

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20241126.002

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20241126.1453.004>

基于网络药理学和动物实验探讨六味补气方对慢性阻塞性肺疾病的干预作用

赵晶燕, 吴柏合, 栾雪婧, 蒋庆要, 方 远, 刘向国✉

(安徽中医药大学中西医结合学院, 安徽 合肥 230012)

[摘要] **目的:** 基于网络药理学并通过动物实验和分子对接技术验证, 初步探讨六味补气方干预 COPD 的作用及其机制。 **方法:** 采用在线数据库筛选六味补气方的主要活性成分及其对应靶点蛋白和 COPD 基因, 并选取交集基因; 通过 STRING 数据库构建蛋白互作 (PPI) 网络分析; 利用 David 数据库对交叉靶点进行基因本体 (GO)、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。采用 AutodockTools 和 PyMOL 进行分子对接并进行可视化处理。使用脂多糖 (LPS) 联合烟熏法建立 SD 雄性大鼠 COPD 模型, 给予六味补气方进行干预后进行样本采集。通过检测大鼠肺功能指标, HE 染色观察肺组织病理变化及 ELISA 法检测肺组织匀浆中白介素 10 (IL-10) 水平对网络药理学预测结果进行验证。 **结果:** 网络药理学分析得到复方有效成分 76 个, 潜在靶点 768 个。GO 富集分析得到 884 个 GO 条目; KEGG 富集分析得到 139 条信号通路。分子对接显示: 六味补气方治疗 COPD 的主要活性成分为山奈酚、槲皮素、油酸、 β -谷甾醇和川陈皮素等。六味补气方与 COPD 的核心靶点肿瘤坏死因子 (TNF)、RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1)、白介素 6 (IL-6) 和 IL-10 有较好的结合能。实验研究发现, 与正常组比较, 模型组大鼠肺功能降低 ($P < 0.01$), 肺组织中出现慢性支气管炎和肺气肿病理变化, 肺组织匀浆中 IL-10 水平下降 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各用药组肺功能改善 ($P < 0.01$), 支气管肺组织炎症反应和病理变化改善, 肺组织匀浆中 IL-10 水平上升 ($P < 0.01$)。 **结论:** 六味补气方通过多成分, 多靶点及多信号通路的作用, 增强肺功能, 减轻支气管与肺组织的病理特征并抑制炎症反应, 其中抑炎因子 IL-10 可能发挥主要作用。

[关键词] 六味补气方; 慢性阻塞性肺疾病; 网络药理学; 动物实验; 炎症

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2025)13-1007-15

Intervention effect of compound traditional Chinese medicine Liuwei Buqi decoction in treatment of COPD based on network pharmacology and animal experiments

ZHAO Jingyan, WU Baihe, LUAN Xuejing, JIANG Qingyao, FANG Yuan, LIU Xiangguo ✉

(College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

[Foundation Project]: This study was supported by Natural Science Foundation of Anhui Province (1708085MH222)

[Author]: ZHAO Jingyan, E-mail: 1486766367@qq.com.

[Correspondence to]: LIU Xiangguo, Ph.D., Associate Professor, Master Supervisor; E-mail: 408738774@qq.com.

Received: 2024-07-22

Revised: 2024-11-12

JHMu, 2025;31(13):1007-1021

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism of the compound Chinese medicine of Liuwei Buqi decoction in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) based on network pharmacology, molecular docking and animal experiments. **Methods:** Using the online databases to obtain the relevant chemical ingredients, target proteins of Liuwei Buqi decoction and related disease genes, to choose the intersection genes, and to build protein interaction (PPI) network analysis by STRING databases, relating targets for gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis by David databases. Using the AutodockTools and PyMOL to achieve the molecular docking and visual process. Establishing the COPD model by

[基金项目] 安徽省自然科学基金资助项目 (1708085MH222)

