

# 基于网络药理学和分子对接探讨小青龙汤合人参汤防治高原肺水肿的作用机制

马莉婷<sup>1</sup>, 马雪曼<sup>2\*</sup>, 杨文珂<sup>1</sup>, 王强<sup>1</sup>, 赵玉荣<sup>1</sup>

<sup>1</sup>青海大学医学部中医系, 青海 西宁

<sup>2</sup>青海省中藏药预防肿瘤重点实验室, 青海 西宁

收稿日期: 2023年10月30日; 录用日期: 2023年12月8日; 发布日期: 2023年12月20日

## 摘要

目的: 基于网络药理学和分子对接技术分析小青龙汤合人参汤抗高原肺水肿的作用机制。方法: 通过TCMSP获取小青龙汤合人参汤主要活性成分及其靶点; 通过OMIM、Genecards和DisGeNET数据库获取高原肺水肿主要作用靶点; 通过Venn Diagram得到小青龙汤合人参汤与高原肺水肿的共同靶点; 利用String数据库获得数据, 用Cytoscape3.9.1建立蛋白质互作(PPI)网络; 采用David数据库分析生物过程及信号通路, 采用Cytoscape3.9.1软件构建“活性成分-靶点”网络, 并运用AutoDock及Pymol对关键靶点与相应活性成分进行分子对接验证。结果: 从小青龙汤合人参汤中筛选得到159种活性成分及329个作用靶点, 与887个高原肺水肿相关靶点取交集, 得到62个共同靶点, GO功能富集分析中生物过程(BP)得到214条, 分子功能(MF)得到25条, 细胞成分(CC)得到13条; KEGG信号通路富集分析获得93条。结论: 小青龙汤和人参汤防治高原肺水肿的核心活性成分为槲皮素、山柰酚、 $\beta$ -谷甾醇等, 关键靶点为IL6、TNF、VEGFA等; 小青龙汤合人参汤防治高原肺水肿主要涉及HIF-1信号传导途径、脂质和动脉硬化、Toll样受体信号通路、TNF信号传导途径等。

## 关键词

高原肺水肿, 小青龙汤, 人参汤, 网络药理学, 分子对接

## Exploring Mechanism of Xiaoqinglong Combined with Ginseng Decoction in Preventing High Altitude Pulmonary Edema Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

\*通讯作者。

文章引用: 马莉婷, 马雪曼, 杨文珂, 王强, 赵玉荣. 基于网络药理学和分子对接探讨小青龙汤合人参汤防治高原肺水肿的作用机制[J]. 中医学, 2023, 12(12): 3482-3495. DOI: 10.12677/tcm.2023.1212518

**Liping Ma<sup>1</sup>, Xueman Ma<sup>2\*</sup>, Wenke Yang<sup>1</sup>, Qiang Wang<sup>1</sup>, Yurong Zhao<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Department of Traditional Chinese Medicine, Faculty of Medicine, Qinghai University, Xining Qinghai<sup>2</sup>Qinghai Provincial Key Laboratory of Chinese and Tibetan Medicines for Tumor Prevention, Xining QinghaiReceived: Oct. 30<sup>th</sup>, 2023; accepted: Dec. 8<sup>th</sup>, 2023; published: Dec. 20<sup>th</sup>, 2023**Abstract**

**Objective:** To analyze the mechanism of Xiaoqinglong combined with Ginseng decoction in preventing high-altitude pulmonary edema based on network pharmacology and molecular docking technology. **Methods:** The main active components and their targets of Xiaoqinglong combined with Ginseng decoction were obtained through the TCMSP, screen the active components of traditional Chinese medicine; obtain the main targets of high altitude pulmonary edema through OMIM, GeneCards, drugbank databases; obtain the common targets of Xiaoqinglong combined with ginseng decoction and high altitude pulmonary edema through Venn Diagram; use cytochrome3.9.1 software to carry out Protein-protein interaction network (PPI) analysis, to construct PPI network; use David database to analyze biological processes and signaling pathways, use Cytoscape3.9.1 software to build an “active ingredient-target” network, and use AutoDock and Pymol performs molecular docking verification on key targets and corresponding active ingredients. **Results:** 159 active ingredients and 329 targets were screened from Xiaoqinglong combined with ginseng decoction, and 887 high-altitude pulmonary edema-related targets were intersected to obtain 62 common targets; in the functional enrichment analysis of GO, 214 biological processes (BP), 25 molecular functions (MF) and 13 cellular components (CC) were obtained. 93 KEGG signal pathways were obtained by enrichment analysis **Conclusion** Quercetin, kaempferol,  $\beta$ -sitosterol in Xiaoqinglong combined with Ginseng decoction may be the core compounds for treating diseases, and gene targets such as IL6, TNF, and VEGFA are the best target options for diseases. Xiaoqinglong combined with Ginseng decoction may be involved in the HIF-1 signaling pathway, lipids and atherosclerosis, Toll-like receptor signaling pathway, and TNF signaling pathways in treating HAPE.

**Keywords****High Altitude Pulmonary Edema, Xiaoqinglong Decoction, Ginseng Decoction, 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**

高原肺水肿(HAPE)是一类继发于缺氧的非心源性肺水肿,是高海拔地区导致死亡的常见原因,该病发病急、进展迅速、且病死率较高,严重危害了高原旅居和作业人群的生命安全[1]。目前针对HAPE的治疗,通常采用一般治疗如迅速脱离低氧环境、氧疗;西药治疗如低塞米松[2]、硝苯地平[3]、氨茶碱[4]等药物。而近年来,我国中医药临床与科研工作者为HAPE的防治也做出了巨大贡献,如单味中药红景天[5]、蕨麻[6]、川芎嗪等药物[7]。小青龙汤是解表散寒,温肺化饮的经典方剂,出自东汉张仲景《伤寒杂病论》的经典方剂由麻黄、芍药、细辛、干姜、甘草、桂枝(去皮)、五味子、半夏,共8味药材组成,本方用麻黄、

