GSTP1	Glutathione S-transferase P	P09211
ICAM1	Intercellular adhesion molecule 1	P05362
IFNG	Interferon gamma	P01579
IL10	Interleukin-10	P22301
IL2	Interleukin-2	P60568
IL4	Interleukin-4	P05112
IL6	Interleukin-6	P05231
MAPK1	Mitogen-activated protein kinase 1	P28482
MDM2	E3 ubiquitin-protein ligase Mdm2	Q00987
MMP1	Interstitial collagenase	P03956
MMP12	Macrophage metalloelastase	P39900
MMP9	Matrix metalloproteinase-9	P14780
PARP1	Poly [ADP-ribose] polymerase 1	P09874
TP53	Cellular tumor antigen p53	P04637
ADRB2	Beta-2 adrenergic receptor	P07550
ALOX15	Polyunsaturated fatty acid lipoxygenase ALOX15	P16050
CCL2	C-C motif chemokine 2	P13500
CDKN2A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A	P42771
CHEK2	Serine/threonine-protein kinase Chk2	O96017
CRP	C-reactive protein [Cleaved into: C-reactive protein	P02741

Continued

CXCL10	C-X-C motif chemokine 10	P02778
CXCL8	Interleukin-8	P10145
CXCR1	C-X-C chemokine receptor type 1	P25024
E2F1	Transcription factor E2F1	Q01094
EGF	Pro-epidermal growth factor	P01133
F2	Prothrombin	P00734
GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1	P09488
HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1-alpha	Q16665
IGF1R	Insulin-like growth factor 1 receptor	P08069
IL1A	Interleukin-1 alpha	P01583
IL1B	Interleukin-1 beta	P01584
MMP13	Collagenase 3	P45452
MMP3	Stromelysin-1	P08254
MPO	Myeloperoxidase	P05164
MYC	Myc proto-oncogene protein	P01106
ODC1	Ornithine decarboxylase	P11926
PIK3R1	Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha	P27986
PTEN	Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase and dual-specificity protein phosphatase	P60484
SELE	E-selectin	P16581
SOD1	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	P00441
SRC	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	P12931
STAT1	Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta	P42224
TGFB1	Transforming growth factor beta-1 proprotein	P01137
THBD	Thrombomodulin	P07204
CHEK1	Serine/threonine-protein kinase Chk1	Q14757
HSP90AA1	Heat shock protein HSP 90-alpha	P07900
MAPK14	Mitogen-activated protein kinase 14	Q16539
NOS2	Nitric oxide synthase, inducible	P35228
PTGS1	Prostaglandin G/H synthase 1	P23219
PTGS2	Prostaglandin G/H synthase 2	P35354
XDH	Xanthine dehydrogenase/oxidase	P47989
CYP1A1	Cytochrome P450 1A1	P04798
HMOX1	Heme oxygenase 1	P09601
MAPK8	Mitogen-activated protein kinase 8	P45983
NOS3	Nitric oxide synthase, endothelial	P29474
PRKCD	Protein kinase C delta type	Q05655
CHRM3	Muscarinic acetylcholine receptor M3	P20309

Continued

SLC6A4	Sodium-dependent serotonin transporter	P31645
SLPI	Antileukoproteinase	P03973
LTA4H	Leukotriene A-4 hydrolase	P09960
VEGFA	Vascular endothelial growth factor A	P15692
TNF	Tumor necrosis factor	P01375
CAT	Catalase	P04040
GSR	Glutathione reductase, mitochondrial	P00390
HMGR	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	P04035
MAPK3	Mitogen-activated protein kinase 3	P27361
DUSP1	Dual specificity protein phosphatase 1	P28562