[作者简介] 赵晶燕, E-mail: 1486766367@qq.com。

[通讯作者] 刘向国, 博士, 副教授, 硕士研究生导师; E-mail: 408738774@qq.com。

[收稿日期] 2024-07-22

[修回日期] 2024-11-12

网络出版时间: 2024-11-26 16:26:25

lipopolysaccharide (LPS) combined with cigarette smoking. Givig Liuwei Buqi decoction to intervent and collecting samples after drug intervention. The prediction results of network pharmacology were verified by detecting the lung function, and the pathological changes of lung tissue by H&E staining and detecting the level of interleukin-10 (IL-10) in lung tissue homogenate were by ELISA. **Results:** Network pharmacology analysis identified 76 active components and 768 potential targets. GO enrichment analysis obtained 884 GO entries. KEGG enrichment analysis obtained 139 signaling pathways. The molecular docking results showed that the main active ingredients of Liuwei Buqi decoction in the treatment of COPD are kaempferol, quercetin, oleic acid, β -sitosterol and nobiletin. Liuwei Buqi decoction has a good binding energy with TNF, AKT1, IL-6 and IL-10, which are the core targets of COPD. Experimental results discovered that compared with the normal control group, the lung function of the model group was decreased ($P < 0.01$). Chronic bronchitis and pulmonary emphysema occurred in the lung tissue. The level of IL-10 was decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the lung function of each medication group was improved ($P < 0.01$, $P < 0.05$). The pathological changes of bronchopulmonary tissues were improved. The level of IL-10 in lung tissue was increased ($P < 0.01$). **Conclusion:** Liuwei Buqi decoction can increase lung function, relieve the pathological changes of COPD bronchial and lung tissue and inhibit the inflammatory response by multiple components, targets and signaling pathways. The suppression of inflammation factor IL-10 may play an significant role.

[Key words] Liuwei Buqi decoction; Chronic obstructive pulmonary disease; Network pharmacology; Animal experiments; Inflammation

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 目前已经成为全球第 3 大死亡原因, 大约有近 4 亿人患病^[1]。COPD 是以气流受限不完全可逆且呈进行性发展为特征的异质性肺部疾病^[2]。临床上通常以支气管扩张剂、 β_2 受体激动剂和茶碱类等西药进行治疗^[3]。但长期使用上述类型药物可能会导致心率失常、电解质紊乱等副作用, 严重时甚至会导致认知功能障碍^[4]。COPD 归属中医学中“肺胀”“喘证”或“喘病”等范畴, “肺胀者, 虚满而喘咳”记载于《黄帝内经》, 其证候的复杂性可由体质、气候和环境等因素决定, 虚、痰、瘀等基本病理因素随之产生。长期吸烟、气道慢性炎症、蛋白酶与抗蛋白酶失衡及氧化剂和抗氧化剂失衡都是加重 COPD 的重要因素^[5]。安徽中医药大学第一附属医院的特色中药制剂六味补气方, 由黄芪、人参、益智仁、玉竹、陈皮和肉桂组成, 全方通过阴阳平衡, 补通施治相结合及寒温互调的方法达到正邪兼顾的效果, 在临床运用取得了良好的疗效。前期研究表明, 六味补气方可以增强患者的肺功能和运动耐力, 改善呼吸活动症状, 同时还能降低外周血 C 反应蛋白水平, 对急性期 COPD 患者的临床症状改善具有重要作用^[6,7]。

网络药理学于 2007 年被首次提出, 其系统地阐述复方中药的靶点基因和生物学功能, 近年来已成为揭示中药方剂药理作用机制的一种有效途径^[8,9]。六味补气方药物成分较多, 作用机制尚不清晰。因此, 本研究凭借网络药理学, 分子对接技术及动物实验验证初步探讨六味补气方治疗 COPD 的作用及机制。

1 资料与方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 六味补气方的有效成分及靶标筛选 以黄芪、人参、玉竹、陈皮和肉桂为关键词检索 TCMSP (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 数据库, 设置口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (DL) ≥ 0.18 为标准^[10]。由于肉桂各成分的 DL 值均未高于 0.18, 根据文献, 可将其 DL 值设定 ≥ 0.12 ^[11]。以益智仁为关键词检索 TCM-ID (<https://bidd.group/TCMID/index.html>) 数据库, 获取益智仁的化学成分, 再利用 SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) 及 SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 数据库获取其作用靶点, 将肠胃吸收 (GIabsortion) 结果为“High”和 5 种毒理性中“ Yes ” ≥ 2 作为判定条件, 筛选益智仁的活性化合物。在 Uniprot (<https://www.uniprot.org>) 和 Drugbank (<https://go.drugbank.com>) 平台规范基因名称。