桂枝相须为君药，发汗散寒以解表邪，且麻黄又能宣发肺气而平喘咳，桂枝温阳以利内饮之化。干姜温肺化饮的同时其温性亦有助于除表寒，细辛性善走窜，既走表又达里为臣药，温肺化饮，兼助麻桂解表；五味子味酸而收敛酸敛护肺，芍药味酸而敛阴酸敛合营，方中用此二药是为防诸药温燥之性伤津。半夏燥湿化痰，和胃降逆，亦为佐药；炙甘草益气和中，调和诸药；人参汤出自于张仲景的《金匮要略》，由人参、甘草、干姜、白术组成，方中用干姜、人参君臣相配，温化中焦脾胃之阳气；以白术为佐药，健脾燥湿；炙甘草为使药，和中益气。四药相配，温补燥和，振奋脾胃之阳气，增强运化升降功能。且此方目前有药理学研究证明它具有对血管内皮的保护作用、抑制炎症反应[8]。小青龙汤合人参汤防治 HAPE 关键在于温肺化饮、温阳散寒，遵循“急则治其标”、“病痰饮者，当以温药和之”的治则治法。目前大量药理学研究证实小青龙汤具有局部抗炎、止咳平喘等作用[9] [10] [11]，实验研究得出小青龙汤可以通过抑制 TGF- $\beta$ 1 通路的炎症蛋白 Smad2、Smad3 的表达从而减轻咳嗽变异性哮喘症状[12]；有临床研究表明小青龙汤联合信必可都保能通过降低患者血清炎症因子水平，改善气道重塑和免疫功能，从而减轻患者的哮喘[13]，并且可以通过改善自主神经平衡改善慢性心衰的临床症状[14]。但应用于 HAPE 的实验研究十分缺乏。小青龙汤合人参汤的有效成分众多、作用靶点繁复、具体作用机制尚不完全清楚。

网络药理学为中药组方应用于多种疾病的机制提供了通道[15]。其融合了系统生物学和多向药理学的思想，通过构建“药物-靶点-疾病”之间的复杂网络分析药物的作用机制，使药理研究由传统寻找单一靶点转向综合网络分析[16]。中药所含化学成分较复杂和药理作用具有多靶点多层次的特点，与网络药理学具有天然的兼容性。网络药理学能够从整体性分析和阐述中药复方的作用机理，有利于推动中药复方的深入研究和扩大临床适应症的发展[17]。分子对接技术是评估有机小分子配体与靶标蛋白相互作用的方法；因此在网络药理学和分子对接基础上分析小青龙汤合人参汤的预防 HAPE 的作用机制。本研究采用网络药理学方法，从整体角度系统分析二者在网络中特定节点的相互作用关系，从而探索药物与机体的相互关联，揭示可能的作用机制，并采用分子对接技术对筛选出的主要活性成分和关键靶点进行结合活性验证，为小青龙汤合人参汤的临床应用及深入研究提供依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 小青龙汤合人参汤活性成分的收集和筛选

小青龙汤合人参汤由麻黄、芍药、细辛、干姜、甘草、桂枝(去皮)、五味子、半夏、人参、白术 10 味中药组成。检索 TCMSP 数据库[18] (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)得到全部化学成分，以口服生物利用度(Oral Bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ ，类药性(Drug-Likeness, DL)  $\geq 0.18$  作为筛选条件，筛选结束后，为标准化蛋白质靶点信息，统一在 Uniport 蛋白质数据库(<https://www.uniprot.org>)将化合物作用的蛋白质靶点进行规范，物种来源为“Homo sapiens”，剔除重复和非人源的靶基因及无效靶点，得到药物成分靶基因。

### 2.2. 高原肺水肿疾病相关靶点筛选

以“high altitude pulmonary edema”为关键词，检索 Gene Cards 数据库(<https://www.genecards.org>)、OMIM 数据库(<http://www.omim.org>)和 DisGeNET 数据库(<https://www.disgenet.org/>)中 HAPE 相关的作用基因去除重复项后，利用 Venny2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)在线工具进行小青龙汤合人参汤作用靶点和 HAPE 靶点的映射并绘制韦恩图。合并 3 个疾病数据库靶点后，删除重复值得到 HAPE 的潜在靶点。

### 2.3. 构建“中药-活性成分-靶点”网络

使用 Cytoscape3.9.1 软件构建小青龙汤治疗 HAPE 的“中药-活性成分-靶点”网络，网络图中的节点分别为药物名称、化学成分、潜在靶点。其中化学成分与潜在靶点之间有相互作用关系的以边相连。

## 2.4. “小青龙汤合人参汤 - 疾病 - 靶点”的蛋白质 - 蛋白质相互作用(Protein-Protein Interaction, PPI)网络构建与分析

将小青龙汤合人参汤治疗 HAPE 的潜在作用靶点输入到 STRING 数据库中(<https://string-db.org/>), 物种设置为“Homo sapiens”, 设定相互作用阈值为“medium confidence = 0.4”, 并隐藏游离节点, 其他设置保持默认, 进行 PPI 分, 获取 PPI 网络并保存为 TSV 文件格式。获取的数据导入 Cytoscape Version3.9.1 软件进行可视化分析。通过拓扑属性分析, 计算 PPI 网络节点的度值(degree)、介度中心性(betweenness centrality)、紧密度中心性(closeness centrality)、局部平均连通性(LAC)和网络整体属性值(Network)进行计算。并以度值中位数、介度中心性中位数和紧密度中心性中位数、局部平均连通性中位数和网络整体属性值中位数为阈值, 筛选符合上述参数条件的靶点作为小青龙汤合人参汤治疗 HAPE 的候选关键作用靶点。

## 2.5. “小青龙汤合人参汤 - 疾病 - 靶点”的 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

采用 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对 PPI 网络中的蛋白质进行基因本体(Gene Ontology, GO)生物学功能富集分析和京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析, 以了解小青龙汤合人参汤对的主要成分对于 HAPE 的 GO 功能和药对主要成分的靶标蛋白在信号通路中的作用, 利用微生信(<http://bioinformatics.com.cn/>)在线工具对 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析结果进行可视化处理, 绘制气泡图。GO 是根据现有研究对各种生物基因和蛋白质功能进行限定和描述, 主要包括: 生物过程(Biological Processes, BP)、细胞组分(Cellular Component, CC)和分子功能(Molecular Function, MF) 3 个部分。KEGG 数据库是基于基因组测序和其他高通量实验技术从基因水平系统描述高级生物功能和生物系统(如细胞、生物和生态系统)的实用程序数据库资源[19]。

## 2.6. 活性成分与关键靶点的分子对接

选取小青龙汤合人参汤的主要活性成分与核心靶点蛋白进行分子对接。从 PDB 数据库中下载靶点蛋白的 3D 结构, 下载靶点蛋白原则如下: ① 为人源蛋白; ② 优先选择分辨率高的结构; ③ 优先选择带有原小分子配体的晶体复合物; ④ 优先选择 X-晶体衍射方法得到的结构。从 TCMSp 数据库中下载活性成分化合物结构, 并保存为 mol2 格式。利用 PYMOL 软件对靶点蛋白进行去水除配体, 运用 AutoDock1.5.6 软件将活性成分及靶点蛋白进行加氢、加电荷, 再运行 Auto dockvina [20]软件进行分子对接验证, 使用 Pymol 软件把对接结果进行图片展示。

## 3. 结果

### 3.1. 小青龙汤合人参汤活性成分的收集和筛选

通过 TCMSp 数据库检索得到小青龙汤合人参汤所有活性成分及相关靶点, 筛选后共收集到 157 个药物有效活性成分, 其中麻黄 23 个、芍药 8 个、细辛 8 个、干姜 5 个、甘草 88 个、桂枝(去皮) 7 个、五味子 8 个、半夏 11 个, 人参 17 个, 白术 5 个, 去除无效和重复后得到 329 个潜在作用靶点。两种以上药材中有 12 个重复的活性成分, 见表 1。

