

# 基于网络药理学与代谢组学和分子对接的整合药理学策略研究温胆汤治疗慢性阻塞性肺疾病的作用机制

牛旭东<sup>1</sup>, 何溢琨<sup>1</sup>, 何梓龙<sup>2</sup>, 陈爱灵<sup>1</sup>, 高文浩<sup>1</sup>, 任腾飞<sup>1</sup>, 朱珍珍<sup>2</sup>, 汪芳<sup>2</sup>, 任睿楠<sup>2</sup>, 林松<sup>3,4\*</sup>, 王天阳<sup>2\*</sup>  
(1. 齐齐哈尔医学院 基础医学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 齐齐哈尔医学院 药学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 3. 齐齐哈尔医学院 基础医学院 基础医学学科研究中心, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 4. 黑龙江省药食同源资源与代谢性疾病防治重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘要:** **目的** 探讨温胆汤治疗慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的作用机制。**方法** 首先,基于网络药理学方法,利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、Swiss Target Prediction 和 Metascape 等数据库,揭示温胆汤治疗 COPD 的潜在机制;其次,采用代谢组学方法,研究温胆汤对 COPD 诱发内源性代谢物紊乱的干预作用;最后,借助 MetScape 算法,整合网络药理学与代谢组学研究结果,并采用分子模拟对接和分子生物学方法,深入研究温胆汤治疗 COPD 的作用机制。**结果** 网络药理学结果揭示温胆汤的 102 个潜在活性成分及其治疗 COPD 的 98 个潜在靶点。进一步分析显示温胆汤的 11 个潜在药效物质,包括 3-叔丁基己二酸、6-甲基姜辣二醇双乙酸酯和甘草异黄酮等可能通过调节脂质与动脉粥样硬化、环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)信号通路、磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B(phosphoinositide 3-kinase-protein kinase B, PI3K-Akt)信号通路和白介素 17(interleukin-17, IL-17)信号通路等发挥疗效。另一方面代谢组学研究显示,丙二醇、N-乙酰神经氨酸、苏氨酸、原胆酸、2-氧异戊酸酯、乙酰磷酸、柠檬酸盐和异丁酸等 9 种内源性物质,可能是温胆汤治疗 COPD 的关键代谢物。最后整合分析显示,脂质代谢与氨基酸代谢可能是温胆汤治疗 COPD 的关键过程,黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, XDH)、激酶插入区受体(kinase insert domain receptor, KDR)、磷酸二酯酶 5A(phosphodiesterase 5A, PDE5A)、细胞色素 P450 家族 2 亚家族 C 成员 9(cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9, CYP2C9)和成员 19(cytochrome P450 family 2 subfamily C member 19, CYP2C19)等同氧化和炎症相关的基因可能是温胆汤发挥治疗作用的关键靶点;并且结果显示温胆汤可有效改善 COPD 大鼠肺部充血、水肿和炎性细胞浸润等多种病理状态,显著降低 COPD 大鼠肺组织中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )含量和丙二醛(malonaldehyde, MDA)活性,提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性;而且分子对接结果也揭示了潜在药效物质与核心靶点基因之间的关联性。**结论** 基于代谢组学、网络药理学和分子对接的整合药理学研究表明温胆汤可能通过调控炎症反应、氧化应激、脂质代谢和氨基酸代谢等途径实现治疗 COPD 的作用。

**关键词:** 温胆汤;慢性阻塞性肺疾病;网络药理学;代谢组学;分子对接;炎症因子

doi:10.11669/cpj.2024.11.007 中图分类号:R966 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)11-0998-13

## Research on the Mechanism of Wendan Decoction in Treating Chronic Obstructive Pulmonary Disease through an Integrated Pharmacological Strategy Based on Network Pharmacology, Metabolomics, and Molecular Docking

NIU Xudong<sup>1</sup>, HE Yikun<sup>1</sup>, HE Zilong<sup>2</sup>, CHEN Ailing<sup>1</sup>, GAO Wenhao<sup>1</sup>, REN Tengfei<sup>1</sup>, ZHU Zhenzhen<sup>2</sup>, WANG Fang<sup>2</sup>, REN Ruinan<sup>2</sup>, LIN Song<sup>3,4\*</sup>, WANG Tianyang<sup>2\*</sup> (1. Basic Medical College, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China; 2. School of pharmacy, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China; 3. Basic Medical Research Center, Basic Medical College, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China; 4. Key Laboratory of Homology of Medicine and Food Resources and Metabolic Disease Prevention and Treatment of Heilongjiang Province, Qiqihar 161006, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the mechanism of Wendan Decoction in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **METHODS** Firstly, based on the network pharmacology method, the potential mechanism of Wendan Decoction in the treat-

**基金项目:** 齐齐哈尔医学科学院项目资助(2023-ZDPY-001, QMSI2023E-01, 2022-ZDPY-004, QMSI2021B-03);黑龙江省自然科学基金项目资助(LH2022H110);齐齐哈尔市科技计划联合引导项目资助(LHYD-2021011);黑龙江省大学生创新训练计划项目资助(S202211230055, S202211230035, 202111230032)

**作者简介:** 牛旭东,男,本科生 研究方向:呼吸、循环系统疾病相关 \* **通讯作者:** 林松,男,博士,副研究员 研究方向:中药经典名方现代化、心脑血管疾病的发病机制研究 Tel:(0452)2663067;王天阳,女,博士,讲师 研究方向:中药经典名方现代化、心脑血管疾病的发病机制研究 Tel:(0452)2663067

ment of COPD was revealed by using the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), Swiss Target Prediction and Metascape databases. Secondly, the intervention effect of Wendan Decoction on endogenous metabolite disorder induced by COPD was studied by metabolomics method. Finally, the results of network pharmacology and metabolomics were integrated through MetScape algorithm, and molecular simulation docking and molecular biology methods were used to study the mechanism of Wendan Decoction in the treatment of COPD. **RESULTS** The results of network pharmacology revealed 102 active components of Wendan Decoction and 98 potential targets for the treatment of COPD. Further analysis showed that 11 potential pharmacodynamic substances of Wendan Decoction, including 3-tert-butyladipic acid, 6-methylgingediacetate and licoisoflavanone may play a role in regulating lipid and atherosclerosis, CAMP signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway and IL-17 signaling pathway. On the other hand, metabolomics studies have shown that 9 endogenous substances, such as 2-propanol, N-acetylneuraminic acid, threonine, protocholic acid, 2-oxoisovalerate, acetylphosphate, citrate and isobutyric acid, may be the key metabolites of Wendan Decoction in the treatment of COPD. Finally, the integrated analysis showed that lipid metabolism and amino acid metabolism might be the key processes of Wendan Decoction in the treatment of COPD. XDH, KDR, PDE5 A, CYP2C9 and CYP2C19, which were related to oxidation and inflammation, were the potential key targets of Wendan Decoction in the treatment of COPD. The results showed that Wendan Decoction could effectively improve the pathological state of pulmonary congestion, edema and inflammatory cell infiltration in COPD rats, significantly reduce the content of IL-6, TNF- $\alpha$  and MDA activity in lung tissue of COPD rats, and increase SOD activity. Moreover, the molecular docking results also revealed the correlation between potential pharmacodynamic substances and core target genes. **CONCLUSION** The integrated pharmacological studies based on metabolomics, network pharmacology and molecular docking showed that Wendan Decoction might achieve the effect of treating COPD by regulating inflammatory response, oxidative stress, lipid metabolism and amino acid metabolism.

**KEY WORDS:** Wendan decoction; COPD; network pharmacology; metabolomics; molecular docking; inflammatory factor

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD),是一种常见、可预防和可治疗的异质性疾病<sup>[1]</sup>。其特征包括持续呼吸症状和气流受限,主要临床表现为呼吸困难、咳嗽或咳痰。COPD 发病率呈明显逐年上升趋势,已经成为亟待解决的重大公共卫生挑战。目前,越来越多的研究表明 COPD 的发生可能与气道炎症、氧化应激和线粒体损伤障碍等机制有关<sup>[2-4]</sup>。临床大多首选支气管扩张剂、糖皮质激素等药物,如特布他林、布地奈德等<sup>[5]</sup>,这些药物虽可以缓解 COPD 的呼吸道症状,但长期使用易出现耐药性和毒副作用。中草药作为中华民族的瑰宝,遵从中医整体观念,具有“多成分-多靶点-多通路”的作用特点,在 COPD 治疗方面取得了良好的成效<sup>[6]</sup>。

研究表明 COPD 与呼吸道黏膜上皮细胞创伤修复密切相关,中医药理论认为,通过“正气”和“肺在体合皮”以增强呼吸道黏膜免疫功能,可达到防治 COPD 的目的<sup>[7]</sup>。温胆汤(Wendan decoction, WDD)源自唐代孙思邈的《备急千金要方》,由半夏、竹茹、枳实、橘皮、甘草和生姜组成,本方组方配伍的精髓即在于“调畅气机”,以此发挥清化痰热与和中安神的功效<sup>[8]</sup>。同时,因其性温,在中医诊治方面广泛应用于寒、凉或以“痰”为主要表现的诸多病症,是经典“祛痰名方”。温胆汤的现代临床应用则更为广泛,在呼吸系统疾病的治疗方面发挥着重要的作用<sup>[9]</sup>。然而,温胆汤治疗 COPD 的作用机制还不明

