

stress, and atherosclerosis[J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2012, 74(4): 916-931.

[24] 吴小慧, 刘 菲, 段忠心. 生脉散对 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞 NF- κ B/I κ B 及 VEGF 表达的影响[J]. 山东医药, 2018, 58(48): 45-48.

[25] 吴小慧, 刘 菲, 段忠心. 生脉散对 2 型糖尿病大鼠炎症因子及胰岛素抵抗的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(9): 895-899.

[26] Gumanova N G, Klimushina M V, Gavrilova N E, *et al.* Combined markers of initial stages of coronary atherosclerosis [J]. *Biomed Khim*, 2017, 63(3): 272-277.

[27] Yanai H, Yoshida H. Beneficial effects of adiponectin on glucose and lipid metabolism and atherosclerotic progression: mechanisms and perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1190-1215

[28] Kattoor A J, Pothineni N, Palagiri D, *et al.* Oxidative stress in atherosclerosis[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2017, 19(11): 42.

[29] Chai C Z, Mo W L, Zhuang X F, *et al.* Protective effects of Sheng-Mai-San on right ventricular dysfunction during chronic intermittent hypoxia in mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 1-9.

[30] Mo W L, Chai C Z, Kou J P, *et al.* Sheng-Mai-San attenuates contractile dysfunction and structural damage induced by chronic intermittent hypoxia in mice[J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(10): 743-750.

[31] 农 慧, 盛庆寿, 农 钊. 生脉散加味方抗家兔动脉粥样硬化的实验研究[J]. 实用中医内科杂志, 2006, 20(4): 373-374.

[32] Cheang W S, Tian X Y, Wong W T, *et al.* The peroxisome proliferator-activated receptors in cardiovascular diseases: experimental benefits and clinical challenges [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(23): 5512-5522.

[33] Yu X H, Zheng X L, Tang C K. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha in lipid metabolism and atherosclerosis [J]. *Adv Clin Chem*, 2015, 71: 171-203.

基于网络药理学研究麻黄-桂枝药对治疗支气管炎的关键成分及协同作用机制

倪清华, 李春晖, 杨具洁, 李 强, 孙继佳, 都广礼*, 董志颖*
(上海中医药大学, 上海 201203)

摘要: **目的** 基于网络药理学研究麻黄-桂枝药对治疗支气管炎的关键成分及协同作用机制。**方法** 利用 TCMSP、PubChem 数据库收集整理麻黄、桂枝的主要化学成分, 通过 ACD/Labs 软件对其进行 ADMET 筛选, 将筛选所得活性成分导入 SEA 和 HitPick 在线系统进行靶点预测。从 DisGeNET、GeneCards 和 OMIM 搜索与支气管炎相关的疾病基因, 并对潜在靶点进行识别。利用 STRING 及 Cytoscape 软件构建靶点蛋白的 PPI 网络, 对靶点基因进行 GO 功能与 KEGG 通路的富集分析。利用 SCP 算法进行药对成分优化, 通过网络扰动分析挖掘药对中协同治疗的有效成分组合, 应用 AutoDock Vina 软件进行分子对接验证。**结果** 通过 ADMET 筛选出麻黄、桂枝治疗支气管炎的 110 种主要成分, 识别到对应的 85 个作用靶点。通过 PPI 网络构建及模块分析, 发现了麻黄、桂枝所调控的 2 个核心子模块。GO 功能富集显示, 麻黄、桂枝涉及 33 个主要生物功能, KEGG 富集到 18 个相关的通路。从 110 种主要成分中优化得到覆盖 85 个靶点的 22 个核心成分集, 发现麻黄中的 7 种成分与桂枝中 6 种成分之间存在着一定的协同组合效应。**结论** 麻黄与桂枝配伍用药在支气管炎相关疾病的治疗方面体现了中药多成分、多靶点、多途径的特点, 本研究深入有效地从中药复方中挖掘关键核心成分, 并揭示成分之间的协同机制, 为阐释麻黄与桂枝协同治疗支气管炎疾病的作用机制与临床应用提供科学依据。

关键词: 麻黄-桂枝药对; 支气管炎; 关键成分; 协同作用机制; 网络药理学

中图分类号: R966 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)01-0246-09

doi: 10. 3969/j.issn.1001-1528. 2021. 01. 050

收稿日期: 2020-08-24

基金项目: 国家中医药管理局炮制技术传承基地建设项目 (E2-F1702701)

作者简介: 倪清华 (1995—), 女, 硕士生, 从事中药炮制技术与文化传承研究。Tel: 13262983998, E-mail: niqinghua@163.com

* 通信作者: 都广礼 (1970—), 男, 教授, 从事方剂配伍规律的理论 and 实验研究。Tel: 13916195505, E-mail: duguangli2002@126.com

董志颖 (1965—), 女, 副研究员, 从事中药炮制技术与文化传承研究。Tel: 13917161081, E-mail: bdwmxx@163.com

支气管炎是由生物或非生物因素引起的支气管黏膜及其周围组织的急性或慢性特异性炎症,表现为咳嗽、咳痰不适等症状^[1]。支气管炎发病周期长,易反复而迁延不愈,诱发的因素主要有两方面:一是气温下降、病毒感染、空气污染及过敏等外部因素影响机体;二是由呼吸道防御系统及免疫功能降低等内部因素引起^[2]。目前在治疗上以抗菌、抗炎、抗病毒为主,常用到的西药有阿莫西林、头孢氨苄、美喘清等^[3]。近年来,我国支气管炎患者数目不断增加,发病率逐渐上升,不少患者因治疗不及时,由慢性支气管炎发展为慢性阻塞性肺疾病,严重影响身体健康和