Table 1. Drug active ingredient information

表 1. 药物活性成分信息

序列	MOL ID	活性成分	OB%	DL	来源
A1	MOL000358	Beta-sitosterol	36.91	0.75	人参、桂枝、干姜、芍药、半夏、麻黄

## Continued

A2	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	人参、半夏、麻黄
A3	MOL000211	Mairin	55.38	0.78	甘草、芍药
A4	MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24	麻黄、桂枝、芍药
B1	MOL000422	Kaempferol	41.88	0.24	人参、麻黄、芍药、细辛、甘草
B2	MOL005317	Deoxyharringtonine	39.27	0.81	人参、五味子
B3	MOL004328	Deoxyharringtonine	59.29	0.21	甘草、麻黄
B4	MOL001755	24-Ethylcholest-4-en-3-one	36.08	0.76	麻黄、半夏
C1	MOL000359	Sitosterol	36.91	0.75	干姜、甘草、桂枝、芍药
C3	MOL000098	Quercetin	46.43	0.28	甘草、麻黄
C4	MOL004576	taxifolin	57.84	0.27	麻黄、桂枝
C2	MOL003501	[(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	62.52	0.31	麻黄、桂枝

### 3.2. HAPE 的作用靶点的预测

以“high altitude pulmonary edema”为关键词，检索 OMIM 数据库、Gene Cards 数据库和 DisGeNET 数据库，合并 3 个疾病数据库靶点后，删除重复值，得到 HAPE 潜在作用靶点 887 个，其中 OMIM 数据库 367 个靶点，Gene Cards 数据库获得的靶点 Score 值最大为 143.71，最小为 1.88，中位数为 4.51。并设定 Score > 4.51，筛选得到高原肺水肿潜在作用靶点共 519 个靶点，DisGeNET 数据库 56 个靶点。运用 venny 在线绘图工具共计得到交集靶点基因 62 个，作为小青龙汤合人参汤作用于 HAPE 的作用靶点；如(图 1)。

### 3.3. “中药 - 活性成分 - 靶点”网络的构建

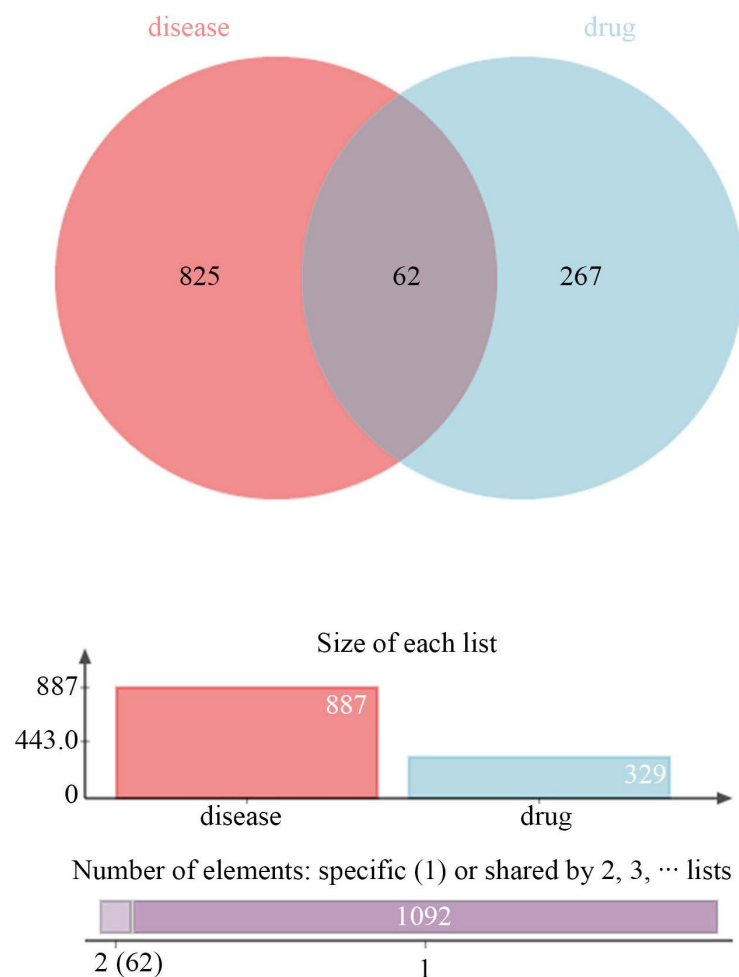
将小青龙汤的 157 个活性成分及对应的靶点导入 Cytoscape3.9.1 软件，构建“活性成分 - 靶点”网络图，绘制的“中药 - 活性成分 - 靶点”网络图中共包括 496 个节点，3271 条边，见图 2。药物活性成分节点图标形状越大表明其活性成分作用越大。网络节点连接度前十的活性成分见表 2。

### 3.4. 蛋白质 - 蛋白质相互作用(PPI)网络的构建与分析

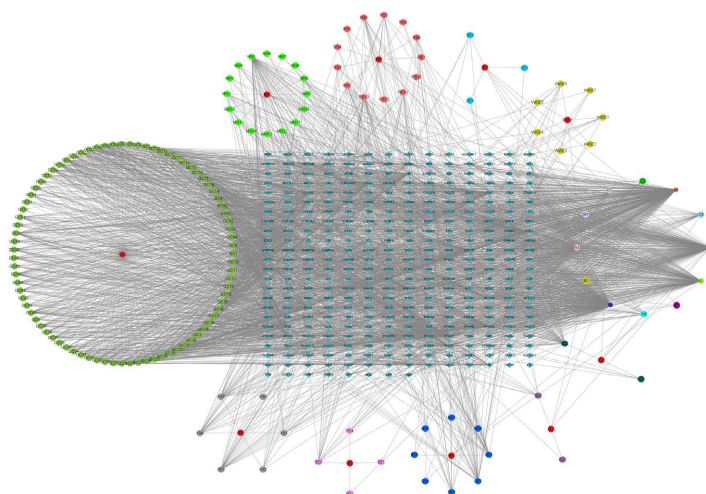
将 2.2 部分得到的 62 个交集靶点导入 String 数据库中并将评分条件设置为 >0.40，得到小青龙汤合人参汤治疗 HAPE 的 PPI 网络，该网络图中共有 61 个节点，1434 条边。利用 Cytoscape 软件的 CytoNCA 分析，根据五个中心度量值的中位数进行靶点筛选，分别是(DC > 26、BC > 18.012、CC > 0.6、LAC > 34.782 和 Network > 37.533)，构建核心节点 PPI 网络并用 Cytoscape3.9.1 软件进行美化展示，最终获得 23 个关键靶点 PPI(见图 3)，这些基因分别是：MMP9、CASP8、SERPINE1、MPO、PPARA、ERBB2、IL6、HIF1A、ESR1、VEGFA、CAT、IL10、CYCS、AKT1、IL1B、TNF、PPARG、NOS3、EGFR、CXCL8、ADIPOQ、HMOX1、CAV1，这些靶点在网络中的信息见表 3，说明这些靶点在小青龙汤合人参汤治疗 HAPE 的病理过程中发挥着重要的作用。