确,这限制了温胆汤的传承、开发与临床应用。

综上所述,本研究拟建立基于代谢组学、网络药理学和分子对接的整合药理学研究方法,深入探讨温胆汤治疗 COPD 的作用机制。一方面,采用网络药理学方法,通过构建“药物-成分-靶点”网络,初步筛选温胆汤治疗 COPD 的潜在药物物质,并揭示其潜在作用机制;另一方面,采用代谢组学方法,研究温胆汤对 COPD 诱发内源性代谢物紊乱的干预作用。而后,整合网络药理学与代谢组学研究结果,进一步筛选温胆汤治疗 COPD 相关的核心靶点和代谢通路。最后,通过病理学评价、分子生物学和分子模拟对接相关技术,深入探讨温胆汤治疗 COPD 的作用机制,研究思路见图 1 所示。本研究期望为温胆汤治疗 COPD 的作用机制研究提供新思路,为温胆汤的传承、开发和中医药的现代化研究提供帮助。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠共 18 只,8~10 周龄,体质量 180~220 g。由辽宁长生生物技术股份有限公司提供,动物许可证号:SYXK(辽)2020-0001。大鼠分笼饲养,自由进食饮水,饲养环境为:室温 20~25 °C,湿度 50%~55%,室内保持通风,12 h 昼夜交替人工照明。本研究经齐齐哈尔医学院医学实验动物伦理委员会评审通过(QMU-AECC-2022-57)。

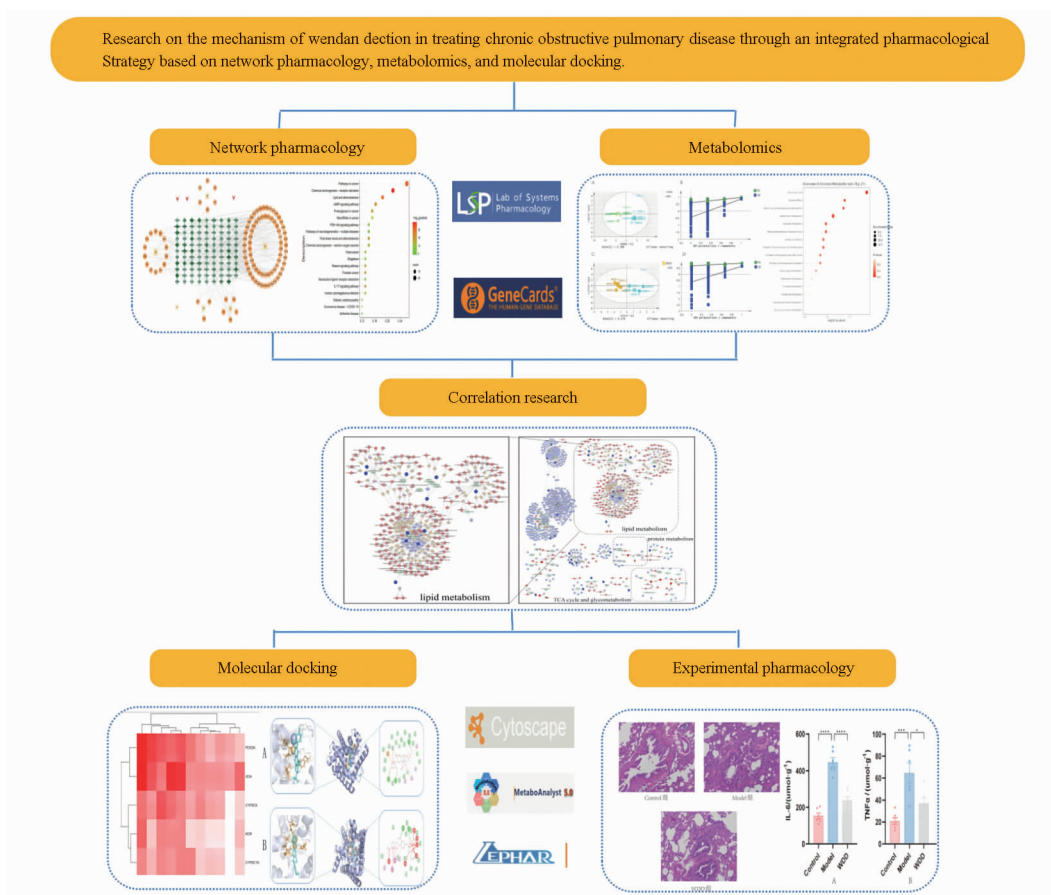


图1 温胆汤治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)的研究思路

Fig. 1 Research ideas on the treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease with Wendan Decoction

## 1.2 主要试剂和仪器

半夏、竹茹、陈皮、枳实和甘草(齐齐哈尔市华晨大药房公司),生姜为市售,所有药材经齐齐哈尔医学院中药学教研室王文豹副教授鉴定均符合2020年版《中国药典》的规定。参考原方描述和相关文献制备温胆汤样品,于4℃保存备用<sup>[10]</sup>。丙二醛(malonaldehyde,MDA)试剂盒、超氧化歧化酶(superoxide dismutase,SOD)试剂盒(南京建成生物有限公司),肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ,TNF- $\alpha$ )试剂盒、白介素6(interleukin-6,IL-6)试剂盒(上海酶联生物有限公司),4%多聚甲醛固定液(北京兰捷柯科技有限公司);苏木素伊红染液(上海威奥生物科技有限公司)。

Bruker AVANCE III-500 超导傅里叶变化核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司);3-30K 微量高速离心机(德国 sigma 公司);SpectraMax iD3 多功能微孔板读板机(美国 Molecular Devices 公司);DM3000 显微镜、HistoCorePEARL 组织脱水机、RM2235 石蜡切片机、EG1150 组织包埋机、HI1220 烘片机、HI1210 展片机(德国 Leica 公司)。

网络药理学、代谢组学及分子对接实验相关软件、数据库及网址见表1。

表1 本研究涉及的相关软件、数据库和网站

Tab. 1 Relevant softwares, databases, and websites involved in this study

Software, database	Website
TC-MSP	<a href="http://tcmsp.com/tcmsp.php">http://tcmsp.com/tcmsp.php</a>
PubChem	<a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a>
SwissADME	<a href="http://www.Swissadme.ch/">http://www.Swissadme.ch/</a>
Swiss database	<a href="http://www.swisstargetprediction.ch/">http://www.swisstargetprediction.ch/</a>
UniProt	<a href="http://www.uniprot.org/">http://www.uniprot.org/</a>
GeneCard	<a href="https://www.genecards.org/">https://www.genecards.org/</a>
OMIM	<a href="https://omim.org/">https://omim.org/</a>
Drugbank	<a href="https://go.drugbank.com/">https://go.drugbank.com/</a>
TTD	<a href="http://db.idrblab.net/ttd/">http://db.idrblab.net/ttd/</a>
Venny2.1	<a href="https://bioinfop.cn.csic.es/tools/venny/index.html">https://bioinfop.cn.csic.es/tools/venny/index.html</a>
Cytoscape	<a href="https://cytoscape.org/">https://cytoscape.org/</a>
String String database	<a href="https://cn.string-db.org/">https://cn.string-db.org/</a>
Metascape	<a href="http://metascape.org/">http://metascape.org/</a>
SIMCA16.1	<a href="https://www.sartorius.com/">https://www.sartorius.com/</a>
MetaboAnalyst	<a href="https://genap.metaboanalyst.ca">https://genap.metaboanalyst.ca</a>
PDB	<a href="https://www.rcsb.org/">https://www.rcsb.org/</a>
LeDock	<a href="http://www.lephar.com">http://www.lephar.com</a>
Py MOL	<a href="https://pymol.org/2/">https://pymol.org/2/</a>
Discovery Studio	<a href="http://www.discoverystudio.net/">http://www.discoverystudio.net/</a>

## 2 方法

### 2.1 动物实验方案

采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 联合烟熏制备大鼠 COPD 模型<sup>[11]</sup>。将大鼠在实验室适应性喂养 1 周后,按随机数表法分为正常对照组 (Control 组),模型组 (COPD 组),温胆汤组 (WDD 组),每组 6 只。第 1~28 天 (第 1、14 天除外),COPD 组、WDD 组大鼠置于烟熏箱内,每天 2 次烟熏处理,两次间隔时间至少 4h,每次给予 10 根香烟进行烟熏造模;第 1、14 天,COPD 组、WDD 组大鼠经气管给予  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的 LPS 试剂;Control 组大鼠经气管给予同等体积的生理盐水。第 1~28 天,WDD 组大鼠灌胃给予  $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  药物,Control 组和 COPD 组大鼠灌胃给予同等体积的生理盐水。第 29 天取肺组织和血清,取材前 12 h 禁食,自由饮水。