生活质量。
支气管炎在中医学上属于“咳嗽”“喘证”“痰饮”的范畴,中药复方在治疗哮喘、支气管炎等肺部疾病方面有着几千年的治疗经验,一些中成药制剂已广泛用于不同类型的支气管炎疾病治疗^[4-7]。麻黄汤是辛温解表的经典名方,具有发汗解表、宣肺平喘的功效。此方由麻黄、桂枝、甘草、杏仁四味药组成,其中,麻黄发汗解表、宣肺平喘、利水消肿,桂枝发汗解肌、温通经脉、助阳化气。现代药理学研究表明,麻黄的主要成分具有平喘、抗病毒及免疫抑制等多种作用^[8],桂枝中的桂皮醛、桂皮酸等化学成分具有抗菌、抗炎、抗病毒等药理作用^[9]。麻黄汤中麻黄与桂枝是方剂配伍中常用的药对,经辩证处方,两者相伍用药,在治疗支气管炎方面起到了关键作用^[10-12]。

网络药理学利用生物学网络系统选取特定信号,展现药物分子、靶点、通路以及疾病基因之间的关系,从而预测药物成分的作用通路及机制^[13]。本文尝试运用网络药理学、最小集合覆盖算法以及网络扰动分析方法,筛选麻黄与桂枝配伍治疗支气管炎的主要活性成分,预测其作用靶点,构建成分-组合-作用靶点网络,挖掘起协同治疗的组合成分,进一步探讨两药相伍治疗支气管炎的作用机制;同时,创新性地提出通过最小集合覆盖算法与网络扰动分析方法来挖掘药对中的核心成分以及发现药对中不同成分的协同治疗效应。

1 方法

1.1 成分数据的收集与 ADMET 筛选 通过 TCMSP (<http://tcmbspw.com/tcmssp.php>)^[14] 收集,收集麻黄(Ephedra Herba)和桂枝(Cinnamomi Ramulus)的主要化学成分,根据 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 数据库^[15-16] 进行确认并收集每种成分的 PubChem ID 以及 Canonical SMILES 等信息,以此建立麻黄-桂枝的化学成分数据库。利用 ACD/Labs 软件^[17],以 Lipinski^[18]、Solubility、Bioavailability、Metabolic Stability、Ames、hERG 为指标,对麻黄和桂枝的成分进行 ADMET 筛选。其中,Lipinski 类药五规则是筛选类药分子的基本法则,在筛选时除去评价为“Bad”的成分;Solubility 为化合物溶解性指标,在筛选时除去“Highly insoluble”的成分;Bioavailability 为口服利用度预测,一般取其值高于 90% (Dose 参数取 mg=50) 的化合物作为有效成分;Metabolic Stability 是衡量药

物代谢稳定性的指标,在 ADMET 评价中,除去“Unstable in HLM”;Ames 和 hERG 分别是基因毒性和心脏毒性指标,筛选时去除具有明确毒性的成分。

1.2 有效成分的靶点预测与识别 利用 SEA (<http://sea.bkslab.org/>)^[19] 和 HitPick (<http://mips.helmholtz-muenchen.de/proj/hitpick>)^[20] 数据库进行靶点预测。参数设置如下:Max Tc > 0.6, Precision > 50%。在 DisGeNET (<http://disgenet.org/home/>)^[21]、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)^[22] 和 OMIM (<https://omim.org/>)^[23] 数据库中收集与“Bronchitis”(支气管炎)相关的基因。运用 Venny2.1.0 在线系统 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>),将 3 个数据库收集到的相关支气管炎的基因与麻黄、桂枝有效成分的作用靶点通过取交集进行靶点识别,识别出的所有靶点再通过 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)^[24] 数据库进一步确认。

1.3 PPI 网络构建与模块分析 将上述靶点导入 STRING (<https://string-db.org/>) 数据库,设置 Organism 参数为 Homo Sapiens,将 Combine Score 阈值取为 0.7。采用 Gephi0.9.2 软件构建靶点蛋白的 PPI 网络并进行分析,通过 Cytoscape 3.7.1 中的 MODE 工具对 PPI 网络进行模块挖掘,搜索 PPI 网络中的核心子模块。

1.4 靶点 GO 功能与 KEGG 通路富集分析 采用 DAVID 6.8 (<https://david.ncicrf.gov/>)^[25] 对靶点蛋白进行 GO 功能与 KEGG 通路富集分析,根据 P value < 0.05、FDR < 0.05 进行筛选。根据 KEGG 通路富集分析结果建立数据文件,利用 Cytoscape 3.7.1 软件构建靶点-通路网络。

1.5 基于 SCP 算法的麻黄-桂枝药对治疗支气管炎的关键成分挖掘 最小集合覆盖问题(set covering problem, SCP)是组合优化和理论计算机科学中的一类典型问题,它要求以最小代价将某个集合利用其若干子集合加以覆盖^[26],已被证明是一个 NP 最优化组合问题,不存在多项式时间精确算法,在实际应用中往往只设计求解近似算法,如贪心算法求得近似最优解。因此,本文利用基于贪心思想^[27]的 SCP 算法,可从已知成分-靶点作用关系中找到包含所有靶点、数量最少的麻黄与桂枝有效成分的集合,这些有效成分作用了与原来组分完全相同的靶点,可认为这个最小有效成分集合就是麻黄与桂枝配伍治疗支气管炎的核心组分,即关键成分集合。

1.6 基于 PPI 网络扰动的药对关键成分的协同性分析 药物的靶点网络特征是指在人类蛋白质互作网络背景下,药物靶点蛋白之间所具有的网络特征。平均最短路径距离就是最常见的衡量特征之一,即在 PPI 网络中,药物作用靶点之间所具有的最少节点个数。根据药物靶点之间的最短路径距离,可以体现药物靶点对疾病靶点网络的扰动大小,进一步衡量药物对疾病的治疗效果。因此,利用关键成分集 C_{MC} 作用的靶点在“1.3”项下 PPI 网络上的平均最短路径来计算麻黄与桂枝关键成分之间的不同组合对疾病 PPI 网络的扰动程度,从而衡量两味中药中关键成分的协同组合治疗特

性，以及对支气管炎 PPI 网络的扰动程度。具体如下。

$$S(d_A, d_B) = \frac{1}{n_A \times n_B} \sum_{i=1}^{n_A} \sum_{j=1}^{n_B} \text{distance}(i, j)$$