**Table 2.** Top 10 active ingredients of drugs with degree value  
**表 2.** 度值排名前十的药物有效成分

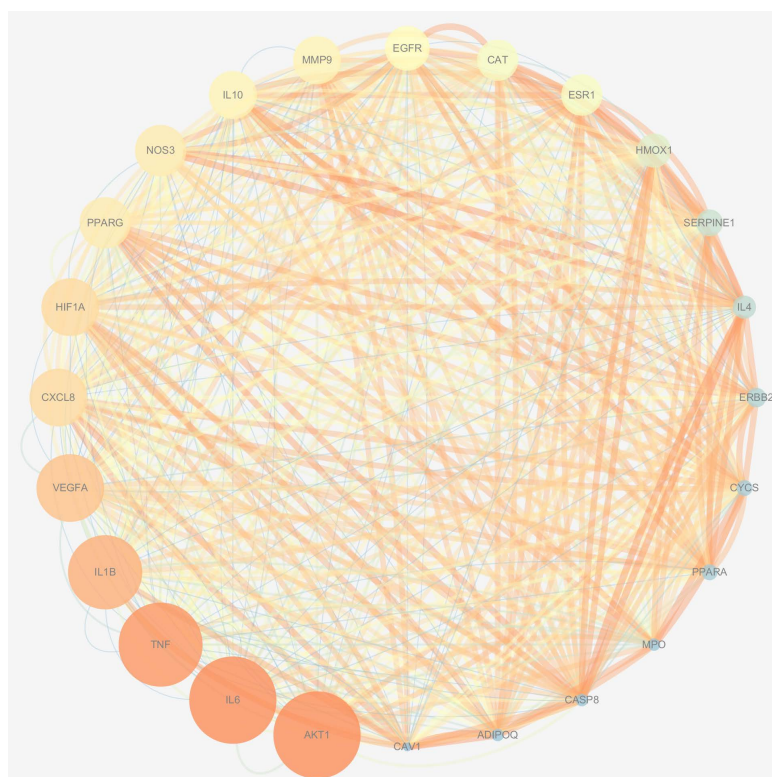
MOL ID	活性成分	度值	介值	紧密度
MOL000098	Quercetin (槲皮素)	299	0.338118	0.47641
MOL000422	Kaempferol (山柰酚)	242	0.068129	0.41284
MOL000358	beta-sitosterol ( $\beta$ -谷甾醇)	210	0.031965	0.38702
MOL000449	Stigmasterol (豆甾醇)	161	0.108187	0.42343
MOL004328	Naringenin (柚皮素)	72	0.080812	0.37757
MOL000006	Luteolin (木樨草素)	56	0.072952	0.39631
MOL011169	Peroxyergosterol (过氧麦角甾醇)	49	0.145435	0.38461
MOL003896	7-Methoxy-2-methyl isoflavone (7-甲氧基异黄酮)	42	0.012450	0.38823
MOL000392	Formononetin (芒柄花黄素)	37	0.026570	0.38106
MOL000354	Isorhamnetin (异鼠李素)	34	0.019241	0.38164



**Figure 1.** Intersection of drug and disease targets  
**图 1.** 药物 - 疾病靶点交集图



**Figure 2.** Network diagram of “drugs-active ingredients-targets”  
**图 2.** “药物 - 活性成分 - 靶点” 网络图



**Figure 3.** PPI protein mapping (The larger and darker nodes in the above graph indicate a larger node degree value)  
**图 3.** 核心靶点 PPI 可视化网络图(上图节点越大、颜色越深说明节点 degree 值越大)

**Table 3.** 23 key targets  
**表 3.** 23 个关键靶点

序号	基因名	度值(degree)	紧密中心性(cc)
1	IL6 (白细胞介素 6)	100	0.84507
2	AKT1 (蛋白激酶)	100	0.85714

## Continued

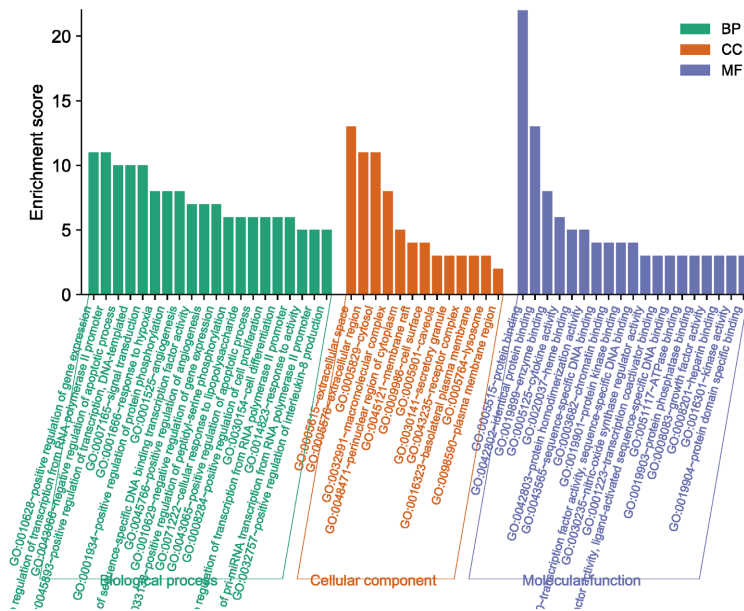
3	TNF (肿瘤坏死因子)	98	0.84507
4	IL1B (白细胞介素 1 $\beta$ )	92	0.8
5	VEGFA (血管内皮生长因子)	88	0.77922
6	HIF1A (缺氧诱导因子 1 $\alpha$ )	82	0.75
7	CXCL8 (重组人趋化因子)	82	0.75
8	PPARG (过氧化物酶体增生激活受体 $\gamma$ )	78	0.73170
9	NOS3 (一氧化氮合酶 3)	78	0.73170
10	MMP9 (基质金属蛋白酶)	76	0.71428
11	IL10 (白细胞介素 10)	76	0.71428
12	EGFR (表皮生长因子受体)	74	0.72289
13	ESR1 (雌激素受体基因)	72	0.71428
14	CAT (肉碱乙酰转移酶)	72	0.69767
15	HMOX1 (血红素加氧酶 1)	68	0.68965
16	SERPINE1 (纤溶酶原激活物抑制剂-1)	64	0.67415
17	ERBB2 (酪氨酸激酶受体 2)	60	0.66666
18	PPARA (过氧化物酶体增殖物激活受体)	58	0.63829
19	CYCS (细胞色素 C)	58	0.64516
20	CASP8 (胱冬酶 8)	56	0.63829
21	MPO (髓过氧化物酶)	56	0.63829
22	ADIPOQ (人脂联素基因)	56	0.64516
23	CAV1 (窖蛋白)	54	0.63829