1.1.2 六味补气方核心成分筛选 将规范过后的基因名称导入软件 Cytoscape 3.7.2, 并构建“药物-有效成分-作用靶点”网络。根据“network analyzer”获取相关拓扑分析参数, 将度值 (Degree) 从大到小排序, 筛选排名靠前的化合物作为六味补气方的核心成分。

1.1.3 COPD 靶点预测与“疾病-药物”交集靶点获取 利用 Genecard (<https://www.genecards.org/>) 及 OMIM (<https://omim.org/>) 数据库对关键词“Chronic Obstructive Pulmonary Disease”和“COPD”进行检索, 收集并剔除重复靶点; 再利用 Venny (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>)

网站绘制六味补气方作用靶点和 COPD 疾病靶点的韦恩图。

1.1.4 蛋白互作网络构建与核心靶标筛选 将中药与疾病的交集靶点输入 STRING (www.string-db.org), 设定人类“Homo sapiens”, 置信度 > 0.4 , 获取蛋白互作网络 (PPI) 信息。将 PPI 网络信息导入 Cytoscape3.7.2, 采用度值、介数中心性 (BC) 和紧密中心度 (CC) 三种算法分析排名前 15 的核心靶点, 并绘制 PPI 蛋白网络互作图^[12]。

1.1.5 GO 及 KEGG 通路的富集分析 以“Homo sapiens”为限定物种条件, 对导入 David 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>) 的六味补气方各成分靶点与 COPD 疾病的交集基因进行 GO 分类富集分析和 KEGG 通路富集分析。设定 $P < 0.05$, 根据富集基因数从多到少的顺序, 选取排名前 20 的 GO 分类和排名前 30 的 KEGG 通路, 利用微信信平台 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 制作富集气泡图。

1.2 分子对接验证

1.2.1 建立核心蛋白受体和小分子配体 通过 Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载小分子配体的 2D 结构, 利用 Pymol2.6.0 对小分子配体进行最小结合能的设置, 并以 mol2 格式保存。在 Uniprot 数据库找到蛋白受体的对应 ID, 并在 PDB (<https://rcsb.org>) 数据库下载蛋白的 PDB 格式文件。筛选原则: 人源蛋白; 较高分辨率; 具备原始配体^[13]。

1.2.2 分子对接验证 通过 AutodockTools 对核心蛋白受体去除水分子并加氢, 以 pdbqt 格式保存, 再导入小分子配体处理为 pdbqt 格式。运用 Autodock1.5.6 和 Pymol2.6.0 进行分子对接和可视化处理, 输出三维图。

1.3 实验验证

1.3.1 动物及分组 购自河南斯贝克斯生物科技有限公司的 60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量 (180 ± 20) g, 生产许可证号为: SCXK (豫) 2020-0005。无菌环境, 恒温送风, 温度 $22^{\circ}\text{C} \sim 24^{\circ}\text{C}$, 适度 $55\% \sim 60\%$, 普通饲料进食, 自由饮水, 适应性饲养一周。动物实验得到安徽中医药大学动物伦理委员会的批准, 动物伦理号为 AHUCM-rats-2024002。把 60 只大鼠依照随机数字表法随机分成 6 组, 每组 10 只, 分别为正常组、模型组、六味补气方低剂量组、中剂量组和高剂量组及桂龙咳喘宁组。