其中， $d_A \in C_{MG}$ 为麻黄中的关键成分， $d_B \in C_{MC}$ 为桂枝中的关键成分； $S(d_A, d_B)$ 为成分 d_A 与成分 d_B 作用靶点的平均最短路径； n_A 为成分麻黄 d_A 的靶点个数， n_B 为桂枝 d_B 的靶点个数。 $S(d_A, d_B)$ 越大，表明 2 种药物的成分组合对该疾病网络的扰动程度越大，即说明这 2 种成分组合治疗效果越好。

本研究基于贪心思想的 SCP 算法以及网络扰动计算，均采用课题组使用 R 语言（3.6.2）开发的软件工具包完成。

1.7 分子对接验证 采用分子对接技术，对 PPI 网络中 Degree 值 ≥ 20 的核心靶点进行分子对接验证。从 PubChem 和 PDB 数据库（<http://www.rcsb.org/>）中下载靶点蛋白的 pdb 结构文件，利用 PyMOL 软件（<https://pymol.org/>）对所有小分子和关键靶点蛋白进行预处理，去除水分子等杂质，将靶点蛋白输入 POCASA 1.1 系统（<http://altair.sci.hokudai.ac.jp/g6/service/pocasa/>）^[28] 并计算每个蛋白配体的最佳结合位点（区域），运用 AutoDock Vina 软件（<http://vina.scripps.edu/>）^[29] 进行半柔性分子对接，计算所有小分子与其作用靶点的亲和力值 affinity。

2 结果

2.1 麻黄-桂枝药对有效成分的 ADMET 筛选 经 ACD/

Labs 软件筛选，总计得到 310 种麻黄、桂枝中的有效成分，去除两者相同成分，最终纳入 266 种类药性较好的有效成分。

2.2 疾病靶点的数据收集与靶点识别 通过对 266 种有效成分进行靶点预测、筛选与整理，总共得到 1 640 对成分-靶点作用关系，经进一步筛选，得到 202 个有效成分以及 315 个与成分相对应的潜在作用靶点。从 DisGeNET、GeneCards、OMIM 数据库中分别查询得到 65、1 036、52 个与支气管炎相关的疾病基因，经 Venny2.1.0 在线系统的靶点识别，结果如图 1 所示。通过取交集，得到麻黄与桂枝配伍抗支气管炎的 110 个主要成分以及对应的 85 个作用靶点，所有靶点通过 Uniprot 数据库进行确认，结果如表 1 所示。

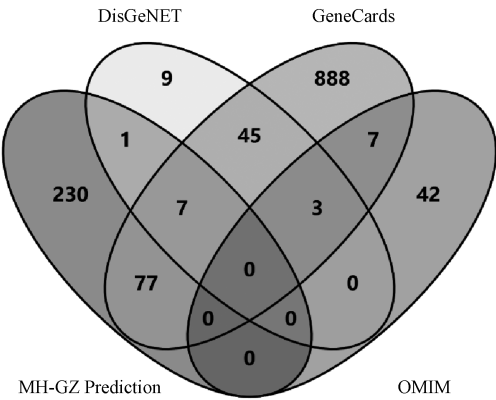


图 1 麻黄-桂枝药对治疗支气管炎预测作用靶点识别

表 1 麻黄-桂枝药对治疗支气管炎的 85 个潜在作用靶点

基因	蛋白名称	Uniprot ID
ABCB1	ATP-dependent translocase ABCB1	P08183
ABCC1	Multidrug resistance-associated protein 1	P33527
ABCG2	Broad substrate specificity ATP-binding cassette transporter ABCG2	Q9UNQ0
ADRB2	Beta-2 adrenergic receptor	P07550
AHR	Aryl hydrocarbon receptor	P35869
AKT1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	P31749
ALB	Serum albumin	P02768
ALK	ALK tyrosine kinase receptor	Q9UM73
ALOX15	Arachidonate 15-lipoxygenase	P16050
ALOX5	Arachidonate 5-lipoxygenase	P09917
APEX1	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase	P27695
APP	Amyloid-beta precursor protein	P05067
AXL	Tyrosine-protein kinase receptor UFO	P30530
CA9	Carbonic anhydrase 9	Q16790
CCR4	C-C chemokine receptor type 4	P51679
CD38	ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase 1	P28907
CDK1	Cyclin-dependent kinase 1	P06493
CDK6	Cyclin-dependent kinase 6	Q00534
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	P13569
CNR1	Cannabinoid receptor 1	P21554
CREB1	Cyclic AMP-responsive element-binding protein 1	P16220
CTSG	Cathepsin G	P08311
CXCR1	C-X-C chemokine receptor type 1	P25024
CYP1A1	Cytochrome P450 1A1	P04798
CYP1B1	Cytochrome P450 1B1	Q16678
CYP2A6	Cytochrome P450 2A6	P11509