### 3.5. “小青龙汤 - HAPE - 靶点”的 GO 和 KEGG 富集分析

#### 3.5.1. GO 功能富集分析

使用 DAVID 数据库对 23 个潜在作用靶点进行生物功能富集分析, 共有 252 个 GO 数据条目( $P < 0.05$ )。生物学过程(Biological Process, BP)共有 214 个条目, 根据通路上富集到靶点数目多少来看, 主要有基因表达的正向调节、RNA 聚合酶 II 启动子的转录进行正向调节、对细胞凋亡过程的负向调节、对转录的正向调控, DNA 诱导的转录、信号转导、对缺氧的反应、对蛋白质磷酸化的正向调节、血管生成、对序列特异性 DNA 结合转录因子活性的正向调节、对血管生成的正向调节、基因表达的负向调节、肽基 - 丝氨酸磷酸化的正向调节、细胞对脂多糖的反应、对细胞凋亡过程的正向调节、细胞增殖的正向调控、细胞分化、对 RNA 聚合酶 II 启动子的转录进行负向调节、对活动的反应、RNA 聚合酶 II 启动子对 pri-miRNA 转录的正向调控等生物过程; 分子功能(Molecular Function, MF)相关条目有 25 个, 主要涉及到蛋白结合、相同的蛋白质结合、酶结合、细胞因子活性、血红素结合、蛋白质的同质化活性、序列特异性 DNA 结合、染色质结合、蛋白激酶结合等分子功能; 细胞组成(Cell Component, CC)相关条目有 13 个, 主要有细胞外空间、细胞外区域、细胞膜、大分子复合体、细胞质核周区、膜筏、细胞表面、质膜穴样内陷、分泌颗粒、受体复合体、基底质膜、溶酶体、质膜区等细胞组成, 对 BP、MF 中的前二十条及 CC 中的全部条目进行可视化分析, 见图 4。





**Figure 4.** GO enrichment analysis of potential therapeutic targets (x-axis represents GO entries, y-axis represents number of targets)

**图 4.** 潜在治疗靶点的 GO 功能富集分析(x 轴代表 GO 条目, y 轴代表靶点数目)

### 3.5.2. KEGG 通路富集分析

通过 David 数据库对 23 个核心靶点进行了 KEGG 富集分析, 结果发现共有 93 条信号通路与潜在靶点紧密联系, 结果图展示了前 30 条信号通路, 有 HIF-1 信号传导途径、脂质和动脉硬化、Toll 样受体信号通路、TNF 信号传导途径、癌症信号通路、IL-17 等信号通路。见图 5。

### 3.6. 分子对接

将小青龙汤合人参汤度值最高的 5 个主要活性成分(Quercetin (槲皮素)、Kaempferol (山柰酚)、beta-sitosterol ( $\beta$ -谷甾醇)、Stigmasterol (豆甾醇)、Naringenin (柚皮素))与 PPI 中度值最高的 5 个核心靶点(IL6、AKT1、TNF、IL1B、VEGFA)逐一进行分子对接, 由表 4 可见, 结合能越小, 说明成分和靶点之间的结合越稳定。此项研究中我们运用 PyMOL 2.4.0 软件和 AutoDock 的可视化软件进行了分子对接(表 4), 对于结合能较好的组合进行可视化见图 6。分子对接结果显示, 网络药理学方法所确定的药物活性成分与核心靶点所对应的蛋白受体均有良好的结合能力, PyMOL 软件可视化结果表明, 药物活性成分与核心靶点间可以形成稳定的氢键(黄色虚线), 换言之, 配体和受体之间可形成稳定的复合化学结构。通过上述所有分析, 山柰酚、 $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇、槲皮素和柚皮素与关键靶点 IL6、AKT1、TNF、IL1B、VEGFA 可能为防治 HAPE 的关键成分。

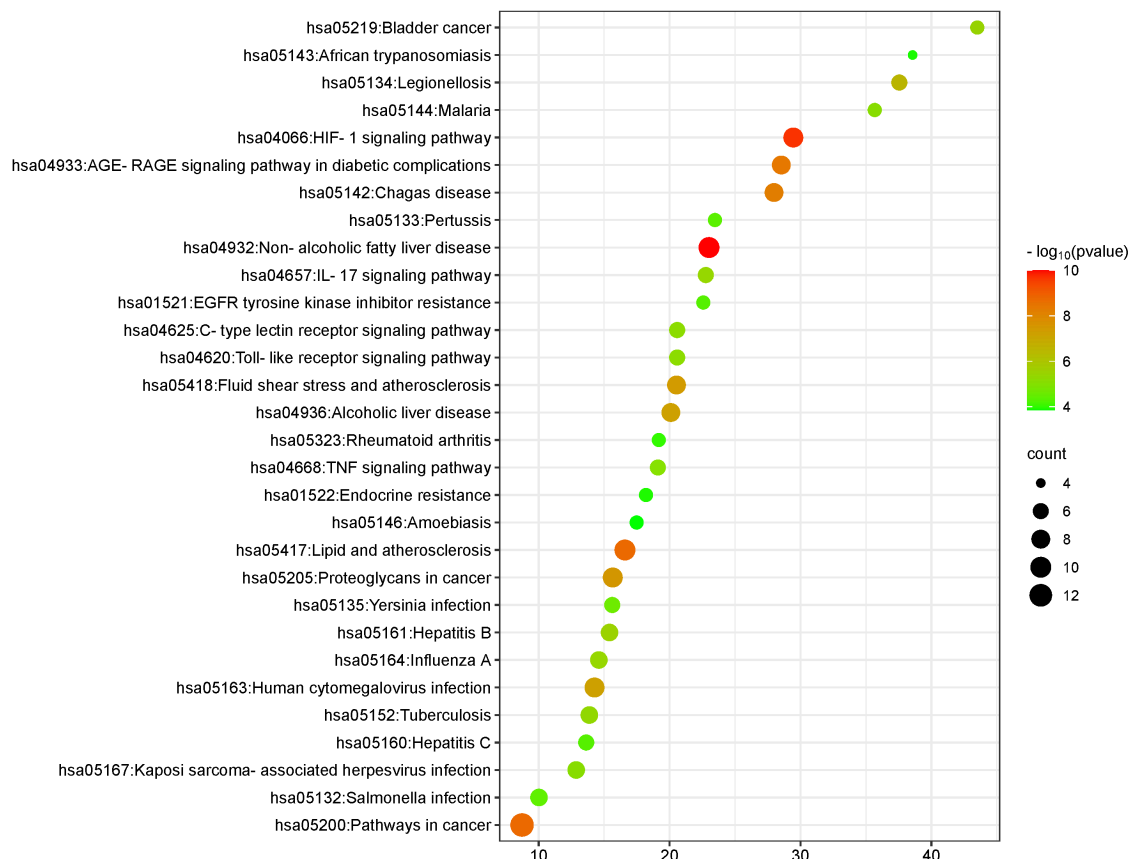
**Table 4.** Binding energy of core effective components and core targets