1.3.2 药物与试剂 于安徽中医药大学第一附属

医院中药房购入六味补气方组方中药 (黄芪 15 g、玉竹 10 g、人参 10 g、陈皮 6 g、益智仁 6 g、和肉桂 3 g)。将 600 mL 水倒入组方中药中并浸泡半小时, 大火煮沸转小火慢炖 1 h。后将药汤倒至 1 000 mL 量筒, 置于水浴锅中持续浓缩, 配置成浓度梯度为 0.265、0.53、1.06 g/mL 的六味补气方低、中、高剂量悬液。桂龙咳喘宁片购自桂龙药业 (安徽) 有限公司, 按 0.82 g/mL 配置成混悬液。IL-10 试剂盒购自上海赛培森生物科技有限公司, 货号 SPS-30796; 脂多糖 (LPS) 购自合肥禾曼生物科技有限公司, 货号: BS904; 黄山牌香烟购自安徽中烟工业有限责任公司; PBS 购自 Servicebio。

1.3.3 仪器 烟熏箱 (自制); 动物肺功能检测仪 (型号: Ani Rws 2005, 北京贝兰博公司); 切片机 (型号: KH-Q330, 湖北孝感海阔科技有限公司); 生物组织脱水机 (型号: KH-TS, 湖北孝感海阔科技有限公司); 生物组织包埋机 (型号: YD-6L, 金华益迪医疗设备有限公司); 光学显微镜 (型号: BX53, OLYMPUS); 酶标仪 (型号: 318C+, 上海沛欧分析仪器有限公司)。

1.3.4 COPD 大鼠模型构建 香烟烟雾 (CS) 吸入是目前医学领域最常见的制备 COPD 模型的方法, 本实验根据前期 COPD 模型构建方法^[14,15], 通过气道内滴入脂多糖 (LPS) 和 CS 吸入, 对分组后的 60 只大鼠建立 COPD 实验动物模型。LPS 滴注: 各组大鼠 (除正常组) 在实验第 1 天和第 15 天腹腔注射 3% 的戊巴比妥 (30 mg/kg) 麻醉, 气管内滴入脂多糖 $200 \mu\text{L}$ (标准: $1 \text{ mL}/1 \text{ mg}$)。CS 吸入 (非滴注日): 各组大鼠 (除正常组) 置于自制烟熏箱中, 一次性点燃 20 只香烟进行烟熏。每天 2 次, 每次半小时, 造模 4 周。将大鼠肺功能指标及肺组织病理学变化作为判断模型是否构建成功的标准^[14]。

1.3.5 药物干预 根据前期课题组的有效实验量, 正常组和模型组大鼠以成人等效剂量的 10 倍, 灌服 0.9% 生理盐水 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 六味补气方低、中、高剂量组大鼠分别以成人等效剂量的 5、10 和 15 倍, 灌服以浓度梯度为 0.265、0.53、1.06 g/kg 的六味补气方混悬液; 桂龙咳喘宁组大鼠以成人等效剂量的 10 倍, 灌服以 0.9% 生理盐水制成的桂龙咳喘宁片混悬液 $0.82 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[14]。按 $1 \text{ mL}/100 \text{ g}$ 灌服量计算^[16]。于造模第 5 周第 1 天进行干预, 每天 1 次, 共计 4 周。

1.3.6 肺功能检测 动物肺功能检测仪检测各组大鼠肺活量 (FVC)、第三秒用力呼气容积 (FEV_{0.3}) 和 FEV_{0.3}/FVC 比值。

1.3.7 H&E 染色检测 支气管肺组织的病理学变化 将 4% 多聚甲醛固定后的各组大鼠支气管肺组织进行梯度浓度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、连续 5 μm 厚切片后进行 H&E 染色,染色结束后用二甲苯封片后光镜观察肺组织病理学变化并摄片。

1.3.8 ELISA 法检测肺组织匀浆中 IL-10 水平 每组大鼠取 0.1 g 肺组织,加入 0.9 mL PBS(缓冲液)进行超声震碎研磨,离心取上清。依照 ELISA 试剂盒的说明进行检测,在 450 nm 处检测吸光度值,绘制标准曲线,计算各组 IL-10 水平。

1.3.9 统计学处理 采用 SPSS 25.0 进行数据分析,GraphPad Prism 10.1.2 进行绘图,资料以均数 $\pm$

标准差($\bar{x} \pm s$)表示,符合正态分布且方差齐,采用单因素方差分析检验进行多组间比较,采用最小显著性差异法进行两两比较;不符合正态分布,采用非参数检验秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学分析结果