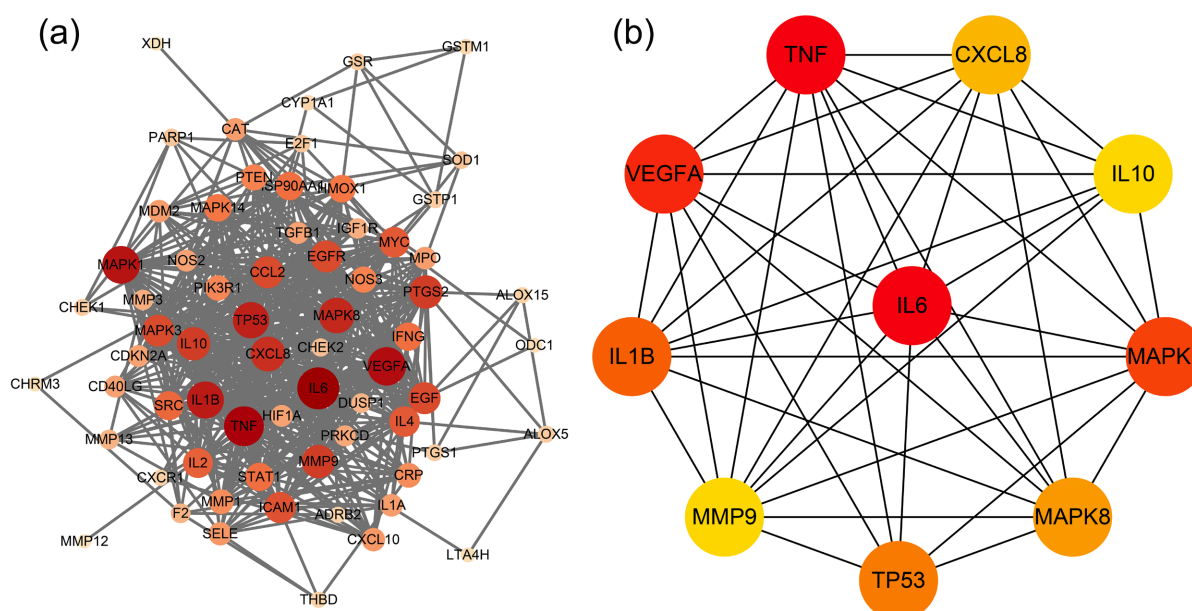


Figure 4. PPI network analysis of target. (a) PPI network diagram of target; (b) The top 10 core targets of connectivity. Through topology analysis, the size and color depth of nodes are directly proportional to the centrality

图 4. 作用靶点的 PPI 网络分析。(a) 作用靶点的 PPI 网络图；(b) 连接度前 10 位的核心作用靶点。通过拓扑分析，节点的大小和颜色深浅与中心度成正比

3.5. 核心活性成分和关键靶点的分子对接验证结果

为了验证射干 - 麻黄药对的核心成分是否可以作用于支气管炎核心靶点，将“3.2”中得到的射干 - 麻黄药对的核心活性成分前五名的 quercetin、luteolin、kaempferol、isorhamnetin 和 naringenin 与“3.5”中得到的核心靶点前五名的 TNF (PDB ID:5UUI)、IL-6 (PDB ID:ALU1)、IL-1B (PDB ID:2NVH)、MAPK1 (PDB ID:2Y9Q)和 VEGFA (PDB ID:4KZN)进行分子对接结合的验证，以结合能(affinity)的数值对分子对接的结果进行打分，结合能的数值能够显示分子间的结合能力与相互作用的大小。一般认为，结合能小于 0 kcal/mol。表明受体蛋白与配体成分间可以进行自发的结合，结合能 < -1.2 kcal/mol 表明有较好的结合能力。分子对接结果显示，5 个配体成分与 5 个受体蛋白靶点均能较好结合，最低结合能见表 4。最高结合的活性成分与靶点的结合方式见图 5。

Table 4. Molecular docking verification results of main active components and key targets
表 4. 主要活性成分与相关关键蛋白分子对接验证结果

关键活性化合物分子	与对应靶蛋白的分子对接结合能/kcal*moL				
	TNF	IL-6	IL-1B	MAPK1	VEGFA
quercetin	-5.8	-7.0	-6.1	-9.1	-5.5
luteolin	-5.8	-6.6	-6.4	-8.9	-5.6
kaempferol	-5.8	-6.9	-5.9	-9.1	-5.2
isorhamnetin	-5.9	-6.9	-6.1	-9.2	-5.4
naringenin	-5.3	-5.9	-5.7	-8.0	-5.3