### 2.2 网络药理学研究

借助中药系统药理学数据库与分析平台 (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TC-MSP) 得到温胆汤的初筛有效成分。以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB)  $\geq 35\%$ 、类药性 (druglike-ness, DL)  $\geq 0.2$  为条件对其化学成分进行筛选,对 TC-MSP 未收录的中药,通过检索其他数据库及文献查找等方式补充有效成分。而后通借助 SwissADME 平台以肠道吸收度 (GI absorption) 为“Yes”、DL 为 2 个“Yes”及以上为条件进行复筛,最终得到温胆汤的潜在活性成分。

将温胆汤潜在活性成分的 SMILES 结构式,导入 Swiss 数据库预测潜在活性成分的靶点,根据预测靶点的相关性进行排序,选取前 15 位作为潜在活性成分的作用靶点。利用 UniProt 数据库对所有靶基因名称进行校正,获得靶点信息。而后,在疾病基因数据库 (GeneCard 数据库、OMIM 数据库、Drugbank 数据库、TTD 数据库) 中以 COPD 为关键词在以上 4 个数据库进行检索,经合并、去重后,获得 COPD 的相关靶点。最后,利用 Venny2.1 网站,在线获取药物与疾病的交集靶点并进行整理。

制作“中药-活性成分-靶点”网络的 network 和 type 文件,将文件导入 cytoscape (3.7.2) 进行可视化处理,构建“药物-成分-靶点”交互网络图。

运用 Metascape 数据库以  $P < 0.01$  作为标准进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 功能注释,并对结果进行可视化处理。

### 2.3 基于<sup>1</sup>H-NMR 技术的小鼠血清代谢组学实验

眼眶取血 2 mL 置于 EP 管中,静置 2 h,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $4\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清液于 EP 管中。300  $\mu\text{L}$  血浆与 300  $\mu\text{L}$  磷酸盐缓冲液在  $\text{D}_2\text{O}$  (pH 7.0) 中混合,涡旋并在  $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  和  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下离心 15 min。最后将上清液转移至 5 mm 核磁共振管中进行<sup>1</sup>H-NMR 分析。

使用 Bruker 500 MHz 光谱仪采集 298 K 下的 NMR 谱图,为了抑制蛋白质信号,采用 Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) 脉冲序列。在 7 500 Hz 的谱宽范围内,对 32 K 的数据点进行 128 次扫描,记录了<sup>1</sup>H-NMR 谱。在进行傅里叶变换之前,将得到的自由感应衰减 (FID) 进行补零,并乘以一个指数线展宽函数,线展宽因子为 0.5 Hz。

采用 R 平台的 ASICS 软件包,通过基线校正、峰比对、归一化和代谢物鉴定等方法对<sup>1</sup>H-NMR 代谢组学数据进行处理,并去除化学位移为 4.5~5.1 的水峰。用 SIMCA-P 完成了对代谢产物基质的 OPLS-DA 分析。在变量投影重要性值 (VIP)  $> 1$  和  $P < 0.05$  的基础上,筛选差异代谢产物。

利用 MetaboAnalyst 5.0 在线分析平台,点击 Enrichment Analyst,功能类型选择 metabolite,导入差异代谢物,获取温胆汤治疗 COPD 相关的代谢通路。

### 2.4 整合研究

利用 Cytoscape 3.7.1 中的 Metscape 软件,进行网络药理学与代谢组学整合研究:输入交集基因与差异代谢物名称,待 Metscape 转化为对应 ID 后将“基因”与“代谢物”进行关联,构建互作网络图;利用插件 cytoHubba 中相关算法进一步筛选温胆汤作用 COPD 的核心靶点。

### 2.5 大鼠病理学评价

4% 多聚甲醛中固定 24 h,石蜡包埋,切片,苏木精-伊红染色法染色,封片,显微镜下观察,进行病理组织学检查,评估大鼠肺组织炎症细胞浸润程度。

### 2.6 炎症因子、氧化应激指标

检测大鼠血浆中炎症因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$  和氧化应激指标的水平,以上测定均按照测定试剂盒说明书进行。

### 2.7 分子对接

将温胆汤中核心成分与核心靶点基因进行分子对接,进一步验证温胆汤对 COPD 的调控作用,PDB 数据库检索 Resolution ( $\text{\AA}$ ) 最小、结合率最高的蛋白结构, PubChem 数据库中下载化学成分的 Mol2 结构,在受体和配体优化后,利用

LeDock 软件分子对接, PyMOL 进行 3D 结果可视化。

### 2.8 数据整理与分析

统计学方法采用 SPSS 统计软件, 进行 student-t 检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 网络药理学分析

使用 TCMSP 数据库和 SwissADME 平台, 获取温胆汤的成分信息, 其中半夏 (*Arum Ternatum Thunb*)、陈皮 (*Citrus Reticulata*)、生姜 (*Zingiber Officinale Roscoe*)、甘草 (*licorice*)、枳实 (*Aurantii Fructus Immaturus*) 和竹茹 (*Caulis Bambusae in Taeniam*) 的潜在活性成分分别为 3 个、5 个、1 个、70 个、17 个和 6 个。以“COPD”为关键词分别在 Gene Cards、Drugbank、OMIM 和 TDD 数据库中进行检索, 分别得到 508 个、110 个、6 个和 76 个 COPD 疾病作用靶点, 合并整理并删除重复项后, 获得 649 个 COPD 疾病

作用靶点。进一步的作用靶点预测分析显示, 温胆汤对 COPD 中 98 个作用靶点具有潜在的调控作用 (图 2), 并构建“中药-活性成分-靶点”网络图 (图 3), 利用 CytoNCA 插件计算网络拓扑学参数得出前 11 位主要活性成分 (表 2)。

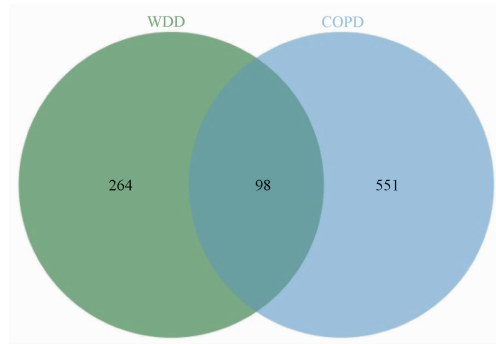
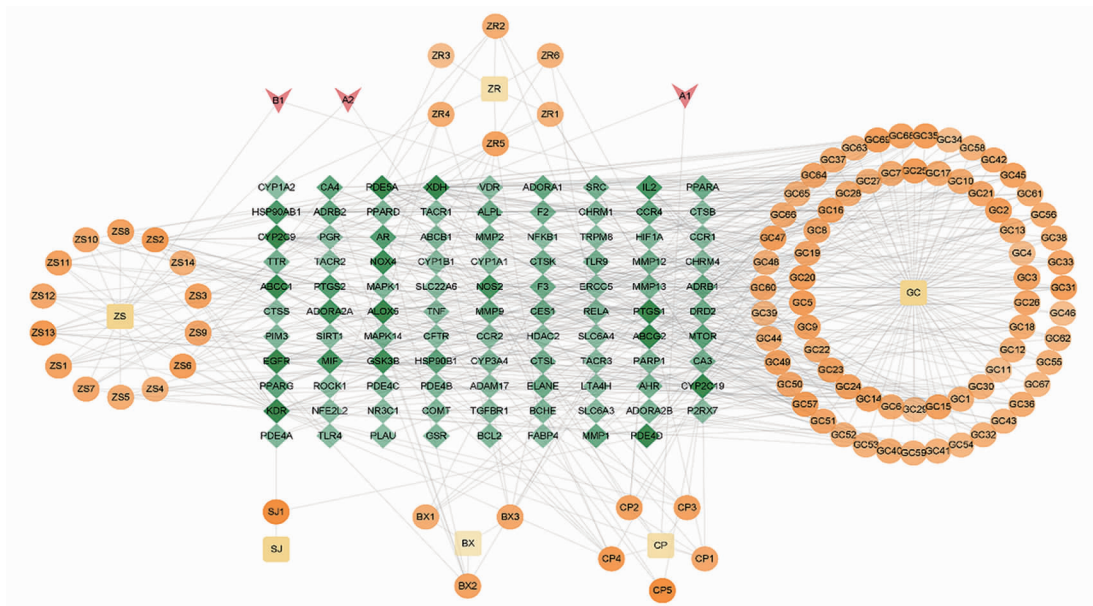


图 2 温胆汤活性成分靶点与 COPD 靶点韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of targets of active ingredients in Wendan Decoction and targets of chronic obstructive pulmonary disease and target of COPD



GC - 甘草; SJ - 生姜; BX - 半夏; CP - 陈皮; ZR - 竹茹; ZS - 枳实; A1, A2 - 陈皮、枳实共有成分; B1 - 陈皮、甘草、枳实共有成分; 黄色的圆 - 成分; 绿色的菱形 - 靶点基因; 浅黄色方框 - 药材; 粉色三角形 - 共有成分。

GC - Glycyrrhiza; SJ - Ginger; BX - Pinellia; CP - Chenpi; ZR - Zhuru; ZS - Zhishi; A1, A2 - the common component of Citrus Reticulata and Caulis Bambusae; B1 - the common component of Citrus Reticulata, licorice and Caulis Bambusae in Taeniam; The yellow circle - the component; The green diamond - the target gene; The light yellow box - the medicinal material; The pink triangle - the common component.