续表 1

基因	蛋白名称	Uniprot ID
CYP2B6	Cytochrome P450 2B6	P20813
CYP2C19	Cytochrome P450 2C19	P33261
CYP2D6	Cytochrome P450 2D6	P10635
CYP2E1	Cytochrome P450 2E1	P05181
CYP3A4	Cytochrome P450 3A4	P08684
DAPK1	Death-associated protein kinase 1	P53355
EGFR	Epidermal growth factor receptor	P00533
ELANE	Neutrophil elastase	P08246
EPHX1	Epoxide hydrolase 1	P07099
ERN1	Serine/threonine-protein kinase/endoribonuclease IRE1	O75460
ESR2	Estrogen receptor beta	Q92731
F2	Activation peptide fragment 2	P00734
FLT3	Receptor-type tyrosine-protein kinase FLT3	Q00342
HDAC2	Histone deacetylase 2	Q92769
HSP90AA1	Heat shock protein HSP 90-alpha	P07900
IGF1R	Insulin-like growth factor 1 receptor	P08069
IL2	Interleukin-2	P60568
JUN	Transcription factor AP-1	P05412
KAT2A	Histone acetyltransferase KAT2A	Q92830
KDR	Vascular endothelial growth factor receptor 2	P35968
KIT	Mast/stem cell growth factor receptor Kit	P10721
LCN2	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	P80188
MAOA	Amine oxidase[flavin-containing] A	P21397
MAOB	Amine oxidase[flavin-containing] B	P27338
MCL1	Induced myeloid leukemia cell differentiation protein Mcl-1	Q07820
MET	Hepatocyte growth factor receptor	P08581
MMP1	Interstitial collagenase	P03956
MMP12	Macrophage metalloelastase	P39900
MMP13	Collagenase 3	P45452
MMP2	72 kDa type IV collagenase	P08253
MMP3	Stromelysin-1	P08254
MMP8	Neutrophil collagenase	P22894
MMP9	Matrix metalloproteinase-9	P14780
MPO	Myeloperoxidase	P05164
NFKB1	Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit	P19838
OPRK1	Kappa-type opioid receptor	P41145
OPRM1	Mu-type opioid receptor	P35372
PARP1	Poly[ADP-ribose] polymerase 1	P09874
PGF	Placenta growth factor	P49763
PIK3CG	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform	P48736
PIK3R1	Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha	P27986
PLAUR	Urokinase plasminogen activator surface receptor	Q03405
PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor γ	P37231
PPIA	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	P62937
PTGS1	Prostaglandin G/H synthase 1	P23219
PTGS2	Prostaglandin G/H synthase 2	P35354
PTK2	Focal adhesion kinase 1	Q05397
REN	Renin	P00797
SERPINE1	Plasminogen activator inhibitor 1	P05121
SRC	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	P12931
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3	P40763
TERT	Telomerase reverse transcriptase	O14746
TLR2	Toll-like receptor 2	O60603
TOP1	DNA topoisomerase 1	P11387
TOP2A	DNA topoisomerase 2-alpha	P11388
TRPV1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1	Q8NER1
TTR	Transthyretin	P02766
VEGFA	Vascular endothelial growth factor A	P15692
XDH	Xanthine dehydrogenase/oxidase	P47989

2.3 PPI 网络构建与模块分析 将上述 85 个作用靶点导入 STRING 数据库后得到 PPI 网络，如图 2 所示，每个靶点在 PPI 网络中的度值（Degree）如图 3 所示。由此可知，VEGFA、STAT3、PIK3R1、EGFR、AKT1、MMP9、SRC 等靶点蛋白度值较大（Degree≥20），表明这些靶蛋白与其他蛋白相互调控作用较强，是 PPI 网络中的核心靶点集，也可称为 Hub 节点集。

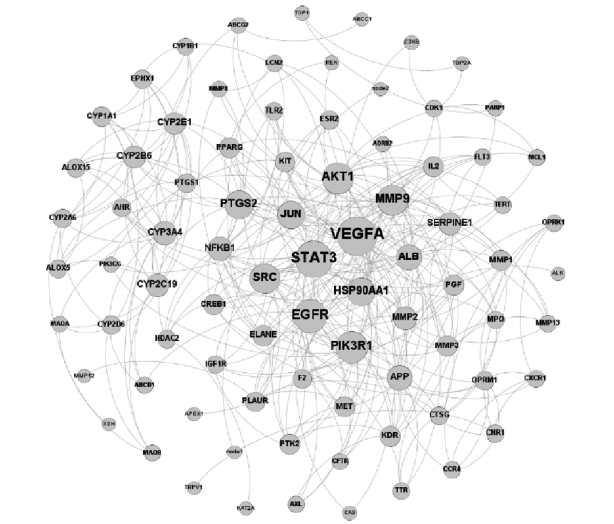


图 2 麻黄-桂枝作用靶点的 PPI 网络

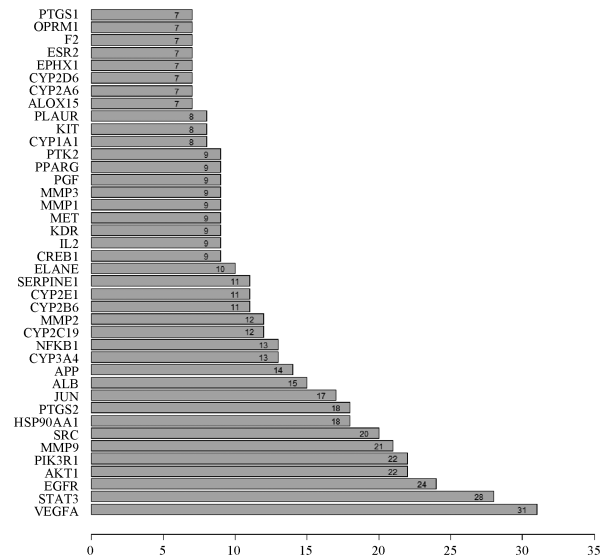


图 3 PPI 网络节点度值（Degree）分布

通过 MCODE 分析，选取 Score>5.0 的子模块，得到 2 个高度连接的子网络，如表 2、图 4 所示，表明这些靶点蛋白调控的模块可能在治疗支气管炎的过程中起到重要作用。

2.4 靶点 GO 功能与 KEGG Pathway 富集分析 在 DAVID 6.8 数据库中，对 85 个靶点进行 GO 功能（BP、CC、

表 2 PPI 网络中的核心子模块及靶点集

模块	分值	基因
模块 1	6.33	PIK3R1、PTK2、EGFR、HSP90AA1、MET、SRC、KDR
模块 2	5.78	PPARG、CYP2C19、ALOX15、OPRK1、APP、CYP1A1、EPHX1、MMP9、OPRM1、CYP2A6、CYP3A4、CYP2B6、CCR4、PTGS1、CXCR1、CYP2E1、JUN、ALOX5、CNR1