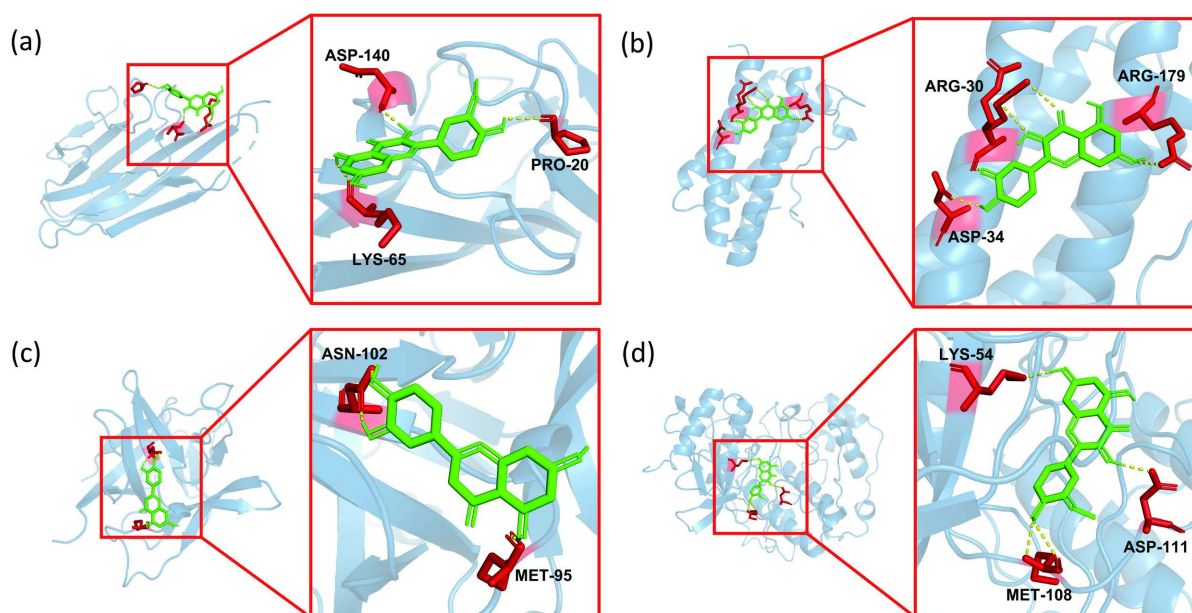


Figure 5. Moleculesdocking mode between main active components and key target. (a) TNF and isorhamnetin; (b) IL-6 and quercetin; (c) IL-1B and luteolin; (d) Mapk1 and isorhamnetin

图 5. 主要活性成分与关键蛋白分子对接模式展示。(a) TNF 和 isorhamnetin;(b) IL-6 和 quercetin;(c) IL-1B 和 luteolin;(d) MAPK1 和 isorhamnetin

3.6. GO 和 KEGG 途径富集分析

GO 功能富集分析富集到 201 个生物过程(BP), 17 个细胞组成(CC)和 30 个分子功能(MF) ($P < 0.01$)。其中, 关键的 BP 包括细胞凋亡过程的负调控、细胞对脂多糖的反应、药物反应、基因表达的正调控、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、炎症反应、脂多糖介导的信号通路、ERK1 和 ERK2 级联阳性调节、超氧阴离子产生的正调控和细胞对缺氧的反应等。影响的 CC 包括细胞外隙、胞外区、小窝、细胞质和质膜的外侧。影响的 MF 主要有酶结合、细胞因子活性、血红素结合、蛋白质同源二聚化活性、蛋白结合、生长因子活性、相同的靶蛋白结合、NADP 结合、MAP 激酶活性和蛋白磷酸酶结合等(图 6)。基于富集基因的数量以及 $P < 0.01$ 共富集到 KEGG 代表性途径 89 条(图 5(b)), 去除与肿瘤相关的通路后富集到的主要通路有 TNF 信号通路、HIF-1 信号通路、FoxO 信号通路、NOD 样受体信号通路等信号通路; 美洲锥虫病(美洲锥虫病)利什曼病、疟疾、乙型肝炎、类风湿性关节炎、甲型流感、百日咳、弓形虫病、炎症性肠病等疾病通路(图 7)。