图 3 温胆汤活性成分治疗 COPD“中药-活性成分-靶点”网络图

Fig. 3 Network diagram of “Chinese medicine-active ingredients-targets” for the treatment of COPD with active ingredients in Wendan Decoction

为进一步探究温胆汤治疗 COPD 作用, 进行 KEGG 通路富集分析 (图 4), 结果显示温胆汤治疗 COPD 的作用可能同脂质与动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、环磷酸腺苷 (cAMP) 信号通路、磷

脂酰肌醇-3-激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt signaling pathway) 信号通路、化学致癌-活性氧 (chemical carcinogenesis-reactive oxygen species) 和 IL-17 信号通路等有关。

表2 温胆汤治疗 COPD 的核心成分

Tab. 2 Core components of Wendan Decoction soup for the treatment of COPD

MOLID	Component	OB/%	DL	Topological coefficient	Source
MOL006937	12,13-Epoxy-9-hydroxynonadeca-7,10-dienoic acid	42.15	0.24	0.54	BX1
NS	3-Tert-butyladipic acid	NS	NS	0.47	ZR5
MOL006957	(3S,6S)-3-(Benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone	46.89	0.27	0.42	BX2
MOL005013	18 $\alpha$ -Hydroxyglycyrrhetic acid	41.16	0.71	0.39	GC1
MOL004824	(2S)-6-(2,4-Dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	60.25	0.63	0.36	GC15
MOL004885	Licoisoflavanone	52.47	0.54	0.35	GC29
MOL001484	Inermine	75.18	0.54	0.33	GC41
MOL004924	(-)-Medicocarpin	40.99	0.95	0.31	GC59
MOL006129	6-Methylgingediacetate	48.73	0.32	0.29	SJ1
MOL002670	Cavidine	36.08	0.76	0.27	BX3
MOL013430	Prangenin	43.6	0.29	0.26	ZS2

注:GC - 甘草;SJ - 生姜;BX - 半夏;ZR - 竹茹;ZS - 枳实;OB - 生物利用度;DL - 类药性。

Note: GC - Glycyrrhiza; SJ - Ginger; BX - Pinellia; ZR - Zhuru; ZS - Zhishi; OB - bioavailabilit; DL - druglikeness.

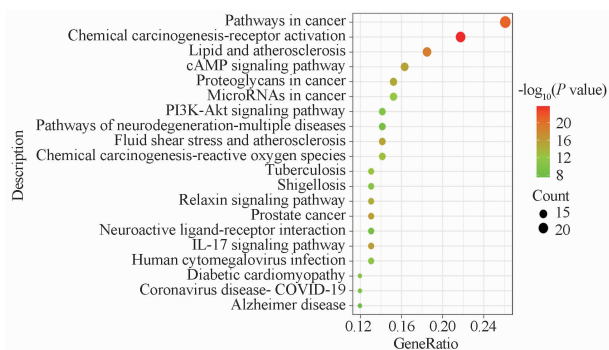
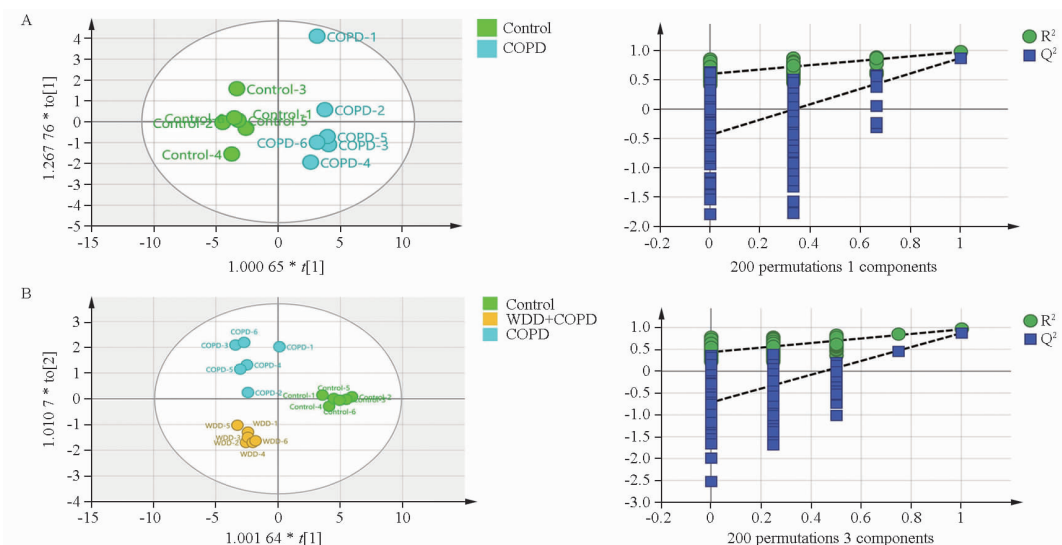


图4 温胆汤活性成分治疗 COPD 潜在靶点的京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路富集分析

Fig. 4 Enrichment analysis of KEGG signaling pathway for potential targets of active ingredients in Wendan Decoction for the treatment of COPD

### 3.2 代谢组学分析

3.2.1 多元组学分析 采用 OPLS-DA 对 Control 组和 COPD 组和三组分别进行多元统计比较,得到 OPLS-DA 得分图。如图 5A 和 5B 所示,两个 OPLS-DA 模型的参数分别为  $R^2X = 0.665$ ,  $R^2Y = 0.974$ ,  $Q^2 = 0.869$  和  $R^2X = 0.652$ ,  $R^2Y = 0.937$ ,  $Q^2 = 0.764$ ,这提示 OPLS-DA 模型性能均良好,并且各组都能呈现良好的聚类效果,组间明显区分。采用置换检验对 OPLS-DA 模型进行验证, $Q^2$  在 Y 轴截距均为负值,表明所建立的 OPLS-DA 模型未过度拟合,所示结果可靠,可进一步分析(图 5)。



A - 正常对照组和 COPD 模型组多元统计比较;B - 正常对照组、COPD 模型组和 WDD(4 g · kg<sup>-1</sup>) + COPD 模型组多元统计比较。

A - multivariate statistical comparison between control group and COPD group; B - Multivariate statistical comparison between control group, COPD group, and WDD(4 g · kg<sup>-1</sup>) + COPD group.

图5 正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)得分图和置换检验图

Fig. 5 Orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) score plot and displacement test chart

**3.2.2 差异代谢物鉴定与代谢通路分析** 基于 OPLS-DA 得分图,根据  $VIP \geq 1$ 、 $P < 0.05$ 、差异倍数 (FC)  $> 1.5$  或  $FC < 0.5$  筛选得到 12 个差异代谢物,分别是乙酰磷酸盐、2-氧异戊酸酯、柠檬酸盐、琥珀酸盐、2-丙醇、异丁酸盐、苏氨酸、N-乙酰神经氨酸、木糖、肌氨酸、2-氨基丁酸、原胆酸,具体信息见表 3。在差异代谢物中,显著上调的有 6 种,分别是原胆酸、2-丙醇、乙酰磷酸盐、柠檬酸盐、异丁酸盐、琥珀酸盐。其余则显著下调。而经过药物干预后的 WDD 组,丙二醇、N-乙酰神经氨酸、苏氨酸、原胆酸、2-氧异戊酸酯、乙酰磷酸、柠檬酸盐、异丁酸和琥珀酸盐发生显著变化 ( $P < 0.05$ ),这表明,这 9 种代谢物可能是温胆汤治疗 COPD 的关键代谢物。通路分析结果表明(图 6),COPD 大鼠相关代谢紊乱可能与柠檬酸循环,蛋氨酸、谷氨酸和丙氨酸代谢,支链脂肪酸的氧化等代谢通路相关。

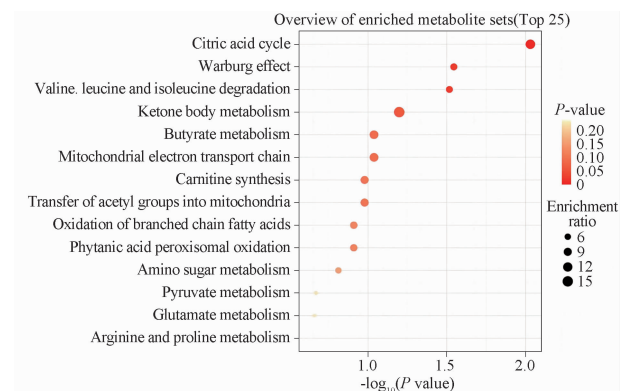
**表 3** Control 组和 COPD 组比较得到的与 COPD 相关的 12 个差异代谢物