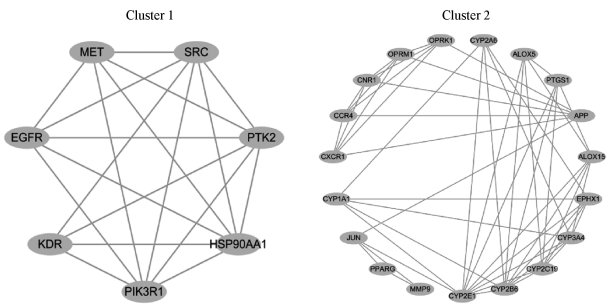


图 4 核心子模块及靶点蛋白

MF)、KEGG 信号通路筛选。GO 功能富集共得到 33 个结果，其中生物过程（Biological Process，BP）有 17 个，细胞定位（cellular component，CC）有 2 个，分子功能（molecular function，MF）有 14 个，主要涉及氧化还原过程、正向调控细胞增殖、细胞外区域、细胞器膜、ATP 结合以及血红素结合等，如图 5 所示。

KEGG Pathway 富集分析得到 18 个相关信号通路，结果如图 6 所示，表明麻黄与桂枝配伍用药的有效成分主要通过调节 PI3K-Akt、TNF、HIF-1、VEGF 等信号通路来治疗支气管炎。具体作用靶点-通路网络关系如图 7 所示。

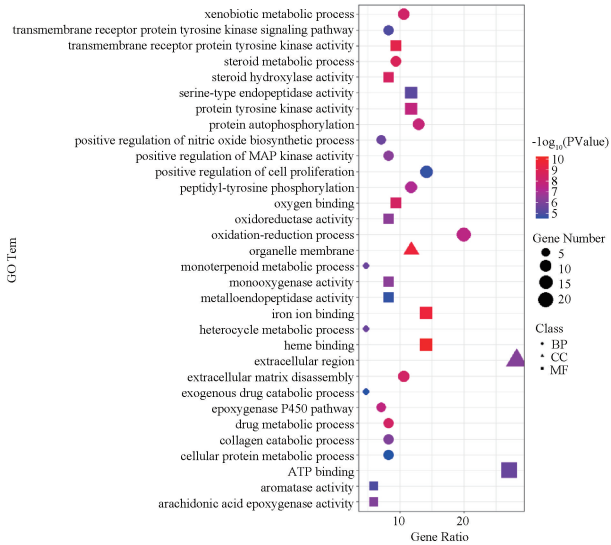


图 5 麻黄-桂枝药对治疗支气管炎作用靶点的 GO 功能富集分析

2.5 关键成分挖掘及协同组合分析 利用基于贪心思想的 SCP 算法，对麻黄、桂枝配伍治疗支气管炎的 440 个成分-靶点作用关系进行计算，优化得到覆盖全部 85 个靶点的

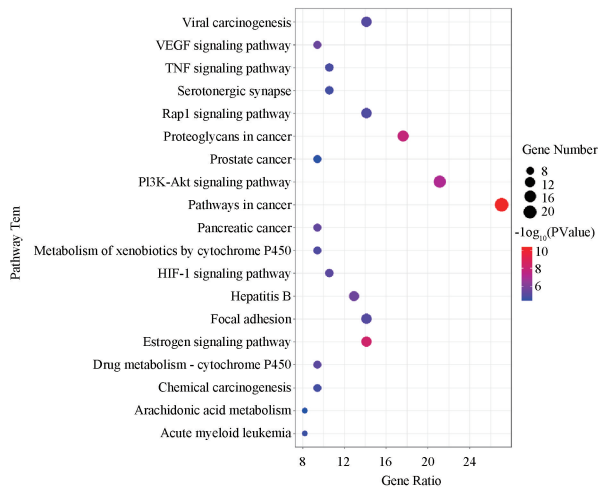
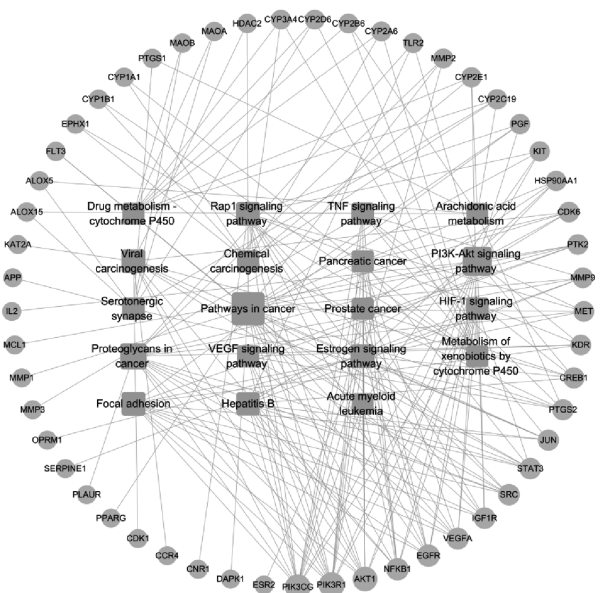