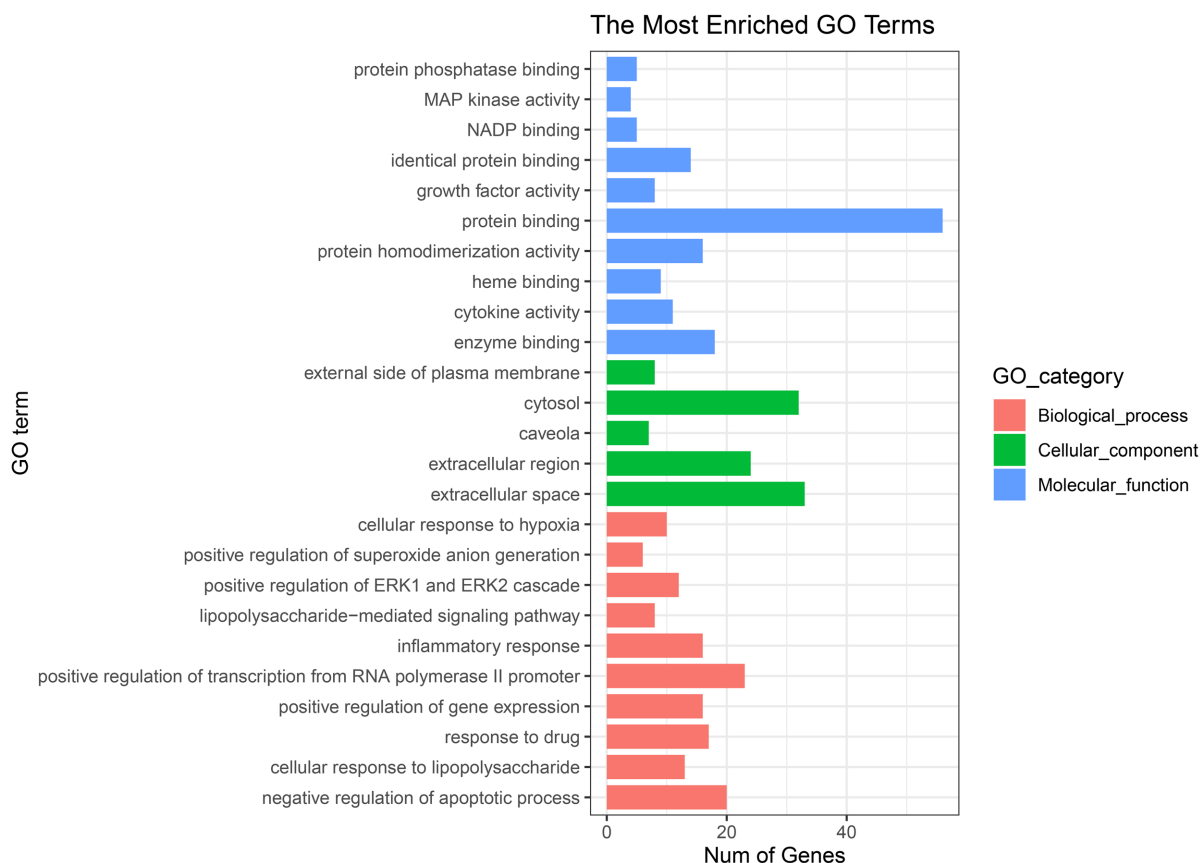


Figure 6. Results of GO function analysis. Pink: biological processes regulated by key targets; green: cellular component regulated by key targets; blue: molecular functions regulated by key targets

图 6. GO 功能分析。粉色：关键靶点调控的生物过程；绿色：关键靶点调控的细胞组成；蓝色：关键靶点调控的分子功能

3.7. 射干 - 麻黄对支气管炎大鼠模型免疫球蛋白和细胞因子水平的影响

结果见图 8。与正常对照组相比，模型对照组大鼠血清中 IgA、IgG、IgM、IL-1、IL-6 及 TNF- α 水平均显著升高($P < 0.01$)。与模型对照组相比，低剂量组 IgG、IgM 和 IL-1 显著下降，中剂量和高剂量用药组大鼠所有检测指标均显著降低($P < 0.01$)，其中，高剂量组所有监测指标与正常对照组无显著性差异($P > 0.05$)。

4. 讨论

射干麻黄汤出自东汉时期张仲景所著《伤寒杂病论》，是治疗支气管炎的经典方剂，本文抽取其中作为君药的射干 - 麻黄为研究对象，初步探究其治疗该病的作用机制。射干与麻黄的共有成分木犀草素可通过影响 PPAR γ 、IL-4 表达水平和 IFN- γ 的表达水平和 p38MAPK、一氧化氮合酶/一氧化氮等信号通路而发挥抑制气道炎症的作用[28] [29]。其中，IL-4 在慢性炎症性疾病如慢性支气管炎中的表达明显增加，并与痰中嗜酸性粒细胞相关，被认为是一种关键的呼吸道内细胞因子[30]。IFN- γ 常在呼吸道感染的外周血中表达增加，据报道它的表达与病毒的灭活相关[31] [32]。麻黄中的槲皮素则可通过减少氧化应激、调控 MMP9 和 MMP12 的表达来防止呼吸道炎症的进展。另外，槲皮素还可通过多种途径来抑制肺炎链球菌的感染[33] [34]。有研究表明山奈酚对铜绿假单胞菌、幽门螺旋杆菌等致病菌有较好的治疗作用，同时对

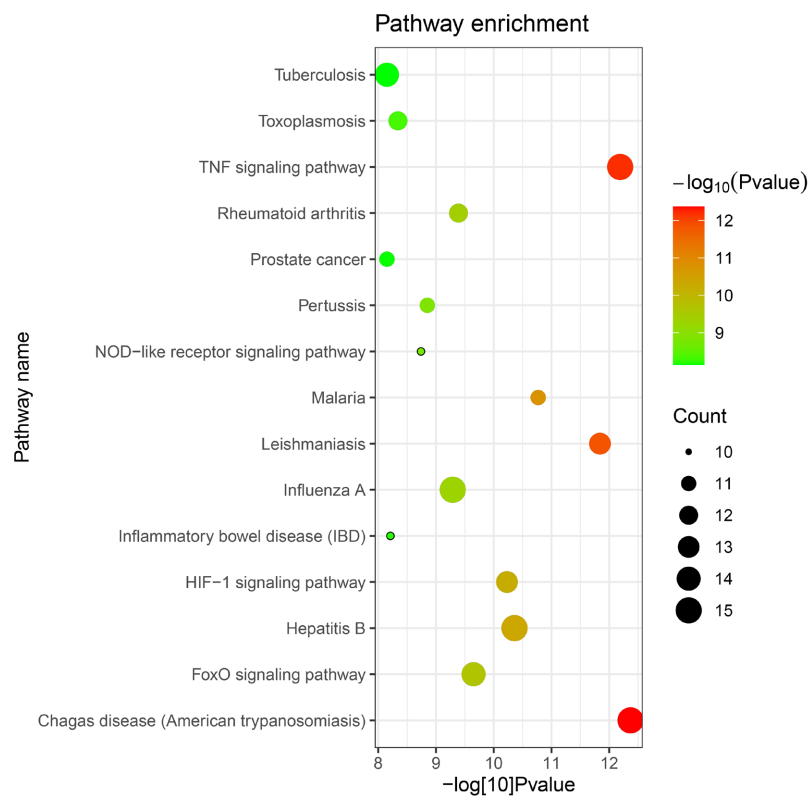


Figure 7. Enrichment analysis results of KEGG metabolic pathway. The graphic color changes from green to red, showing the significance of metabolic pathway “ $-\log_{10}pvalue$ ” from small to large; the graph size represents the number of genes enriched
图 7. KEGG 代谢通路富集分析结果。图形颜色由绿变红显示代谢途径的显著性 “ $-\log_{10}pvalue$ ” 由小至大；图形大小表示所富集到的基因数量