2.1.1 六味补气方有效成分及作用靶点 通过 TC-MSP、TCM-ID 和 SwissTargetPrediction 数据库筛选出目标中药的有效成分对应靶点。结果显示,六味补气方的有效成分 76 个,数据整合去重后得到潜在作用靶点 856 个,见表 1 及表 2。

表 1 黄芪、人参、玉竹、陈皮、肉桂的主要活性成分
Tab 1 The main active ingredient of Huangqi, Rensheng, Yuzhu, Chenpi and Rougui

中药	编号	MOLID	化合物名称	OB(%)	DL
黄芪	HQ1	MOL000211	Mairin	55.38	0.78
	HQ2	MOL000239	Jaranol	50.83	0.29
	HQ3	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75
	HQ4	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78
	HQ5	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
	HQ6	MOL000371	3,9-di-O-methylnissolin	53.74	0.48
	HQ7	MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	41.72	0.69
	HQ8	MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30
	HQ9	MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O- β -D-glucoside	36.74	0.92
	HQ10	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42
	HQ11	MOL000387	Bifendate	31.10	0.67
	HQ12	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
	HQ13	MOL000398	isoflavanone	109.99	0.30
	HQ14	MOL000417	Calycosin	47.75	0.24
	A	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
	HQ15	MOL000433	FA	68.96	0.71
	HQ16	MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
	HQ17	MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	49.28	0.62
	HQ18	MOL000442	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48
人参	HQ19	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
	RS1	MOL002879	Diop	43.59	0.39
	RS2	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76
	RS3	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
	RS4	MOL003648	Inermin	65.83	0.54
	A	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
	RS5	MOL005308	Aposiopolamine	66.65	0.22
	RS6	MOL005314	Celabenzine	101.88	0.49
	RS7	MOL005317	Deoxyharringtonine	39.27	0.81
	RS8	MOL005318	Dianthramine	40.45	0.20
	RS9	MOL005320	arachidonate	45.57	0.20