图 6 麻黄-桂枝药对治疗支气管炎作用靶点的 KEGG Pathway 富集分析

22 个关键成分。其中，麻黄有 11 种成分，桂枝有 7 种成分，且两药存在 4 种共有成分，如表 3 所示。



注：圆点表示靶点蛋白、圆正方形表示通路节点。
图 7 麻黄-桂枝药对治疗支气管炎的靶点-通路网络

表 3 基于贪心思想 SCP 计算的麻黄-桂枝药对关键成分

中药	TCMSP ID	化合物	Pubchem CID	分子式
麻黄	MOL000006	Luteolin	5280445	C ₁₅ H ₁₀ O ₆
	MOL000008	Apigenin	5280443	C ₁₅ H ₁₀ O ₅
	MOL000098	Quercetin	5280343	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
	MOL000776	Ethanol	702	CH ₃ CH ₂ OH
	MOL003416	Isobutyraldehyde	6561	C ₄ H ₈ O
	MOL004285	Monobutyl phthalate	8575	C ₁₂ H ₁₄ O ₄
	MOL005727	3-Methyl-2-butanone	11251	C ₅ H ₁₀ O
	MOL005842	Pectolarigenin	5320438	C ₁₇ H ₁₄ O ₆
	MOL008152	Methyl heptanoate	7826	C ₈ H ₁₆ O ₂
	MOL011842	(R)-(+)-3-Methylcyclopentanone	637894	C ₆ H ₁₀ O
	MOL012445	Rhododendrol	919205	C ₁₀ H ₁₄ O ₂
	MOL000249	Methyl cinnamate	637520	C ₁₀ H ₁₀ O ₂
	MOL002334	4-Ethyl-2-methoxyphenol	62465	C ₉ H ₁₂ O ₂
	MOL002888	2-Methoxybenzaldehyde	8658	C ₈ H ₈ O ₂
桂枝	MOL003032	Benzyl benzoate	2345	C ₁₄ H ₁₂ O ₂
	MOL010555	1,2-Dibenzoylthane	136322	C ₁₆ H ₁₄ O ₂
	MOL010557	Ethyl benzoate	7165	C ₉ H ₁₀ O ₂
	MOL012174	2-Methoxybenzoic acid	11370	C ₈ H ₈ O ₃
麻黄-桂枝药对	MOL000117	P-Cymene	7463	C ₁₀ H ₁₄
	MOL000131	Linoleic acid	5280450	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
	MOL000431	Coumarin	323	C ₉ H ₆ O ₂
	MOL010564	Salicylaldehyde	6998	C ₇ H ₆ O ₂

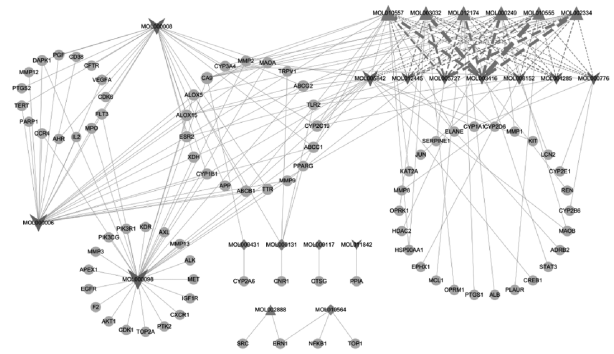
采用“1.6”项下方法，对优化得到的 22 个关键成分进行 PPI 网络扰动分析，计算麻黄与桂枝不同成分之间的协同性评分值，以此探测不同成分之间可能存在的组合治疗效应。我们发现麻黄中的 7 种成分与桂枝中的 6 种成分

之间存在 42 对潜在协同治疗组合，具体协同评分值如图 8 所示。由此可知，麻黄中 isobutyraldehyde（MOL003416）、3-methyl-2-butanone（MOL005727）与桂枝中 1, 2-dibenzoylthane（MOL010555）、benzyl benzoate（MOL003032）、4-ethyl-2-methoxyphenol（MOL002334）之间具有较高协同评分值，提示这些成分相互组合对 PPI 网络的扰动程度较大，在治疗疾病的过程中可能通过这些成分组合之间的协同作用，促使麻黄、桂枝药对产生比简单药效叠加更大的潜在治疗作用。

MH	GZ	S(A, B)
MOL003416	MOL010555	2.00
MOL003416	MOL003032	1.80
MOL003416	MOL002334	1.60
MOL003416	MOL000249	1.58
MOL003416	MOL010557	1.55
MOL005727	MOL002334	1.50
MOL003416	MOL012174	1.33
MOL005727	MOL003032	1.30
MOL005727	MOL010557	1.20
MOL005727	MOL010555	1.17
MOL005727	MOL000249	1.08
MOL005727	MOL012174	1.08
MOL012445	MOL010555	0.92
MOL012445	MOL002334	0.85
MOL004285	MOL003032	0.75
MOL012445	MOL000249	0.75
MOL012445	MOL003032	0.75
MOL012445	MOL012174	0.71
MOL004285	MOL012174	0.67
MOL004285	MOL002334	0.65
MOL008152	MOL002334	0.60
MOL012445	MOL010557	0.60
MOL004285	MOL010555	0.58
MOL008152	MOL010555	0.56
MOL004285	MOL000249	0.54
MOL000776	MOL010555	0.50
MOL008152	MOL003032	0.50
MOL004285	MOL010557	0.47
MOL000776	MOL003032	0.42
MOL008152	MOL000249	0.42
MOL008152	MOL012174	0.42
MOL000776	MOL000249	0.40
MOL000776	MOL002334	0.38
MOL005842	MOL010555	0.38
MOL008152	MOL010557	0.37
MOL000776	MOL012174	0.35
MOL000776	MOL010557	0.25
MOL005842	MOL002334	0.23
MOL005842	MOL003032	0.23
MOL005842	MOL000249	0.22
MOL005842	MOL012174	0.17
MOL005842	MOL010557	0.13

图 8 麻黄、桂枝中 42 对核心成分协同评分值

再以 Cytoscape 3.7.1 软件构建“成分-协同-靶点”作用网络，如图 9 所示。



注：圆点表示靶点蛋白，三角形表示麻黄关键成分，V 形表示桂枝关键成分，菱形表示麻黄与桂枝的共有成分，虚线表示具有协同治疗作用的成分组合。虚线越粗，表明其协同性评分值越高。

图 9 关键成分-协同-靶点作用网络

2.6 分子对接验证 通过分子对接验证发现，麻黄、桂枝两药中的 5 个有效成分 2-Methoxybenzaldehyde、2-Methoxybenzoic acid、Apigenin、Luteolin、Quercetin 与 7 个核心靶点（Hub 节点）均具有较好的亲和力值（affinity），说明这些有效成分能够通过调节这些核心靶点来治疗或改善支气管炎，如表 4 所示。

3 讨论

本研究在网络药理学研究和分析的基础上，引入基于贪心思想的最小集合覆盖（SCP）算法，挖掘麻黄与桂枝配伍入药治疗支气管炎的核心成分组合。利用基于平均最短路径的网络扰动分析方法，探测麻黄与桂枝两味中药中的关键成分组合在治疗支气管炎中的协同作用。