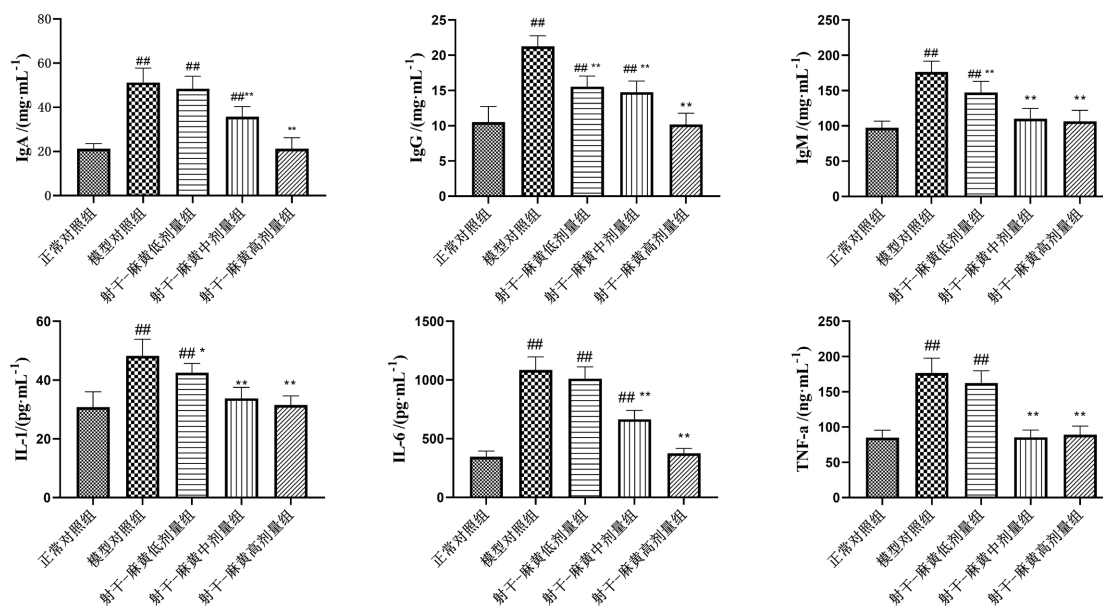


Figure 8. Effects of BR-EH on immunoglobulin and cytokine levels in bronchitis rat model. Note: compared with the control group, $\#P < 0.05$, $\#\#P < 0.01$; Compared with the model control group, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$

图 8. 射干 - 麻黄药对支气管大鼠模型免疫球蛋白和细胞因子水平的影响。注：与正常对照组相比， $\#P < 0.05$ ， $\#\#P < 0.01$ ；与模型对照组相比， $*P < 0.05$ ， $**P < 0.01$

登革热病毒及脑炎病毒有抑制作用,这与它能刺激 NF-kappa B 信号通路,增加白细胞介素 1- β 、肿瘤坏死因子的表达下调白介素 6 有关[35] [36] [37] [38]。有研究还显示异鼠李素和对金黄色葡萄球菌及链球菌有显著的抑制作用[39]。柚皮素则可通过受体在脂筏上的聚集而抑制 toll 样受体 2 介导的炎症反应[40]。

据 KEGG 通路富集结果显示,射干-麻黄通过调节肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、HIF-1 信号通路、FoxO 信号通路和 NOD 样受体等信号通路来治疗支气管炎。TNF 信号通路中 TNF-a 与 TNFR2 结合可激活 NF-kB 信号通路,产生炎症介质,增加炎症因子对呼吸道的侵袭,造成气道过敏反应。因此,调节该通路可有效治疗由过敏介质引起的支气管炎[41] [42] [43]。HIF-1 是细胞适应缺氧反应重要的转录因子,既往研究显示多种病毒能够激活 HIF-1 信号通路,诱导不同的下游效应,如改变宿主细胞代谢、促进炎症或促进病毒复制。因此,调节 HIF-1 信号通路可以促进宿主先天性和适应性免疫反应,促进病毒从宿主主体内的清除[44]。FoxO 在细胞周期的调控和程序化细胞死亡中起重要作用,其合成场所是细胞质,在细胞质中合成后细胞核中,其 DNA 结合模体与 DNA 结合诱导细胞的死亡;如果 FoxO 与其他物质结合就无法进入细胞核中,从而失去对细胞凋亡的调控,细胞存活[45]。核苷酸结合寡聚域(NOD)作为细胞内模式识别受体,通过识别细菌细胞壁胞壁酰二肽(MDP)成分参与机体免疫反应,从而介导炎症介质的释放。此外,NOD 激活后通过受体相互作用激活 NF-KB 信号通路和 MAPK 信号通路,引起炎症反应的发生[46]。