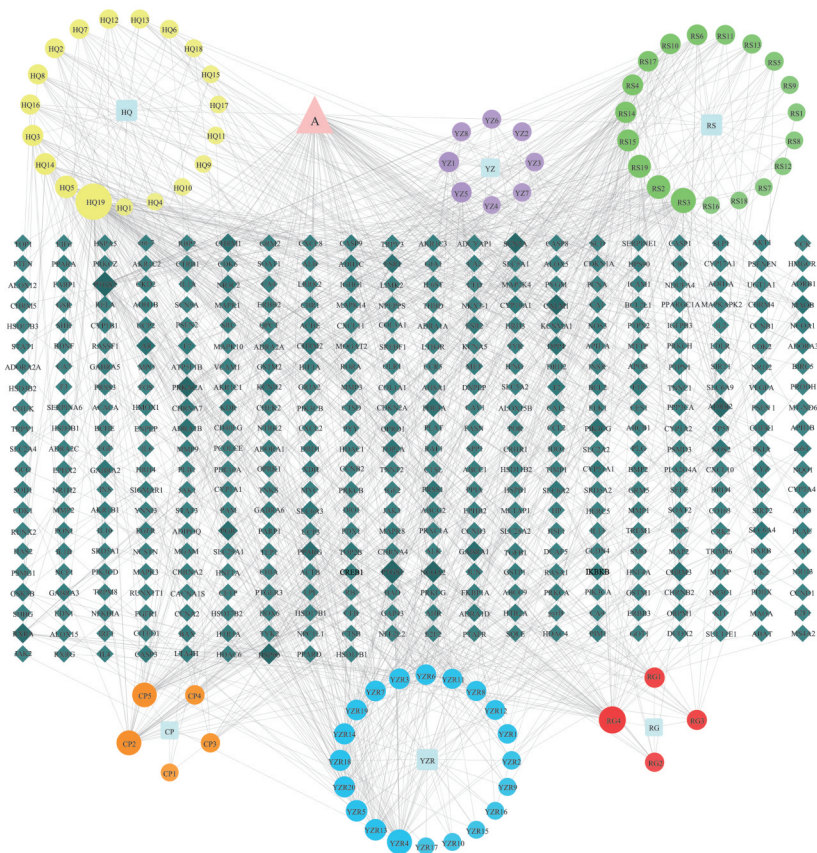
续表				
中药	编号	MOLID	化合物名称	OB(%) DL
玉竹	RS10	MOL005321	Frutinone A	65.90 0.34
	RS11	MOL005344	ginsenoside rh2	36.32 0.56
	RS12	MOL005348	Ginsenoside-Rh4_qt	31.11 0.78
	RS13	MOL005356	Girinimbin	61.22 0.31
	RS14	MOL005357	Gomisin B	31.99 0.83
	RS15	MOL005360	malkangunin	57.71 0.63
	RS16	MOL005376	Panaxadiol	33.09 0.79
	RS17	MOL005384	suchilactone	57.52 0.56
	RS18	MOL005399	alexandrin_qt	36.91 0.75
	RS19	MOL000787	Fumarine	59.26 0.83
	YZ1	MOL010387	3-o-beta-d-glucopyranosyl-(1-2)-[beta-d-xylopyranosyl-(1-3)]-beta-d-glucopyranosyl-(1-4)-galacto- pyranosyl-25(S)-spirost-5(6)-en-3beta,14alpo-diol_qt	104.58 0.79
	YZ2	MOL010395	4',5,7-trihydroxy-6-methyl-8-methoxy-homoisoflavanone	89.70 0.33
	YZ3	MOL010396	4',5,7-trihydroxy-6,8-dimethyl-homoisoflavanone	59.76 0.30
	YZ4	MOL010408	polygosides E_qt	38.73 0.78
	YZ5	MOL010411	4',5,7-trihydroxy-6-methyl-homoisoflavanone	82.94 0.27
	YZ6	MOL010412	4'-methoxy-5,7-dihydroxy-6,8-dimethyl-homoisflavanone	57.14 0.34
	YZ7	MOL000332	n-coumaroyltyramine	85.63 0.20
	YZ8	MOL000483	(Z)-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-N-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]acrylamide	118.35 0.26
陈皮	CP1	MOL000359	sitosterol	36.91 0.75
	CP2	MOL004328	naringenin	59.29 0.21
	CP3	MOL005100	5,7-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)chroman-4-one	47.74 0.27
	CP4	MOL005815	Citromitin	86.90 0.51
	CP5	MOL005828	nobiletin	61.67 0.52
肉桂	RG1	MOL000131	EIC	41.90 0.14
	RG2	MOL002003	(-)-Caryophyllene oxide	32.67 0.13
	RG3	MOL000057	DIBP	49.63 0.13
	RG4	MOL000675	oleic acid	33.13 0.14

2.1.2 “药物-有效成分-作用靶点”网络及核心成分 利用Cytoscape3.7.2对六味补气方的76个有效成分构建“药物-有效成分-作用靶点”网络图并进行拓扑分析,网络图中节点的大小和颜色深浅变化与度值成正比,见图1和表3。拓扑分析结果显示:六味补气方中Degree值排名较前化合物有:kaempferol(山奈酚)、quercetin(槲皮素)、oleic acid(油酸)、beta-sitosterol(β-谷甾醇)和 nobiletin(川陈皮素)等。

2.1.3 COPD疾病相关靶点及六味补气方治疗COPD的潜在靶点 将Genecard和OMIM数据库获取的COPD疾病靶点与六味补气方的潜在靶点进行映射,得到86个交集基因,再通过Venny2.1.0进行可视化,见图2。

2.1.4 PPI网络构建及核心靶点获取 将86个交集基因上传至STRING数据库并下载tsv格式文件,文件导入Cytoscape3.7.2进行拓扑分析,得到84个节点(去除2个游离节点)和1644条边的PPI网络图,网络中节点的大小,颜色深浅变化对应度值的大小,度值越大代表与其他靶点的联系越强,见图3A。再通过cytoNCA的算法获取排名前15的核心靶点,绘制PPI网络图和拓扑分析参数表格,结果显示:TNF、AKT1、IL-6、细胞肿瘤抗原P53(TP53)和IL-10可能为六味补气方药治疗COPD的核心靶点,见图3B和表4。