**表 4.** 核心有效成分与核心靶点结合能

关键靶点	活性成分 结合能(KJ*mol-1)				
	槲皮素	山柰酚	$\beta$ -谷甾醇	豆甾醇	柚皮素
IL6	-3.52	-3.37	-4.1	-5.11	-3.36
AKT1	-5.83	-2.16	-4.26	-3.18	-2.33
TNF	-2.21	-2.6	-3.59	-3.9	-3.28

Continued

IL1B	-4.07	-5.41	-4.62	-5.56	-4.66
VEGFA	-2.29	-3.44	-5.11	-3.9	-3.64



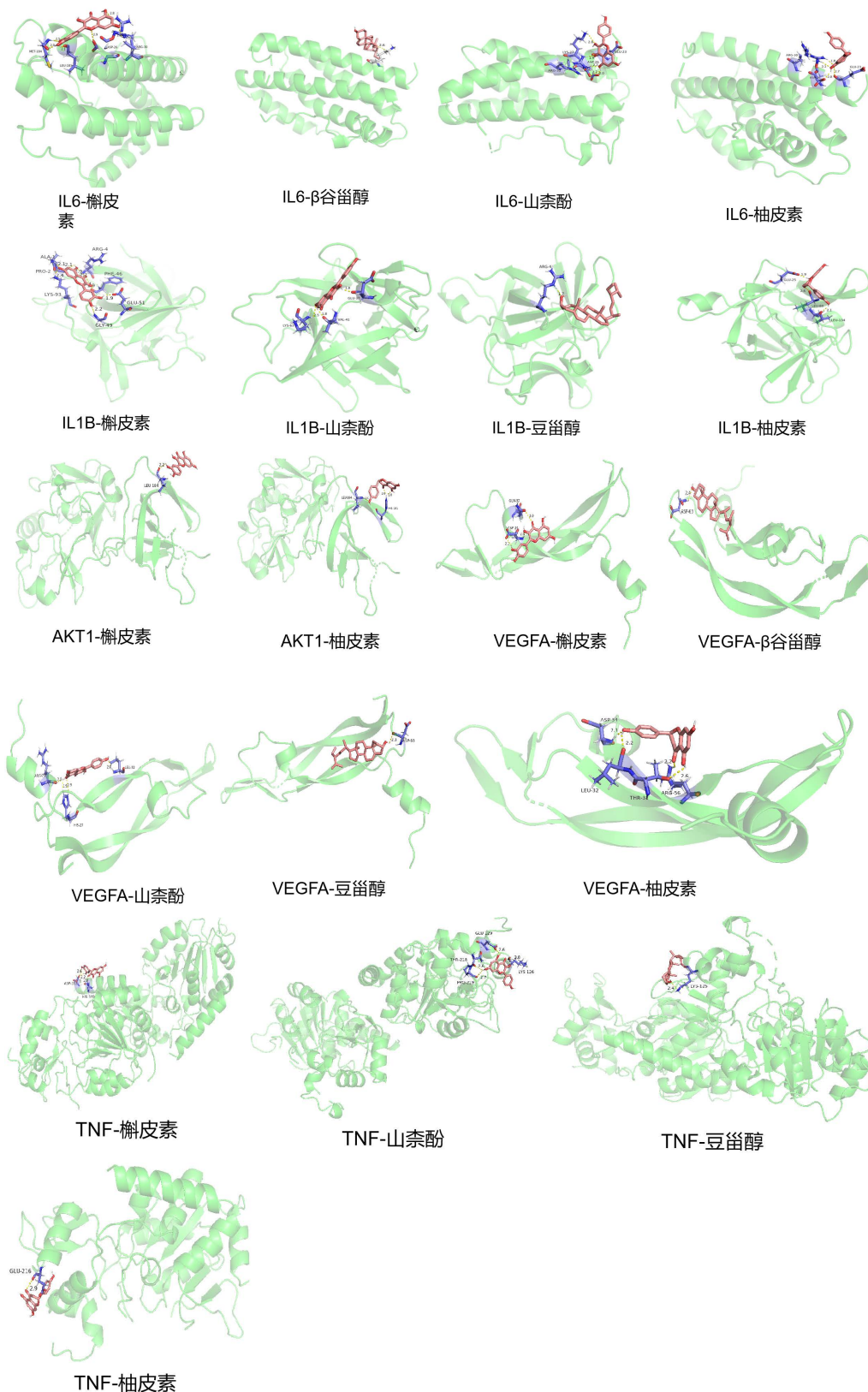
注：横坐标代表富集靶点的数量，纵坐标代表相应靶点富集的结果，气泡大小表示富集的基因数目，气泡越大，代表富集在信号通路上的基因数目越多；气泡颜色越深，代表P值越小， $P < 0.01$ 。

Figure 5. Enrichment diagram of KEGG pathway

图 5. KEGG 通路富集分析

#### 4. 讨论

青藏高原具有高海拔、缺氧、寒冷等地理特点，随着西部大开发等项目的推进，越来越多的人来到青藏高原地区旅居、工作，而高原肺水肿为代表的高原病发病率居高不下，严重威胁着初入高原或二进高原人群的健康。前期，课题组在研究 HAPE 时以中医理论为基石，以高原特殊气候特征为条件，总结出 HAPE 属于痰饮病中“支饮”的范畴，病机总属为“肺脾气虚，寒邪侵袭、痰饮停肺”，其病位在肺、脾、胃，病因包括内伤和外邪，内伤的形成是由于高原清气不足、寒冷的自然环境导致机体正气虚弱，宗气的产生主要为水谷精气与呼吸清气相合所产生，高原缺氧故呼吸清气不足，影响宗气运行，寒冷的高原环境易损伤人体的阳气，后天之本脾胃收到侵袭，从而形成肺脾气虚的基础。“邪之所凑，其气必虚”，肺脾气虚则卫外不固，极易感受寒邪，寒邪犯表袭肺导致津液气化输布失常而成水饮，故肺脾气虚是 HAPE 的发病基础，寒邪侵袭、水饮停肺是 HAPE 发生的关键病机。我们发挥高原中医的优势，对 HAPE 进行中医辨证论治，寻找病证统一的方药，以小青龙汤合人参汤主之。