**Tab. 3** 12 differential metabolites compared between the control and COPD group

Metabolites	Control vs COPD		
	t-tests	VIP	Fold change
2-Aminobutyric acid <sup>1)</sup>	0.000 0	1.334 3	4.387 6
Apochoic acid	0.000 1	1.280 7	0.118 7
2-Propanol <sup>1)</sup>	0.001 1	1.224 8	2.509 6
Isobutyrate <sup>1)</sup>	0.001 2	1.175 1	0.125 4
Threonine acid <sup>1)</sup>	0.001 6	1.165 3	2.892 4
N-Acetylneuraminic acid <sup>1)</sup>	0.003 9	1.136 3	3.183 8
Sarcosine	0.004 0	1.110 0	3.970 9
D-(+)-Xylose	0.004 1	1.069 8	3.996 2
Acetyl phosphate <sup>1)</sup>	0.004 2	1.068 5	0.249 0
2-Oxoisovalerate <sup>1)</sup>	0.004 6	1.068 2	0.125 5
Citrate <sup>1)</sup>	0.004 9	1.051 4	0.142 5
Succinate <sup>1)</sup>	0.006 9	1.040 4	0.108 3

注:<sup>1)</sup>温胆汤治疗 COPD 的关键代谢物。

Note:<sup>1)</sup>the key metabolites of Wendan Decoction in the treatment of COPD.



**图 6** 温胆汤作用 COPD 大鼠差异代谢物通路分析

**Fig. 6** Analysis of Differential Metabolite Pathway of Wendan Decoction in COPD Rats

### 3.3 整合分析

为揭示温胆汤治疗 COPD 的相关的基因和代谢物之间的关系,基于 Metscape 算法,建立“基因-代谢物”作用网络。结果显示,脂质代谢相关通路 (EPA 形成的假定抗炎代谢产物;过氧化物酶体氧化;白三烯代谢;花生四烯酸代谢;亚麻油酸代谢;性激素的生物合成和代谢等)和氨基酸代谢相关通路(色氨酸、酪氨酸代谢;尿素循环与精氨酸、脯氨酸、谷氨酸、天冬氨酸和天冬酰胺的代谢等),可能与温胆汤的治疗作用具有密切关联(图 7)。此外,为进一步识别温胆汤治疗 COPD 相关的核心靶点基因,采用 MCC 和 Degree 算法对上述“基因-代谢物”作用网络进行分析。结果显示,黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, *XDH*)、激酶插入区受体(kinase insert domain receptor, *KDR*)、磷酸二酯酶 5A (phosphodiesterase 5A, *PDE5A*)、细胞色素 P450 家族 2 亚家族 C 成员 9 (cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9, *CYP2C9*) 和成员 19 (*CYP2C19*) 可能是温胆汤治疗 COPD 的核心靶点,算法得分见表 4。

### 3.4 HE 染色

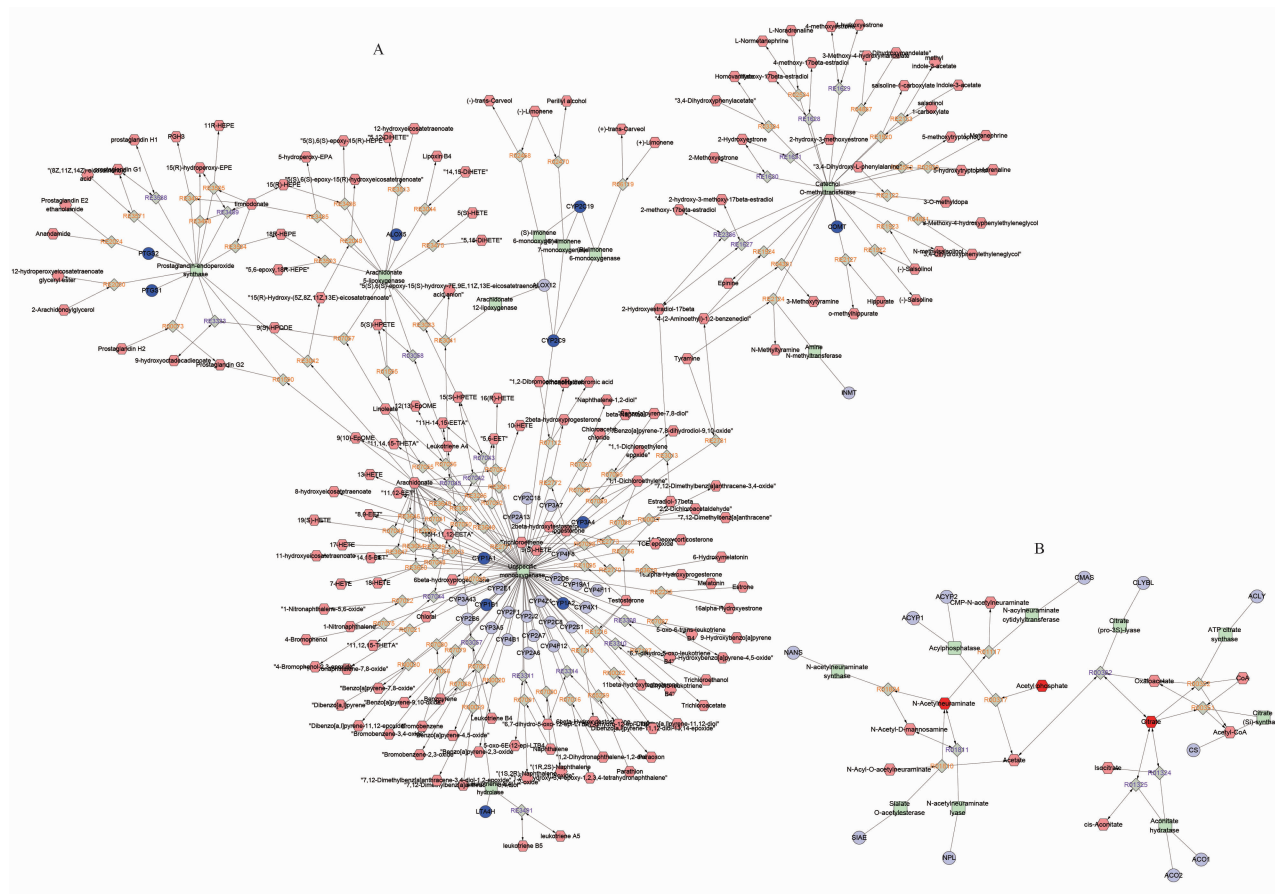
与正常对照组相比,COPD 模型组肺组织损伤明显,HE 染色以渗出为主并伴有增生,可见充血、水肿,间质可见大量炎细胞浸润、杯状细胞增生,管壁增厚以及气道狭窄。而给予温胆汤治疗后,上述病理症状得到显著改善(图 8)。

### 3.5 IL-6、TNF- $\alpha$ 含量与 MDA、SOD 活力测定

与正常对照组相比,COPD 模型组 IL-6、TNF- $\alpha$  含量和 MDA 活性显著升高,SOD 活性显著下降。同样地,给予温胆汤治疗后,IL-6、TNF- $\alpha$  含量和 MDA 活性显著下降,SOD 活性显著上升(图 9)。说明温胆汤可显著降低肺组织炎症因子水平和氧化应激损伤程度。

### 3.6 分子对接

将核心成分和核心靶点基因进行分子对接,以结合能数值大小评价对接效力标准,数值越小表明配体与受体的结合活性越好。结合能将以热图呈现(图 10),利用 PyMOL、Discovery Studio 软件将结合能小于  $-7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  对接结果进行可视化(图 11,表 5)。结果显示各核心成分和相关核心靶点基因的结合能数值均小于  $-4.25 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,这表明核心成分与核心靶点具有较强的关联性,核心成分可能是温胆汤治疗 COPD 的潜在药效成分。



A - 脂质代谢通路; B - 氨基酸代谢通路。

A - lipid metabolism pathway; B - amino acid metabolic pathway.