2.1.5 GO和KEGG通路富集分析 以 $P\leq 0.01$ 为筛选条件,对剔除2个游离节点后的84个交集基因进行GO富集分析,共得到884个GO富集条目,其



HQ:黄芪;YZR:益智仁;RS:人参;YZ:玉竹;CP:陈皮;RG:肉桂;A:黄芪和人参共有成分;黄色:黄芪;蓝色:益智仁;绿色:人参;紫色:玉竹;橙色:陈皮;红色:肉桂;粉色:黄芪和人参共有成分;深绿色:六味补气方相关靶点

图1 药物-有效成分-作用靶点图

Fig 1 Drug-active ingredient-target diagram

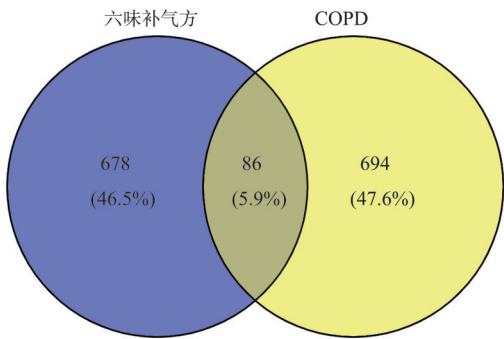


图2 六味补气方活性成分靶点-疾病靶点韦恩图

Fig 2 Active ingredient targets-Disease target Venn diagram of Liuwei Buqi decoction

中包括724条生物过程(BP)、85个分子功能(MF)和75个细胞组成(CC)。BP主要与脂多糖的应答、炎症反应、MAP激活酶调节和氧化反应等有关;MF主要与蛋白质结合、细胞因子活性和蛋白酶结合等有关;CC主要与细胞外基质、细胞膜、细胞质和膜筏等有关。通过KEGG通路分析,共得到139

条信号通路,KEGG通路富集分析显示主要与PI3K-Akt信号通路、JAK-STAT信号通路和IL-17信号通路等有关,见图4。

2.2 分子对接结果

将PPI蛋白互作图中度值排名前15的核心蛋白(TNF、IL-6、ALB、INS、AKT1、BCL2、IL-1B、IF-NG、HIF1A、TP53、TGFB1、MMP9、EGFR、IL-10、STAT3)与六味补气方度值排名前5的核心成分(山奈酚、槲皮素、油酸、 β -谷甾醇、川陈皮素)利用Autodock1.5.6进行分子对接。小分子配体和蛋白受体的结合能 ≤ -5.0 kcal/mol,表示可以结合,结合能数值越小,结合能越稳定^[17]。见表5。将IL-6和IL-10的对接结果导入PyMol2.6.0进行可视化处理并输出三维图,见图5。