本研究结果显示肿瘤坏死因子(TNF)、白介素 6 (IL-6)、白介素 1B (IL-1B)、促分裂原激活蛋白激酶 1 (MAPK1)和血管内皮生长因子 A (VEGFA)是射干-麻黄治疗支气管炎的核心靶点,分子对接结果也显示射干-麻黄得核心成分与上述靶点结合度较高。本研究通过建立支气管炎大鼠模型验证了射干麻黄药对对免疫因子 IgA、IgG 和 IgM 以及细胞因子 IL-1、IL-6 和 TNF-a 的影响,研究结果表明射干-麻黄药对对上述免疫及细胞因子有显著的下调作用,这进一步验证了网络药理学的研究结果。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)是一种涉及到系统性炎症的细胞因子,主要由巨噬细胞分泌,主要作用是调节免疫细胞的功能,拥有强大的抗病毒效果[47]。IL-6 和 IL-1B 是一类介导炎症的白细胞介素,白细胞介素是由多种细胞产生并作用于多种细胞的一类细胞因子,在传递信息,激活与调节免疫细胞,介导 T、B 细胞活化、增殖与分化及在炎症反应中起重要作用[48]。MAPK1 是细胞内的一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在细胞增殖、分化、转化及凋亡等的过程中具有至关重要的作用[49]。有药理研究成功将 MAPK1 和 MAPK3 作为研究对象观测其抑制剂对于急性肺损伤及系统性红斑狼疮的引起的炎性反应的作用[50]。VEGF 早期亦称作血管通透因子是对血管内皮细胞具有特异性的肝素结合生长因子,可在体内诱导血管新生。临床研究结果显示,在支气管炎患者的外周血中检测到了 TNF、VEGF 及 IL-6 的升高[51]。药理研究结果表明,治疗支气管肺炎的药物均可降低上述细胞因子。

综上所述,射干-麻黄药对的潜在核心活性成分是槲皮素,木犀草素、山奈酚,柚皮素和异鼠李素,这些活性成分通过调节细胞因子的表达,作用于肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、HIF-1 信号通路、FoxO 信号通路和 NOD 样受体等信号通路,可起到抗感染、抗过敏和调节免疫的作用,使射干-麻黄汤具有治疗支气管炎的作用,动物实验的研究结果验证了上述结论。本研究该药对治疗支气管炎的分子机制研究提供基础,为该射干麻黄汤的进一步开发和利用提供理论依据。

基金项目

中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2572020DY04); 国家科技基础资源调查计划(2019FY100500); 黑龙江省博士后基金项目(LBH-Z20091); 东北林业大学大学生创新训练项目(S202010225011)。