图7 整合网络药理学和代谢组学分析差异代谢物和差异基因

Fig. 7 Integrated network pharmacology and metabolomics analysis of differential metabolites and differential bases

表4 “基因-代谢物”作用网络算法得分表

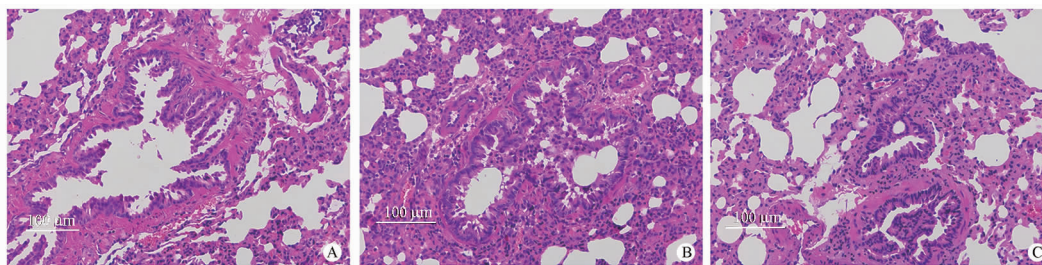
Tab. 4 Score table of the “Gene-Metabolite” action network algorithm

Core target	MCC algorithm	Degree algorithm
<i>XDH</i>	28	28
<i>KDR</i>	22	22
<i>PDE5A</i>	22	22
<i>CYP2C9</i>	17	17
<i>CYP2C19</i>	16	16

综上,将药物、靶点、代谢物和通路进行整合并基于“药物-靶点-代谢物-通路”绘制作用机制图(图12)。

#### 4 讨论

温胆汤是中医十大经典名方,收录于国家中医药管理局首批公布的《古代经典名方目录》。温胆汤在COPD的有效防治方面具有重要应用,然而

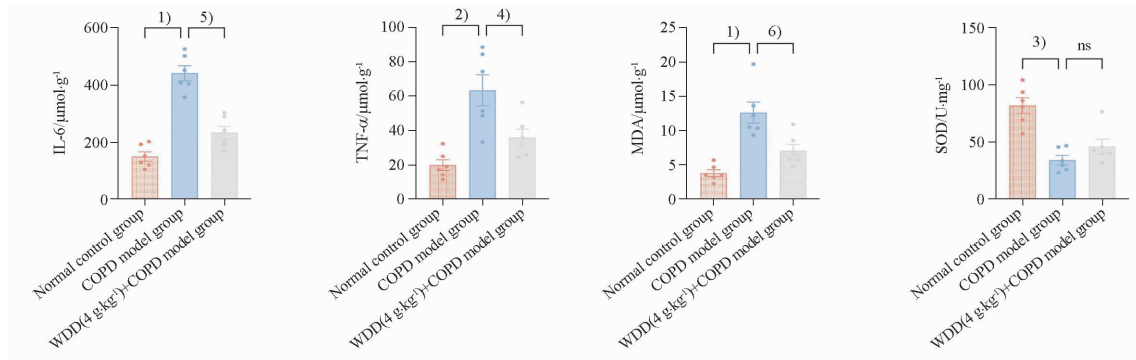


A - 正常对照组; B - COPD 模型组; C - WDD(4 g · kg<sup>-1</sup>) + COPD 模型组。

A - normal control group; B - COPD model group; C - WDD(4 g · kg<sup>-1</sup>) + COPD model group.

图8 各组肺组织的 HE 染色结果

Fig. 8 HE staining results of lung tissues in each group

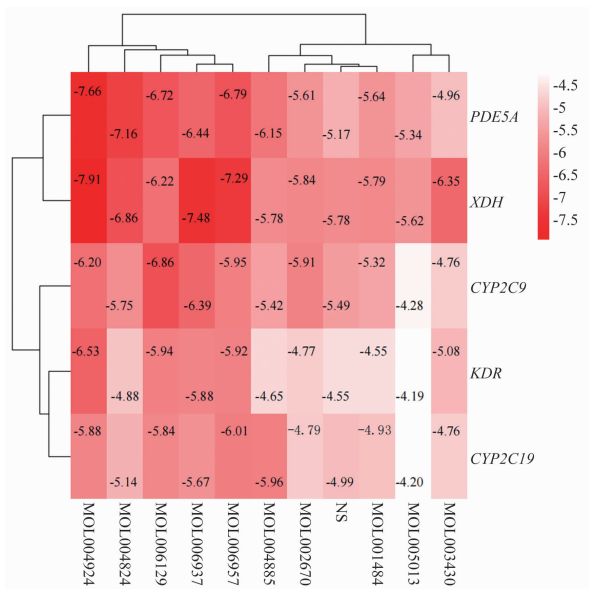


与正常对照组相比,<sup>1)</sup> $P < 0.0001$ , <sup>2)</sup> $P < 0.001$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ ;与 COPD 模型组比,<sup>4)</sup> $P < 0.05$ , <sup>5)</sup> $P < 0.0001$ , <sup>6)</sup> $P < 0.01$ 。

<sup>1)</sup> $P < 0.0001$ , <sup>2)</sup> $P < 0.001$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ , compared with the normal control group; <sup>4)</sup> $P < 0.05$ , <sup>5)</sup> $P < 0.0001$ , <sup>6)</sup> $P < 0.01$ , compared with COPD model group.

**图 9** 酶联免疫吸附试验检测白介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 含量、比色法检测丙二醛 (MDA)、超氧化歧化酶 (SOD 活性).  $n = 6, \bar{x} \pm s$

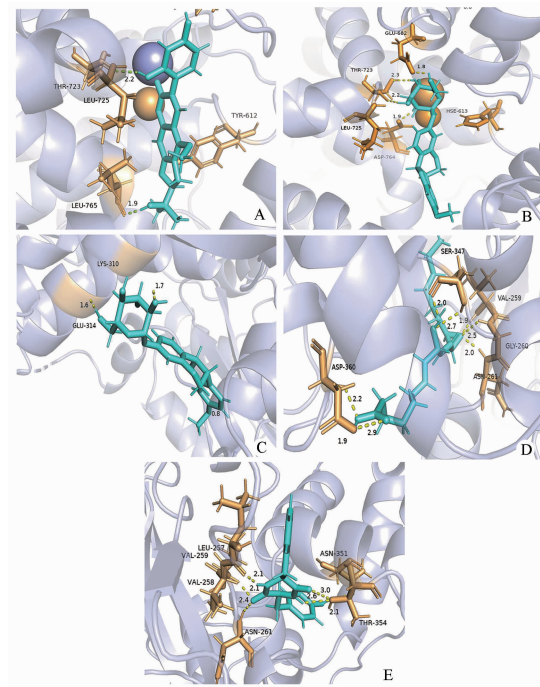
**Fig. 9** The contents of IL-6 and TNF- $\alpha$  were detected by ELISA, and the activities of MDA and SOD were detected by colorimetry.  $n = 6, \bar{x} \pm s$



**图 10** WDD 治疗 COPD 的核心成分与核心靶点的分子对接结合能热图

**Fig. 10** Molecular docking binding energy heatmap of core components and core targets in the treatment of COPD with WDD

其作用机制的不明确,这限制了温胆汤的现代应用与市场推广。本文建立了一种基于代谢组学、网络药理学和分子对接的整合药理学研究方法:首先,借助网络药理学方法揭示温胆汤治疗 COPD 的潜在机制;其次,利用代谢组学技术分析温胆汤对 COPD 诱发代谢紊乱的调节作用;而后,整合网络药理学与代谢组学研究结果,探讨温胆汤治疗 COPD 的作用机制;最后,采用实验药理学与分子模拟技术,进一步明确温胆汤治疗 COPD 的分子机制。



A - PDE5A 与 (2S)-6-(2, 4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2, 3-Dihydrofuro [3, 2-g]chromen-7-one 对接模型; B - PDE5A 与 (-)-Medicocarpin 对接模型; C - XDH 与 (-)-Medicocarpin 对接模型; D - XDH 与 12, 13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7, 10-dienoic acid 对接模型; E - XDH 与 (3S, 6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl) piperazine-2, 5-quinone 对接模型。

A - PDE5A and (2S)-6-(2, 4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2, 3-Dihydrofuro [3, 2-g]chromen-7-one docking model; B - PDE5A and (-)-Medicocarpin docking model; C - XDH and (-)-Medicocarpin docking model; D - XDH and 12, 13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7, 10-dienoic acid docking model; E - XDH and (3S, 6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl) piperazine-2, 5-quinone docking model.