**Figure 6.** Docking results of molecules with optimal binding energy  
**图 6.** 结合能最优的分子对接结果

#### 4.1. 活性成分分析

HAPE 的发病机制包括无症状肺泡积液, 肺水清除率降低和缺氧性肺动脉高压等[21]。研究中连接度最高的槲皮素可以通过减轻炎症和刺激  $\beta 2$ -AR 来增加缺氧大鼠的肺泡清除率[22], 且通过槲皮素的预处理, 能够稳定大鼠在缺氧环境诱导下的血气和血液学参数, 并保持肺泡上皮的完整性[23]; 山奈酚能够通过抑制 IL6、TNF- $\alpha$  的表达, 减轻小鼠放射性肺损伤的程度[24], 且通过抑制 IL-1 $\beta$ 、PTEs、iNOS、TNF- $\alpha$  等促炎因子的表达来发挥对脂多糖导致小鼠急性肺损伤的保护效应[25], 山奈酚可能通过下调 PI3K/AKT 信号通路减轻缺氧导致的氧化损伤和炎症反应, 从而预防低压低氧诱导的急性高原肺水肿的发生[26]。 $\beta$ -谷甾醇能够保护脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤, 其保护机制与下调炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的表达有关[27]; 另有研究表明  $\beta$ -谷甾醇能够抑制肺组织细胞凋亡、降低炎症反应及减轻肺纤维化[28]。豆甾醇可通过调控 MAPK3、PRKACA 等靶点调控雌激素通路降低炎症[29]。柚皮素可通过上调 Jagged1、抑制 Notch1、维持 Th17/Treg 介导的促炎及抗炎反应平衡, 降低哮喘病理损伤[30]。综上, 小青龙汤合人参汤的活性成分可通过增加肺水清除率、下调炎症相关表达、抑制肺组织细胞凋亡等来预防 HAPE。

#### 4.2. 相关靶点分析

通过 PPI 网络分析发现, 小青龙汤合人参汤活性成分作用于多个靶点, 且各个靶点之间发挥相互协调作用。研究表明, 小青龙汤可以通过提高肺水转运相关蛋白 AQP1, AQP5 和  $\alpha$ -ENaC 的表达, 减轻寒饮蕴肺证大鼠病理模型中肺水肿的状态, 抑制肺部炎症状态, 改善大鼠肺功能[31]。经过筛选关键靶点为 IL6、AKT1、TNF、IL1B、VEGFA、HIF1A、CXCL8、PPARG、NOS3、MMP9、IL10 等。研究表明: IL6 [32]、TNF [33]、HIF1A [34]、MMP9 [35]、等都是导致缺氧性肺动脉高压的重要靶点, 在肺系疾病的治疗当中, 可通过调控 TNF- $\alpha$ 、IL-6、VEGF 等细胞因子, 有效控制肺部炎症, 提高肺部毛细血管的通透性。HAPE 患者血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6、ET-1 水平较健康患者对照组明显升高[36]。

#### 4.3. GO 分析和 KEGG 分析

GO 分析中, BP 主要有对缺氧的反应、对蛋白质磷酸化的正向调节、血管生成等生物过程; MF 主要涉及到相同的蛋白质结合、酶结合等分子功能。KEGG 富集结果 HIF-1 信号传导途径、脂质和动脉硬化、Toll 样受体信号通路、TNF 信号传导途径。其中 HIF-1 信号通路, 在机体对低氧浓度或缺氧应答中至关重要, 同时在炎症反应中具有重要作用[37]。在我们的研究中 IL6、NOS3、VEGFA、HIF1A、ERBB2、HMOX1、EGFR 共 9 个关键靶点集中在 HIF-1 信号通路上, 小青龙汤合人参汤与高原肺水肿(HAPE)与 HIF-1 信号通路的调节相关, 因此我们预测 HIF-1 信号通路可以作为小青龙汤合人参汤防治 HAPE 的分子机制。

#### 4.4. 分子对接分析

分子对接是通过受体的特征以及受体和靶点化合物分子之间的相互作用方式, 来进行药物设计的方法。主要研究配体和受体相互作用, 并预测其结合模式和亲和力的一种理论模拟方法; 我们的结果显示, 核心成分与核心靶基因具有较好的结合活性, 小青龙汤合人参汤可能通过结合核心靶基因发挥防治 HAPE 的作用。

### 5. 结论

本研究利用网络药理学、分子对接方法展示了小青龙汤合人参汤通过槲皮素、山奈酚、 $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇等多种成分作用于 IL6、VEGFA、TNF、AKT1、IL1B 等靶点, 从而 HIF-1 信号传导途径、脂

质和动脉硬化、Toll 样受体信号通路、TNF 信号传导途径、癌症信号通路、IL-17 等信号通路等信号通路干预高原肺水肿的发生和发展,初步得出小青龙汤合人参汤预防高原肺水肿具有多通路、多靶点协同治疗的特点,也为后续验证小青龙汤合人参汤是否通过 HIF-1 信号通路预防高原肺水肿提供了参考。