利用 AutoDock vina 软件对麻黄、桂枝两味中药中 5 种关键有效成分（luteolin、apigenin、quercetin、2-methoxybenzaldehyde、2-methoxybenzoic acid）所作用的 7 个核心靶点进行分子对接验证。木犀草素（luteolin）是一种包含多种药理活性的天然黄酮类化合物，具有抗炎、抗过敏、抗氧化等特性^[30]。研究证实^[31-33]，木犀草素主要通过调节炎症介质来起到缓解炎症的作用，能够抑制与引发疾病相关的炎症因子 TNF-α、LTB4 的生成，以及抑制 NF-κB、组胺、转录因子 GATA-3 等的表达来缓解支气管炎。芹菜

表 4 关键成分-靶点分子对接结果

TCMSP ID	配体	受体	PDB ID	亲和力/(kcal·mol ⁻¹)
MOL002888	2-Methoxybenzaldehyde	SRC	2BDF	-4.6
MOL012174	2-Methoxybenzoic acid	STAT3	6NJS	-4.7
MOL000008	Apigenin	VEGFA	6BFT	-6.8
MOL000006	Luteolin	MMP9	6S9W	-8.6
		VEGFA	6BFT	-6.9
		AKT1	6BUU	-6.8
MOL000098	Quercetin	EGFR	6ARU	-6.7
		MMP9	6S9W	-8.8
		PIK3R1	6PYR	-7.4

素被称为“植物雌激素”，药用价值极高，阚伟娟^[34]等在芹菜素（apigenin）抗炎机制的研究中发现，芹菜素通过下调 iNOS 蛋白表达水平，能显著抑制巨噬细胞对炎症因子 TNF- α 、IL-6 及炎症介质 NO 的释放。槲皮素（quercetin）为一种具有多种生物学活性的多羟基黄酮类化合物，在抗炎、抗癌、抗氧化等方面均显示出极高的药用价值^[35]；研究显示^[36]，槲皮素可以通过下调气道上皮 TLR4/NF- κ B 的表达，从而起到缓解支气管炎的作用。

在 PPI 网络模块挖掘中，我们发现了麻黄-桂枝药对作用的 2 个核心子模块，并对其 85 个作用靶点进行了 GO 功能和 KEGG Pathway 富集分析，结果显示麻黄与桂枝两味中药配伍使用涉及 33 个 GO 功能以及 18 个信号通路。其中，VEGF 靶点及信号通路可直接参与对血管新生的调控，能明显促进全身各组织器官血管内皮细胞的增殖、迁移及趋化^[37]。MMP3 能降解细胞外基质和基底膜，在炎症发生、伤口愈合、组织修复及重塑中有重要作用，其表达量增加会导致疾病发生^[38]。有研究证明^[38-40]，木犀草素可以与 MMP3 较好的结合，故推测木犀草素是通过下调 MMP3 的表达量来缓解炎症反应。MMP9 通过降解内皮基底膜的 IV 型胶原成分，从而降低内皮的屏障功能，引发炎症。肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）通过激活 p38 MAPK 信号通路发挥缓解支气管炎的作用。有研究证明^[41-42]，MAPK 抑制剂可能是治疗支气管炎的关键靶点，对揭示中药临床功效有实际意义。PI3K-Akt 信号通路受 PTEN、CTMP、SHIP2 等多种因子调节，是细胞生存的重要通路之一。研究显示^[43-45]，PI3K/Akt 可能通过靶向下调 CD38 的表达，从而加速细胞周期、促进气道平滑肌的增殖。HIF-1 信号通路可在低氧环境下激活细胞中多种靶基因的转录，存在 HIF-1 的巨噬细胞能抑制炎性细胞因子，往往表现出较好的吞噬能力和迁移能力^[46-47]。

通过 SCP 算法，优化得到麻黄、桂枝的 22 个关键成分，结合基于平均最短路径的网络扰动分析方法，从定量分析角度研究两药中关键成分的内在协同机制，预测出麻黄中 7 个成分与桂枝的 6 个成分之间相互组合具有潜在协同效应，猜测两味中药相伍使用在治疗支气管炎过程中，可能通过这些成分之间的组合效应，产生了比单药效叠加更大的潜在协同治疗作用。

综上所述，麻黄汤中的麻黄与桂枝配伍用药在对抗支气管炎中具有“多成分、多靶点、多途径”的分子协同机制和特点，利用本文提出的方法可以有效地从中药复方中挖掘核心成分，为深入开展常用中药药对的功效机理研究和开发应用建立理论和方法学途径，为进一步开展中医临床辨证施治、方剂配伍合理用药的深入研究和开发利用提供理论和方法学上的参考。

参考文献：

[1] 钟南山. 呼吸病学[M]. 北京：人民卫生出版社，2012.

[2] 程 越，邱志新，李为民. 慢性支气管炎发病机制研究进展

[J]. 华西医学，2017，32(4)：606-611.

[3] 马 秉. 慢性支气管炎的临床诊断和治疗[J]. 中国医药指南，2016，14(9)：148-149.

[4] 章松乔. 中西医结合治疗急性喘息型支气管炎 40 例临床观察[J]. 中国民族民间医药，2016，25(3)：114-115.

[5] 郭胜红，柳林伟. 中西医结合治疗慢性喘息性支气管炎临床研究[J]. 中医学报，2016，31(10)：1468-1471.

[6] 黄文广. 中西医结合治疗慢性支气管炎肺气肿临床观察[J]. 深圳中西医结合杂志，2016，26(13)：49-50.

[7] 任华忠，王金鹏，杨 丽. 中药复方治疗慢性支气管炎的研究进展[J]. 亚太传统医药，2009，5(4)：118-121.

[8] 姜 雪，孙森凤，王 悦. 麻黄成分及其药理作用研究进展[J]. 化工时刊，2017，31(5)：28-31.

[9] 朱 华，秦 丽，杜沛霖，等. 桂枝药理活性及其临床应用研究进展[J]. 中国民族民间医药，2017，26(22)：61-65.

[10] 邓慧芳. 厚朴麻黄汤治疗慢性支气管炎的效果[J]. 内蒙古中医药，2017，36(8)：20.