**图 11** WDD 治疗 COPD 的核心成分与核心靶点的分子对接模型图

**Fig. 11** Molecular docking model diagram of core components and core targets in treatment of COPD with WDD



扑学参数较低、没有达到条件的成分,没有被本研究筛选出。核心活性成分为萜类(18 $\alpha$ -羟基甘草次酸)、黄酮类化合物(甘草异黄酮、山豆根)和异喹啉生物碱(消旋卡文定碱)等。萜类化合物具有较强的抗炎抗氧化的药理作用,与调节和抑制 Akt 活性、减弱香烟烟雾诱导的 kappa B 激酶抑制剂相关<sup>[12]</sup>。黄酮类是最常见的次生代谢物,广泛存在于植物中,其抗炎机制主要通过减轻肺组织中 TNF、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、抑制丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)磷酸化等多途径发挥疗效<sup>[13-14]</sup>。黄酮化合物除了减轻炎症以外,还可能通过增加核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor e2-related factor 2, (Nrf2)) 相关的抗氧化机制来减弱髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO) 活性和 MDA 水平,进一步缓解氧化应激<sup>[15]</sup>。

KEGG 富集通路显示,温胆汤治疗 COPD 主要涉及的通路有脂质与动脉粥样硬化、cAMP 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、化学致癌-活性氧、IL-17 信号通路等。脂质代谢途径的改变与 COPD 发病机制密切相关,其代谢紊乱可进一步加重气道炎症和细胞凋亡<sup>[16]</sup>。PI3K-Akt 信号通路通过调控哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、细胞核因子- $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)等多途径参与 COPD 气道炎症反应<sup>[17]</sup>。另一方面,ROS 是组织和细胞损伤的主要原因,香烟烟雾可刺激气道上皮细胞产生 ROS 并进一步通过 cAMP 信号激活囊性纤维化跨膜传导调节蛋白(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR),但长时间的暴露可使 CFTR 功能降低,导致黏液纤毛清除严重受损和气道阻塞,加重并延长 COPD 病程<sup>[18-19]</sup>。同时氧化应激还可作用于 PI3K-Akt 信号通路,加剧气道和肺部的炎症<sup>[20]</sup>。综上,温胆汤可能通过影响炎症反应和氧化应激密切相关通路,进而干预 COPD。

#### 4.2 代谢组学研究

COPD 大鼠差异代谢物以羧酸类化合物为主,与 ATP 的产生和失衡密切相关,影响能量转化和利用,主要表现为参与氨基酸代谢相关的琥珀酸酯含量增高,2-氧异戊酸酯和肌氨酸含量降低。Lin 等<sup>[21]</sup>研究表明,2-氧代异戊酸的下调可能参与肠易激综合征肠道免疫系统和肠道炎症的调节过程。Feng 等<sup>[22]</sup>发现,2-琥珀酸乙酯-萜醌可以下调 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like

receptor hot protein domain-associated protein 3, NLRP3), 白细胞介素-1 $\beta$ (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和半胱天冬酶-1 蛋白的表达,从而介导 NLRP3 炎症小体信号通路以产生抗炎作用。如图 7 所示,较多的靶基因与琥珀酸酯相连,这表明温胆汤可能通过调节琥珀酸酯含量进一步干预 COPD 相关的炎症反应。此外,差异代谢物还表现为调节糖酵解、糖异生的 N-乙酰神经氨酸、乙酰磷酸盐和柠檬酸盐含量增高。其中, N-乙酰神经氨酸变化更为显著, N-乙酰神经氨酸通过增加总抗氧化态和降低硫代巴比妥酸反应物显著改善肝组织氧化应激,同时, N-乙酰神经氨酸还能减少高脂肪饮食诱导的炎症反应<sup>[23]</sup>。如图 7 所示, N-乙酰神经氨酸与其他内源性代谢物(乙酰磷酸盐和柠檬酸盐)关联紧密,这提示, N-乙酰神经氨酸协同温胆汤对 COPD 氧化应激和炎症反应的调节作用具有密切关系。并且在癌细胞增殖研究中发现,异柠檬酸脱氢酶-1 催化的胞质柠檬酸盐通过线粒体柠檬酸转运蛋白诱导净胞质到线粒体柠檬酸盐通量,可以减轻锚定蛋白依赖性肿瘤体中脱离诱导的氧化应激<sup>[24]</sup>。

#### 4.3 整合分析

整合研究结果显示,脂质代谢与氨基酸代谢相关通路对于是温胆汤发挥治疗 COPD 作用的具有重要意义。一方面,花生四烯酸类作为有重要生理活性的脂质物质,可通过环加氧酶(cyclooxygenase-2, COX)、脂氧合酶和 CYP 统计是生产类花生酸类物质<sup>[25]</sup>。研究表明,花生四烯酸代谢紊乱可通过 CYPs/COX-2 途径加剧急性肺损伤中的炎症反应<sup>[26]</sup>。如图 7 显示,温胆汤可显著改善花生四烯酸代谢紊乱,这提示温胆汤可能通过干预花生四烯酸代谢从而抑制炎症反应,以达到治疗 COPD 的作用。并且温胆汤还能通过影响性激素水平进一步削弱 COPD 相关的炎症反应(图 7)。研究显示性激素代谢对肺部疾病发挥重要作用,雄激素可通过平衡 Th1/Th2 信号通路实现抗炎抗氧化的作用<sup>[27-28]</sup>。另一方面,整合分析结果显示温胆汤也可能通过调节氨基酸类代谢,从而削弱炎症反应和氧化应激,改善 COPD 症状。骨骼肌是特殊条件下的主要蛋白质来源,异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸均是支链氨基酸(branched chain amino acid, BCAAs),由于 COPD 加重所引起的高代谢和呼吸肌无力, BCAAs 浓度可能会在疾病发生时显著降低<sup>[29]</sup>。本实验结果显示,温胆汤可能通过改善 BCAAs 浓度从而影响 COPD 相

关代谢均衡(图7)。此外,整合分析结果表明温胆汤还可能通过影响色氨酸代谢和天冬氨酸代谢等,进而削弱炎症反应、改善 COPD 症状。这是因为色氨酸分解代谢及其代谢酶的活性增加可能通过抑制 Th1 和 Th17 细胞在炎症部位的积累来缓解炎症反应<sup>[30-31]</sup>。另一方面,天冬氨酸对氧化应激具有重要的调节作用<sup>[32]</sup>。因此,温胆汤对天冬氨酸代谢的调节作用,可能是其发挥抗氧化应激作用的重要机制。此外,对于糖代谢的调节作用也可能有助于温胆汤的治疗效应,考虑到柠檬酸水平与三羧酸循环以及线粒体功能的密切关联,因此,本课题组推测温胆汤可能通过干预柠檬酸水平进而改善线粒体功能障碍,从而发挥其抗氧化作用(图7)<sup>[33]</sup>。

整合分析筛选出 5 个核心靶点基因为 *XDH*、*KDR*、*PDE5A*、*CYP2C9* 和 *CYP2C19*。*XDH* 可编码黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)和 XDH, XDH 主要参与还原型辅酶 I 的产生, XO 负责 ROS 的产生<sup>[34]</sup>。*KDR* 则在 COPD 的组织重塑和血管生成中发挥作用<sup>[35]</sup>。*CYP2C9* 和 *CYP2C19* 是细胞色素 P450 酶大家族 CYP2C 亚家族中两种最重要的药物代谢酶, CYP 环氧合酶催化细胞内氨基酸的环氧化,从而产生具有抗炎、抗凋亡和抗氧化活性的环氧二十碳三烯酸,与 COPD 的发病机制相关<sup>[36]</sup>。整合分析表明炎症反应和氧化应激可能是温胆汤治疗 COPD 的关键机制。

#### 4.4 验证实验

HE 染色实验表明温胆汤可以有效地改善 COPD 造成的肺组织结构异常,削弱 COPD 引起的肺组织病理变化。先前研究显示,降低 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平可显著改善 COPD 炎症反应,并且降低 SOD、MDA 能够减轻 COPD 氧化应激反应<sup>[37-38]</sup>。本研究中相关指标的检测结果表明,温胆汤可以通过抑制炎症因子和氧化应激的过度激活进而治疗 COPD。

分子对接结果显示,核心成分与核心靶点之间均存在着良好的结合能力。其中美迪紫檀素-3-O-葡萄糖苷与 XDH 结合的亲和力最高,结合能为  $-7.91 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,结合位置处在结合界面中上部。美迪紫檀素-3-O-葡萄糖苷与 XDH 的 9 个氨基酸残基之间存在范德华力;羰基 O 与 GLU314 之间形成氢键(如图 11C)。所示对接模型中,12,13-环氧-9-羟基十九碳-7,10-二烯酸和 XDH 形成 7 个氢键,虽较美迪紫檀素-3-O-葡萄糖苷多,但结合能低于前者,这可能与化合物中苯环数量相关。更为重要的是,分子对接实验结

果也在一定程度上证实了温胆汤对炎症反应和氧化应激的干预作用。半夏中卡维丁对 PDE5A 的亲合力最佳能达到  $-6.15 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。卡维丁已被证实可以通过抑制促炎细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的产生以及 NF- $\kappa$ B 信号通路激活来预防 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤<sup>[39]</sup>。另一方面, *PDE5A* 参与平滑肌收缩和松弛、细胞增殖、炎症反应等多种机制研究<sup>[40]</sup>。并且研究显示,降低 PDE5A 的表达,可以改善烟雾诱导的肺气肿<sup>[41]</sup>。这提示对于炎症反应和氧化应激的干预作用,可能是温胆汤治疗 COPD 的重要机制。

## 5 结论

综上所述,本研究基于代谢组学、网络药理学、代谢组学和分子对接的整合药理学技术策略,采用模拟预测与实验验证结合的方法,对温胆汤治疗 COPD 的作用机制进行研究。结果表明,温胆汤可能通过 2-氧代异戊酸、N-乙酰神经氨酸和柠檬酸盐影响脂类代谢和氨基酸代谢,进而调节炎症反应和氧化应激,实现治疗 COPD 的作用。本研究为温胆汤的传承、开发提供帮助,为中药的现代化研究提供新思路。后续研究,本课题组将继续围绕温胆汤对炎症反应和氧化应激的调节作用,深入探讨温胆汤治疗 COPD 的分子机制。