## 参考文献

- [1] 刘子泉, 崔欢欢, 刘燕青, 郭丽琼, 孟祥艳, 赵艳梅, 柴慈婧, 毕珣, 樊毫军. 高原肺水肿的诊断、治疗与预防[J]. 中华灾害救援医学, 2021, 9(8): 1162-1166. <https://doi.org/10.13919/j.issn.2095-6274.2021.08.006>
- [2] 胡小艳, 汤恩杰. 地塞米松对高原肺水肿大鼠的影响研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25(4): 56-62.
- [3] 崔欢欢, 刘子泉, 刘燕青, 马福才, 张德平, 张林林, 侯世科, 樊毫军. 硝苯地平治疗高原肺水肿疗效的系统评价[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2021, 30(4): 72-75. <https://doi.org/10.16548/j.2095-3720.2021.04.018>
- [4] 郑必海, 周先利, 杨清海, 李素芝. 氨茶碱治疗高原肺水肿的机理及其临床应用研究进展[J]. 高原医学杂志, 2005, 15(3): 59-61.
- [5] 王小博, 侯娅, 王文祥, 艾小鹏, 胡尧, 陈小睿, 张静, 孟宪丽, 张艺. 藏药红景天的药理作用及其机制研究进展[J]. 中国药房, 2019, 30(6): 851-856.
- [6] 石继鹏, 李晓琳, 陈乐乐, 陶文迪, 丁玲, 张继, 李茂星. 蕨麻多糖对大鼠高原脑水肿和肺水肿的保护作用[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(7): 542-548. <https://doi.org/10.13220/j.cnki.jipr.2020.07.009>
- [7] 李友伟, 刘蔚红, 刘邦国, 李明春, 刘杨, 苗青, 向卓. 川芎嗪对大鼠低压低氧性肺动脉高压的预防作用及初步机制探讨[J]. 中国药师, 2017, 20(4): 607-611.
- [8] 白秀云, 王伟明, 张树明, 白海玉. 人参汤提取物对血管内皮细胞保护作用的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2006, 22(3): 11-13.
- [9] 钟常英, 李欣宇, 徐慧贤. 基于网络药理学的小青龙汤治疗变应性鼻炎作用机制探讨[J]. 世界中医药, 2021, 16(22): 3310-3315.
- [10] 王成, 刘磊, 张传涛, 曾珠, 董朝强, 黄青松. 小青龙汤治疗慢性支气管炎疗效及机制研究概况[J]. 中医药临床杂志, 2020, 32(6): 1186-1189. <https://doi.org/10.16448/j.cjctm.2020.0651>
- [11] 曾晓华. 小青龙汤合三子养亲汤对表寒里饮型 COPD 患者 FeNO 及血清细胞因子水平的影响[J]. 医学理论与实践, 2023, 36(20): 3468-3470. <https://doi.org/10.19381/j.issn.1001-7585.2023.20.016>
- [12] 解静, 高杉, 李琳, 徐一兰, 高树明, 于春泉. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. 中草药, 2019, 50(10): 2257-2265.
- [13] 任宇哲, 万军, 于宙, 等. 基于糖皮质激素受体介导 TGF- $\beta$ 1/Smad3 信号轴探讨小青龙汤加减合二陈汤治疗咳嗽变异性哮喘的药效及机制[J]. 中医药导报, 2021, 27(8): 10-14.
- [14] 常彩虹, 吴河山, 高玉林, 王敏, 张丹. 小青龙汤联合信必可都保治疗支气管哮喘的临床疗效及对炎症因子、气道重塑和免疫功能的影响[J]. 中药材, 2021, 44(5): 1249-1253. <https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2021.05.040>
- [15] 李兆钰, 王永成, 周国锋, 等. 小青龙汤治疗寒痰阻肺型慢性心力衰竭的临床疗效及作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(1): 17-22. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfxj.20201976>
- [16] Hopkins, A.L. (2008) Network Pharmacology: The Next Paradigm in Drug Discovery. *Nature Chemical Biology*, **4**, 682-690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.118>
- [17] Zhang, R.Z., Yu, S.J., Bai, H. and Ning, K. (2017) TCM-Mesh: The Database and Analytical System for Network Pharmacology Analysis for TCM Preparations. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 2821. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03039-7>
- [18] Ru, J.L., Li, P., Wang, J.N., Zhou, W., Li, B.H., Huang, C., Li, P.D., Guo, Z.H., Tao, W.Y., Yang, Y.F., Xu, X., Li, Y., Wang, Y.H. and Yang, L. (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>
- [19] Kanehisa, M., Furumichi, M., Tanabe, M., Sato, Y. and Morishima, K. (2017) KEGG: New Perspectives on Genomes, Pathways, Diseases and Drugs. *Nucleic Acids Research*, **45**, 353-361. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1092>
- [20] 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>

- [21] Luo, Y., Yang, X. and Gao, Y. (2013) Strategies for the Prevention of Acute Mountain Sickness and Treatment for Large Groups Making a Rapid Ascent in China. *International Journal of Cardiology*, **169**, 97-100. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.08.059>
- [22] Tripathi, A., Kumar, M., Kaur, P., Kumar, B. and Sagi, S.S.K. (2020) Efficacy of Quercetin as a Potent Sensitizer of  $\beta$  2-AR in Combating the Impairment of Fluid Clearance in Lungs of Rats under Hypoxia. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, **273**, Article ID: 103334. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2019.103334>
- [23] Tripathi, A., Hazari, P.P., Mishra, A.K., Kumar, B. and Sagi, S.S.K. (2021) Quercetin: A Savior of Alveolar Barrier Integrity under Hypoxic Microenvironment. *Tissue Barriers*, **9**, Article ID: 1883963. <https://doi.org/10.1080/21688370.2021.1883963>
- [24] 付成瑞. 山奈酚对小鼠放射性肺损伤防治作用的实验研究[D]: [硕士学位论文]. 济南: 济南大学, 2014.
- [25] 赵妍. 山奈酚对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的保护作用[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
- [26] 曹丽睿, 查玉杰, 何庆. 山奈酚对大鼠高原肺水肿的预防作用及机制研究[J]. 天津医科大学学报, 2022, 28(1): 58-64
- [27] 姚凤, 周清燕, 熊瑛, 关爽.  $\beta$ -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.
- [28] 周强, 张坤, 李富强, 刘伟, 王鑫.  $\beta$ -谷甾醇缓解 LPS 诱导的急性肺损伤大鼠炎症反应和纤维化[J]. 西部医学, 2022, 34(6): 813-818.
- [29] 吴力超, 李俊峰, 张婷婷, 陶方方, 刘文洪. 基于网络药理学和细胞实验探讨豆甾醇抗炎作用[J]. 中成药, 2022, 44(2): 609-615
- [30] 陈雪, 石亚琳, 孙合圣, 李海艳, 宋延刚. 基于 Notch 信号通路探讨柚皮素调节 Th17/Treg 平衡治疗哮喘的机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2023, 39(7): 1383-1389
- [31] 张迪, 张冬梅, 陆瑞敏, 吉静, 许宗颖, 王旭, 陈萌. 基于“肺主行水”理论探究小青龙汤调节肺水转运蛋白的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(8): 1-11. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20220736>
- [32] Savale, L., Tu, L., Rideau, D., Izziki, M., Maitre, B., Adnot, S., *et al.* (2009) Impact of Interleukin-6 on Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension and Lung Inflammation in Mice. *Respiratory Research*, **10**, Article No. 6. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-10-6>
- [33] Song, S., Choi, K., Ryu, S.W., Kang, S.W. and Choi, C. (2011) TRAIL Promotes Caspase-Dependent Pro-Inflammatory Responses via PKC $\delta$  Activation by Vascular Smooth Muscle Cells. *Cell Death & Disease*, **2**, e223. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.103>
- [34] Ye, Y., Xu, Q. and Wuren, T. (2023) Inflammation and Immunity in the Pathogenesis of Hypoxic Pulmonary Hypertension. *Frontiers in Immunology*, **14**, Article 1162556. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1162556>
- [35] Liu, Y., Zhang, H., Yan, L., Du, W., Zhang, M., Chen, H., *et al.* (2018) MMP-2 and MMP-9 Contribute to the Angiogenic Effect Produced by Hypoxia/15-HETE in Pulmonary Endothelial Cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **121**, 36-50. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.06.006>
- [36] 帅鹏, 陈浩, 陈露. 急性高原肺水肿血浆 TNF $_{(-\alpha)}$ 、IL $_{(-6)}$ 、ET $_{(-1)}$ 的变化及临床意义[J]. 西藏科技, 2004(4): 40-41, 45.
- [37] 吴刚, 高文祥, 高钰琪. HIF-1: 高原肺水肿防治的新靶点[J]. 中国高原医学与生物学杂志, 2020, 41(1): 8-10, 16. <https://doi.org/10.13452/j.cnki.jqmc.2020.01.003>