参考文献

- [1] 王辰, 等. 呼吸病学[M]. 人民卫生出版社, 2014.
- [2] 莫嘉浩, 黄睿澜, 吴倩, 郭灵俐, 綦向军, 李金生, 等. 痰热清注射液治疗老年慢性支气管炎临床效果及安全性的 Meta 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(3): 184-190.
- [3] 侯秀玲. 京南保北地区毛细支气管炎病原学分析[D]: [硕士学位论文]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [4] 刘莎, 宋文秀. 毛细支气管炎的治疗进展[J]. 医学综述, 2019, 25(12): 2422-2426.
- [5] 杨丽, 陶玲, 田圆圆. 小儿毛细支气管炎的病原体感染情况分析[J]. 齐鲁医学杂志, 2017, 32(6): 725-727.
- [6] 韩涛. 方剂学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2020: 19.
- [7] 周正. 射干麻黄汤对急性期慢性阻塞性肺病(寒痰阻肺型)喘息症状的疗效观察[J]. 贵阳中医学院学报, 2017, 39(6): 43-47.
- [8] 景菲菲. 射干麻黄汤对老年慢性支气管炎急性发作患者的疗效及其血清炎症因子水平的影响[J]. 河南医学研究, 2020, 29(5): 894-895.
- [9] 李年火, 付超. 射干麻黄汤加减对支气管哮喘患者的效果[J]. 中外医学研究, 2020, 18(1): 29-31.
- [10] 崔静. 射干麻黄汤加减辅助治疗小儿毛细支气管炎疗效观察[J]. 实用中医药杂志, 2021, 37(3): 460-462.
- [11] 高辉. 射干麻黄汤在支气管哮喘治疗中的应用及意义分析[J]. 中国农村卫生, 2020, 12(22): 33.
- [12] 韦永娜, 王伟鹏. 射干药理作用的现代研究进展[J]. 黑龙江科技信息, 2011(19): 22.
- [13] 卓小玉, 陈晶, 田明, 刘玉婷, 逢弓一郎. 麻黄的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2021, 38(2): 80-83.
- [14] 叶晓滨. 麻黄常用药对化学成分与药理作用的研究进展[J]. 中医研究, 2021, 34(3): 57-62.
- [15] Ru, J., Li, P., Wang, J., Zhou, W., Li, B., Huang, C., 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>
- [16] 陈晶, 宋丽颖, 侯志涛. 基于网络药理学研究丹参干预心力衰竭作用机制[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(11): 9-14.
- [17] 魏欣, 周仁鹏, 刘清武, 胡伟, 鲁超. 基于网络药理学的芪参益气滴丸治疗心肌梗死机制研究[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(2): 194-201.
- [18] 刘培, 孙芮芮, 张莉丹, 王科, 王伊楠, 董征艳, 等. 基于网络药理学的四君子汤治疗 2 型糖尿病的作用机制研究[J]. 中草药, 2020, 51(6): 1548-1558.
- [19] Szklarczyk, D., Santos, A., von Mering, C., Jensen, L.J., Bork, P. and Kuhn, M. (2016) STITCH 5: Augmenting Protein-Chemical Interaction Networks with Tissue and Affinity Data. *Nucleic Acids Research*, 44, D380-D384. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1277>
- [20] Daina, A., Michielin, O. and Zoete, V. (2019) Swiss Target Prediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules. *Nucleic Acids Research*, 47, W357-W364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>
- [21] Que, W., Chen, M., Yang, L., Zhang, B., Zhao, Z., Liu, M., et al. (2021) A Network Pharmacology-Based Investigation on the Bioactive Ingredients and Molecular Mechanisms of *Gelsemium elegans Benth* against Colorectal Cancer. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21, Article No. 99. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03273-7>
- [22] Zhang, Z., Liu, J., Liu, Y., Shi, D., He, Y. and Zhao, P. (2021) Virtual Screening of the Multi-Gene Regulatory Molecular Mechanism of Si-Wu-Tang against Non-Triple-Negative Breast Cancer Based on Network Pharmacology Combined with Experimental Validation. *Journal of Ethnopharmacology*, 269, Article ID: 113696. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113696>
- [23] Stelzer, G., Rosen, R., Plaschkes, I., et al. (2020) GeneCards—The Human Gene Database. <http://www.genecards.org>
- [24] Trott, O. and Olson, A.J. (2010) AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31, 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [25] Jiao, X., Sherman, B.T., Huang, D.W., Stephens, R., Baseler, M.W., Lane, H.C., et al. (2012) DAVID-WS: A Stateful Web Service to Facilitate Gene/Protein List Analysis. *Bioinformatics*, 28, 1805-1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts251>