## REFERENCES

- [1] YANG D R, REN T. Overview of interstitial lung disease[J]. *J Clin Intern Med* (临床内科杂志), 2022, 39(10):649-652.
- [2] YAO L J, LIU Y. Mechanism of protective effect of salidroside on chronic obstructive pulmonary disease in mice [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2017, 52(17):1515-1518.
- [3] LIN C R, BAHMED K, KOSMIDER B. Dysregulated cell signaling in pulmonary emphysema [J]. *Front Med*, 2022, 8: 762878. DOI: 10.3389/fmed.2021.762878.
- [4] WANG W W, MEI A H, QIAN H, et al. The role of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2023, 18:129-137.
- [5] Gao J X. The treatment effect of bronchodilator with inhalation glucocorticoid for chronic obstructive pulmonary disease patients and its influence on their life quality[J]. *Clin Res* (临床研究), 2021, 29(12):41-44.
- [6] GUO X M, CHEN L Z, CHEN M L, et al. Study on the protective effect and mechanism of compound yiganling on nonalcoholic fatty liver based on network pharmacology and zebrafish model [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2023, 58(7):584-591.
- [7] TAN S H, JING Y, CAO N Q, et al. Study on the mechanism of mucosal epithelial wound repair in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease with Guben cough Medicine [J]. *Chin J Basic Med* (中国中医基础医学杂志), 2018, 24(7):1008-1011.
- [8] YANG P, WANG Y H. Primary exploration of Wendan Decoction's function of regulating qi activity [J]. *China J Tradit Chin*

- Med Pharm* (中华中医药杂志), 2012, 27(3):646-648.
- [ 9 ] DU S, ZHAO K W, LIU S H, *et al.* Research progress and related thinking of Wendan Decoction [J]. *Chin Basic Med J* (中国中医基础医学杂志), 2019, 25(12):1764-1768.
- [10] MA L, SHI H Y, CAI M C, *et al.* Analysis on ingredients of Wendan Decoction absorbed into plasma based on UPLC-QE-Orbitrap-MS[J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2022, 33(5):1090-1097.
- [11] SONG Y P, CUI D J, MAO P Y, *et al.* Establishment of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease and the effect of drug intervention[J]. *Chin J Intern Med* (中华内科杂志), 2000(8):51-52,73-74.
- [12] CAO X, WANG Y, CHEN Y, *et al.* Advances in traditional Chinese medicine for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023: 116229. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116229.
- [13] GUAN Y, LI F F, HONG L, *et al.* Protective effects of liquiritin apioside on cigarette smoke-induced lung epithelial cell injury [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2012, 26(4):473-483.
- [14] WANG H, YANG T, WANG T, *et al.* Phloretin attenuates mucus hypersecretion and airway inflammation induced by cigarette smoke[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 55: 112-119.
- [15] YU D, LIU X, ZHANG G, *et al.* Isoliquiritigenin inhibits cigarette smoke-induced COPD by attenuating inflammation and oxidative stress via the regulation of the Nrf2 and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1001. DOI: 10.3389/fphar.2018.01001.
- [16] CHEN H P, LI Z Y, DONG L L, *et al.* Lipid metabolism in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2019, 14:1009-1018.
- [17] LIANG K K, WANG Z W, HUANG K T, *et al.* Recent advances in the regulation of airway inflammation by PI3K-Akt signaling pathway in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Chin J Res Crit Care Med* (中国呼吸与危重监护杂志), 2022, 21(10):751-755.
- [18] WONG F H, ABUARISH A, MATTHES E, *et al.* Cigarette smoke activates CFTR through ROS-stimulated cAMP signaling in human bronchial epithelial cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 314(1):C118-C134.
- [19] DRANSFIELD M, ROWE S, VOGELMEIER C F, *et al.* Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: roles in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 205(6):631-640.
- [20] MA Z Y, HE Z Y, ZHONG X N, *et al.* Research progress of PI3K/Akt signaling pathway and related drugs in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Guangdong Med J* (广东医学), 2014, 35(20):3257-3260.
- [21] LIN X W, LIU X, XU J J, *et al.* Metabolomics analysis of herb-partitioned moxibustion treatment on rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome[J]. *Chin Med*, 2019, 14(1):1-10.
- [22] FENG B R, ZHAO X Y, ZHAO W, *et al.* Ethyl 2-succinate-anthraquinone attenuates inflammatory response and oxidative stress via regulating NLRP3 signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 719822. DOI: 10.3389/fphar.2021.719822.
- [23] YIDA Z, IMAM M U, ISMAIL M, *et al.* High fat diet-induced inflammation and oxidative stress are attenuated by N-acetylneuraminic acid in rats[J]. *J Biomed Sci*, 2015, 22:96. DOI: 10.1186/s12929-015-0211-6.
- [24] DAI W T, WANG Z C, WANG G, *et al.* FASN deficiency induces a cytosol-to-mitochondria citrate flux to mitigate detachment-induced oxidative stress [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(8): 112971. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112971.
- [25] MCREYNOLDS C B, HWANG S H, YANG J, *et al.* Pharmaceutical effects of inhibiting the soluble epoxide hydrolase in canine osteoarthritis[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 533. DOI: 10.3389/fphar.2019.00533.
- [26] YANG H H, DUAN J X, LIU S K, *et al.* A COX-2/sEH dual inhibitor PTUPB alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by inhibiting NLRP3 inflammasome activation[J]. *Theranostics*, 2020, 10(11): 4749. DOI: 10.7150/thno.43108.
- [27] SATHISH V, MARTIN Y N, PRAKASH Y. Sex steroid signaling: implications for lung diseases[J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 150: 94-108.
- [28] KIKUCHI N, ISHII Y, MORISHIMA Y, *et al.* Nrf2 protects against pulmonary fibrosis by regulating the lung oxidant level and Th1/Th2 balance[J]. *Respir Res*, 2010, 11(1): 31. DOI:10.1186/1465-9921-11-31.
- [29] KUTSUZAWA T, SHIOYA S, KURITA D, *et al.* Plasma branched-chain amino acid levels and muscle energy metabolism in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Clin Nutr*, 2009, 28(2):203-208.
- [30] HUANG Q, WU X J, GU Y Y, *et al.* Detection of the disorders of glycerophospholipids and amino acids metabolism in lung tissue from male COPD patients [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 839259. DOI: 10.3389/fmolb.2022.839259.
- [31] THOMAS R, QIAO S, YANG X. Th17/Treg Imbalance: Implications in Lung Inflammatory Diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5):4865. DOI: 10.3390/ijms24054865.
- [32] UBHI B K, CHENG K K, DONG J Y, *et al.* Targeted metabolomics identifies perturbations in amino acid metabolism that subclassify patients with COPD [J]. *Mol Biosyst*, 2012, 8(12): 3125-3133.
- [33] WANG Y Q, LI P J, CAO Y Y, *et al.* Skeletal Muscle Mitochondrial Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Underlying Mechanisms and Physical Therapy Perspectives [J]. *Aging Dis*, 2023, 14(1):33. DOI: 10.14336/AD.2022.0603.
- [34] KOVACS L, SU Y C. Redox-dependent calpain signaling in airway and pulmonary vascular remodeling in COPD[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 967: 139-160.
- [35] MYRONENKO O, FORIS V, CRNKOVIC S, *et al.* Endotyping COPD: hypoxia-inducible factor-2 as a molecular "switch" between the vascular and airway phenotypes? [J]. *Eur Respir Rev*, 2023, 32(167): 220173. DOI: 10.1183/16000617.0173-2022.
- [36] LU H, XU D C, YANG Y X, *et al.* Genetic polymorphisms of CYP2C9/CYP2C19 in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *COPD*, 2020, 17(5):595-600.
- [37] QING P. Effects of phlegm-guiding sijun decoction on sputum and serum TNF- $\alpha$  and IL-6 in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [D]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(8):9104-9112.
- [38] ZHANG W, WANG Y K, SU J, *et al.* Protective effect and mechanism of extract of diaphragma juglandis fructus on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2023, 58(3):254-259.
- [39] NIU X F, LIU F, LI W F, *et al.* Cavidine ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via NF- $\kappa$ B signaling pathway in vivo and in vitro [J]. *Inflammation*, 2017, 40(4): 1111-1122.
- [40] SEIMETZ M, PARAJULI N, PICHL A, *et al.* Cigarette smoke-induced emphysema and pulmonary hypertension can be prevented by phosphodiesterase 4 and 5 inhibition in mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6):e0129327. DOI: 10.1371/journal.pone.0129327.
- [41] VAN NIJNATTEN J, BRANDSMA C-A, STEILING K, *et al.* High miR203a-3p and miR-375 expression in the airways of smokers with and without COPD [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 5610. DOI: 10.1038/s41598-022-09093-0.

(收稿日期:2023-01-03)