[11] 孙潇芳. 厚朴麻黄汤对慢性支气管炎合并肺气肿的治疗效果[J]. 中外女性健康研究，2019(1)：108-109.

[12] 徐文杰，方 芳，余林中，等. 麻黄桂枝药对解热作用及其机制的实验研究[J]. 时珍国医国药，2013，24(7)：1547-1549.

[13] 周文霞. 网络药理学研究进展和发展前景[J]. 中国药理学与毒理学杂志，2015，29(5)：760-762.

[14] Ru J, Li P, Wang J, *et al.* TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6(1): 13.

[15] Kim S, Shoemaker B A, Bolton E E, *et al.* Finding potential multitarget ligands using PubChem[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1825: 63-91.

[16] Kim S, Chen J, Cheng T J, *et al.* PubChem 2019 update: improved access to chemical data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (D1): D1102-D1109.

[17] Kadar E P, Wujcik C E, Wolford D P, *et al.* Rapid determination of the applicability of hydrophilic interaction chromatography utilizing ACD labs log D suite: a bioanalytical application[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2008, 863(1): 1-8.

[18] Lipinski C. Chris L. Interview by Peter Kirkpatrick[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(12)：900-901.

[19] Keiser M J, Roth B L, Armbruster B N, *et al.* Relating protein pharmacology by ligand chemistry[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(2)：197-206.

[20] Liu X P, Vogt I, Haque T, *et al.* HitPick: a web server for hit identification and target prediction of chemical screenings[J]. *Bioinformatics*, 2013, 29(15)：1910-1912.

[21] Pinero J, Bravo À, Queralt-Rosinach N, *et al.* DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1)：D833-D839.

[22] Stelzer G, Rosen N M, Plaschkes I, *et al.* The GeneCards Suite: From gene data mining to disease genome sequence

analyses[J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54: 1-30.

[23] Amberger J S, Bocchini C A, Scott A F, *et al.* OMIM. org: leveraging knowledge across phenotype-gene relationships[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D1038-D1043.

[24] Uniprot C T. UniProt: the universal protein knowledgebase[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(5): 2699.

[25] Jiao X L, Sherman B T, Huang D W, *et al.* DAVID-WS: a stateful web service to facilitate gene/protein list analysis[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(13): 1805-1806.

[26] Ula N, Nough A. A gradient search algorithm for set covering problems[Z]. 1980: 47-48.

[27] Zhang P, Wang R, Wu C, *et al.* An effective algorithm for the minimum set cover problem[Z]. 2006: 3032-3035.

[28] Yu J, Zhou Y, Tanaka I, *et al.* Roll: a new algorithm for the detection of protein pockets and cavities with a rolling probe sphere[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(1): 46-52.

[29] Sotriffer C A, Flader W, Winger R H, *et al.* Automated docking of ligands to antibodies: methods and applications[J]. *Methods*, 2000, 20(3): 280-291.

[30] 于 倩, 巫冠中. 木犀草素抗炎机制的研究进展[J]. *药学研究*, 2019, 38(2): 108-111; 119.

[31] 刘宏飞, 候亚鹏, 金 睿, 等. 木犀草素通过调节上皮钠通道影响肺上皮离子转运[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(4): 402-408.

[32] Che D N, Cho B O, Kim J S, *et al.* Effect of luteolin and apigenin on the production of IL-31 and IL-33 in lipopolysaccharides-activated microglia cells and their mechanism of action[J]. *Nutrients*, 2020, 12(3): 811.

[33] 徐 强, 李海燕, 金 刚. 木犀草素抗骨性关节炎潜在靶点的筛选与鉴定[J]. *浙江中医药大学学报*, 2020, 44(4): 381-386.

[34] 阚伟娟, 喻婉莹, 于鹏霞, 等. 芹菜素的抗炎作用及其机制[J]. *亚太传统医药*, 2012, 8(1): 17-19.

[35] 马 纳, 李亚静, 范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018, 20(8): 221-224.

[36] Wu W J, Li R C, Li X L, *et al.* Quercetin as an antiviral agent inhibits influenza A virus (IAV) entry[J]. *Viruses*, 2015, 8(1): 6.

[37] 向本旭, 刘婷婷, 孙芳玲, 等. VEGF 相关信号通路在血管新生中的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(12): 81-86.

[38] Zhang M, Xue Y, Chen H L, *et al.* Resveratrol inhibits MMP3 and MMP9 expression and secretion by suppressing TLR4/NF- κ B/STAT3 activation in Ox-LDL-Treated HUVECs[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 9013169.

[39] 杨锡彤, 王光明. MMP9 在脑缺血中的研究进展[J]. *广东医学*, 2019, 40(6): 875-878.

[40] 胡 涂, 曾乐平, 黄菊芳. MMP3 在肿瘤发生发展中作用的新进展[J]. *肿瘤药学*, 2013, 3(3): 166-171.

[41] 凌 嫫, 闵 锐, 范伏元. 基于信号通路 p38 MAPK 探讨疏风宣肺汤对大鼠慢性支气管炎模型 TNF- α 的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(6): 708-712.

[42] 姜若愚, 闵 锐, 范伏元. 疏风宣肺汤对慢性支气管炎大鼠 p38MAPK/ATF-2 信号转导通路的影响[J]. *湖南中医杂志*, 2019, 35(2): 133-136.

[43] 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.

[44] 尹盟盟, 崔玉荣, 王 璐, 等. PI3K/Akt 信号通路调控胚胎干细胞的自我更新和多向分化潜能的研究进展[J]. *生理学报*, 2014, 66(2): 223-230.

[45] 李 建, 周怀君. PI3K/Akt 信号通路在肿瘤研究中的进展[J]. *东南大学学报 (医学版)*, 2014, 33(3): 392-395.

[46] 丁晓倩. COPD 及慢性支气管炎大鼠肺组织 HIF-1 α 、VEGF 表达及相关性研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2010.

[47] 徐海潮. 白藜芦醇及 HIF-1 α -VEGF-A 通路对大鼠左肺移植术后移植肺的作用及机制探讨[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.