- [26] 杨万军, 张伟东, 王莹, 王青, 顾宜, 王荣, 等. 射干麻黄配伍对射干异黄酮类成分在大鼠体内药代动力学的影响[J]. 中成药, 2012, 34(11): 2094-2099.
- [27] 丁云录, 南敏轮, 李会影, 欧喜燕, 李晓兵, 赫玉芳. 祛痰止咳胶囊对慢性支气管炎模型大鼠的治疗作用机制研究[J]. 吉林中医药, 2021, 41(9): 1205-1208.
- [28] 黄雅菊. 木犀草素抑制哮喘大鼠气道炎症的机制研究[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2015, 16(6): 737-740.
- [29] 邹华, 石立慧, 王颖, 张宝辉. 木犀草素通过诱导型一氧化氮合酶/一氧化氮途径抑制哮喘幼鼠气道炎症[J]. 解剖科学进展, 2020, 26(2): 146-149.
- [30] Zhang, R., Luo, W., Liang, Z., Tan, Y., Chen, R., Lu, W., *et al.* (2017) Eotaxin and IL-4 Levels Are Increased in Induced Sputum and Correlate with Sputum Eosinophils in Patients with Nonasthmatic Eosinophilic Bronchitis. *Medicine*, **96**, Article No. e6492. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006492>
- [31] de Wit, M.C., Horzinek, M.C., Haagmans, B.L. and Schijns, V.E.J.C. (2004) Host-Dependent Type 1 Cytokine Responses Driven by Inactivated Viruses May Fail to Default in the Absence of IL-12 or IFN- α/β . *Journal of General Virology*, **85**, 795-803. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19605-0>
- [32] Folli, C., Chiappori, A., Pellegrini, M., Garelli, V., Riccio, A.M., De Ferrari, L., *et al.* (2012) COPD Treatment: Real Life and Experimental Effects on Peripheral NK Cells, Their Receptors Expression and Their IFN- γ Secretion. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, **25**, 371-376. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2012.06.009>
- [33] Wang, J., Song, M., Pan, J., Shen, X., Liu, W., Zhang, X., *et al.* (2018) Quercetin Impairs *Streptococcus pneumoniae* Biofilm Formation by Inhibiting Sortase A Activity. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **22**, 6228-6237. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13910>
- [34] Li, G., Shen, X., Wei, Y., Si, X., Deng, X. and Wang, J. (2019) Quercetin Reduces *Streptococcus suis* Virulence by Inhibiting SuiIysin Activity and Inflammation. *International Immunopharmacology*, **69**, 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.017>
- [35] Hofer, S., Geisler, S., Lisandrelli, R., Nguyen Ngoc, H., Ganzera, M., Schennach, H., *et al.* (2020) Pharmacological Targets of Kaempferol within Inflammatory Pathways—A Hint towards the Central Role of Tryptophan Metabolism. *Antioxidants*, **9**, Article No. 180. <https://doi.org/10.3390/antiox9020180>
- [36] Lin, S., Li, H., Tao, Y., Liu, J., Yuan, W., Chen, Y., *et al.* (2020) *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation of Membrane-Active Flavone Amphiphiles: Semisynthetic Kaempferol-Derived Antimicrobials against Drug-Resistant Gram-Positive Bacteria. *Journal of Medicinal Chemistry*, **63**, 5797-5815. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00053>
- [37] Care, C., Sornjai, W., Jaratsittisin, J., Hitakarun, A., Wikan, N., Triwitayakorn, K., *et al.* (2020) Discordant Activity of Kaempferol towards Dengue Virus and Japanese Encephalitis Virus. *Molecules*, **25**, Article No. 1246. <https://doi.org/10.3390/molecules25051246>
- [38] Yeon, M.J., Lee, M.H., Kim, D.H., Yang, J.Y., Woo, H.J., Kwon, H.J., *et al.* (2019) Anti-Inflammatory Effects of Kaempferol on *Helicobacter Pylori*-Induced Inflammation. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, **83**, 166-173. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1528140>
- [39] Jiang, L., Li, H., Wang, L., Song, Z., Shi, L., Li, W., *et al.* (2016) Isorhamnetin Attenuates *Staphylococcus aureus*-Induced Lung Cell Injury by Inhibiting Alpha-Hemolysin Expression. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **26**, 596-602. <https://doi.org/10.4014/jmb.1507.07091>
- [40] Kataoka, H., Saeki, A., Hasebe, A., Shibata, K.-I. and Into, T. (2021) Naringenin Suppresses Toll-Like Receptor 2-Mediated Inflammatory Responses through Inhibition of Receptor Clustering on Lipid Rafts. *Food Science & Nutrition*, **9**, 963-972. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2063>
- [41] 滕龙飞, 陈佳丽, 周庆伟, 王镓. 基于网络药理学和分子对接探究三拗片治疗急性支气管炎分子作用机制[J]. 中国现代中药, 2021, 23(8): 1399-1405.
- [42] 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+306.
- [43] 蒋先伟, 马战平. 苓甘五味姜辛汤治疗慢性支气管炎网络药理学研究[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(8): 175-180.
- [44] 王添全, 曹俊岭, 胡金涛, 董凌燕, 欧阳竞锋, 林美娇. 基于网络药理学探讨清咳平喘颗粒治疗急性慢性支气管炎合并慢性阻塞性肺疾病的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 160-168.
- [45] 徐阿慧. 乙脑病毒对基因表达谱和 FoxO 信号通路的调控研究[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 江西农业大学, 2017.
- [46] Fathimath, M.M., Shaikh, S.B., Jeena, T.M. and Bhandary, Y.P. (2021) Inflammatory Mediators in Various Molecular Pathways Involved in the Development of Pulmonary Fibrosis. *International Immunopharmacology*, **96**, Article ID: 107608. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107608>
- [47] 张卫民, 王欢, 邵新华. TNF- α 和 GM-CSF 在急性肺损伤患者血清中的变化及意义[J]. 广东医学, 2013, 34(18):

2834-2835.

- [48] 岳茂兴, 赵晓成, 徐冰心, 李瑛, 卞晓星, 陆洁, 等. 创伤脓毒症患者血清中 IL-12p70、TNF- α 、IL-1b、IL-6、IL-8 和 IL-10 的变化及其意义[C]//2014 第十届全国中西医结合灾害医学学术大会, 江苏省中西医结合学会灾害医学、重症医学专业委员会成立大会暨健康产业成果展示洽谈会, 常州: 医药卫生科技, 2014: 320-323.
- [49] 庞亚蓉, 席建宏, 王志旺, 杜玥, 李济阳, 丁茂鹏, 等. 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路参与哮喘气道炎症反应的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(14): 1897-1901.
- [50] 李国炜, 黎永琳, 刘云涛, 奚小土, 张忠德. 基于网络药理学和分子对接法探讨扶正救肺方治疗新冠肺炎的可能机制[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2021, 44(5): 311-318.
- [51] 郑爽. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的小青龙汤方证机制研究[D]: [硕士学位论文]. 晋中: 山西中医药大学, 2021.