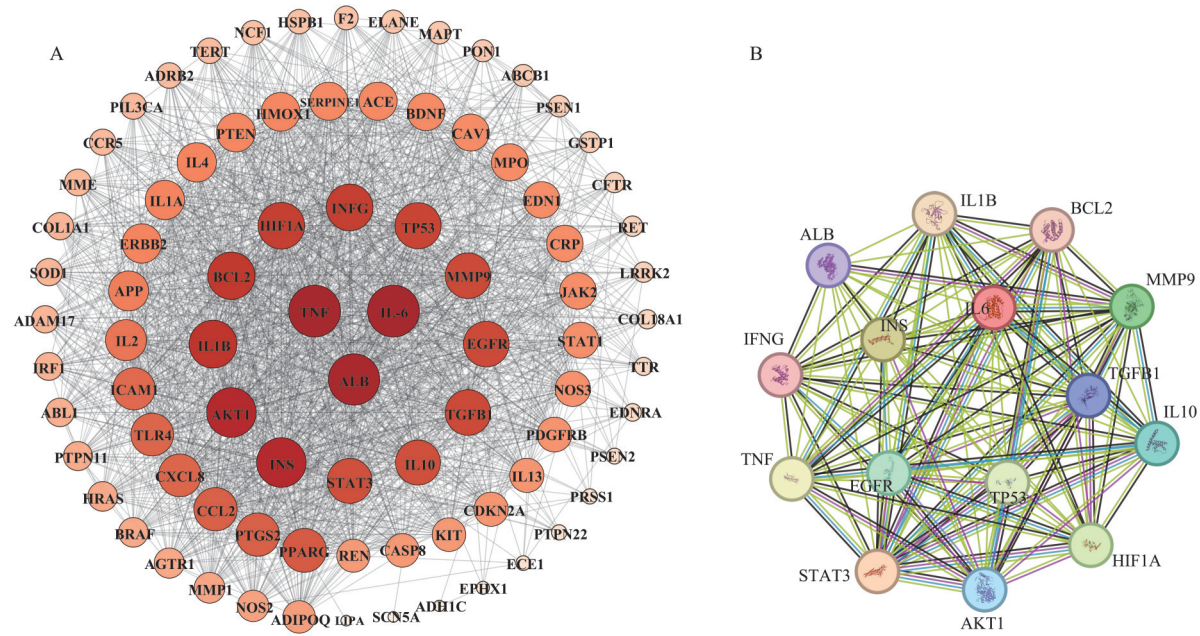
2.3 动物实验结果

2.3.1 肺功能检测 与正常组比较,模型组的肺功能参数显著下降($P<0.01$);与模型组比较,用药组的肺功能参数显著上升($P<0.01, P<0.05$);与桂龙

表 2 益智仁的主要活性成分
Tab 2 The main active ingredients of Yizhiren

中药	编号	MOLID	化合物名称	GI absorption	Druglikeness				
					Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
益智仁	YZR1	MOL000122	Eucalyptol	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR2	MOL001867	Isovanillin	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR3	MOL004564	Kaempferide	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR4	MOL001017	Linalool	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR5	MOL000198	Linalool (+)	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR6	MOL000432	Linolenic Acid	High	YES	NO	NO	YES	NO
	YZR7	MOL000421	Niacin	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR8	MOL004067	Nootkatone	High	YES	YES	YES	YES	NO
	YZR9	MOL012688	Oxyresveratrol	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR10	MOL001739	Palmitoleic Acid	High	YES	YES	NO	YES	NO
	YZR11	MOL002844	Pinocembrin	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR12	MOL000105	Protocatechuic Acid	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR13	MOL009356	Techtochrysin	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR14	MOL000251	Rhamnocitrin	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR15	MOL009340	Labda-8(17), 12-Diene-15, 16-Dial	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR16	MOL004786	Terpineol	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR17	-	Ligucyperonol	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR18	MOL004470	Propionic Acid	High	YES	NO	YES	YES	NO
	YZR19	MOL002560	Chrysin	High	YES	YES	YES	YES	YES
	YZR20	MOL000357	Daucosterol	High	YES	NO	YES	YES	NO

注:活性成分 Ligucyperonol 在 TCMSP 中未找到相应化合物代号,故用“-”代替。



A:药物疾病交集基因的PPI网络图;B:Degree值前15的核心靶点PPI网络图

图 3 六味补气方-COPD 靶标蛋白相互作用网络

Fig 3 Target protein interaction network of Liuwei Buqi decoction-COPD

哮喘宁组比较,六味补气方高剂量组的肺功能参数升高,六味补气方低、中剂量组的肺功能参数下降 ($P<0.01, P<0.05$),见图 6。

2.3.2 肺组织支气管的病理学改变 正常组大鼠的肺泡壁和气管壁完整;肺泡形态规则,无炎性物质渗出。与正常组比较,模型组大鼠肺泡壁和气管

表3 六味补气方核心成分的拓扑参数分析
Tab 3 Topological parameter analysis of core components of Liuwei Buqi decoction

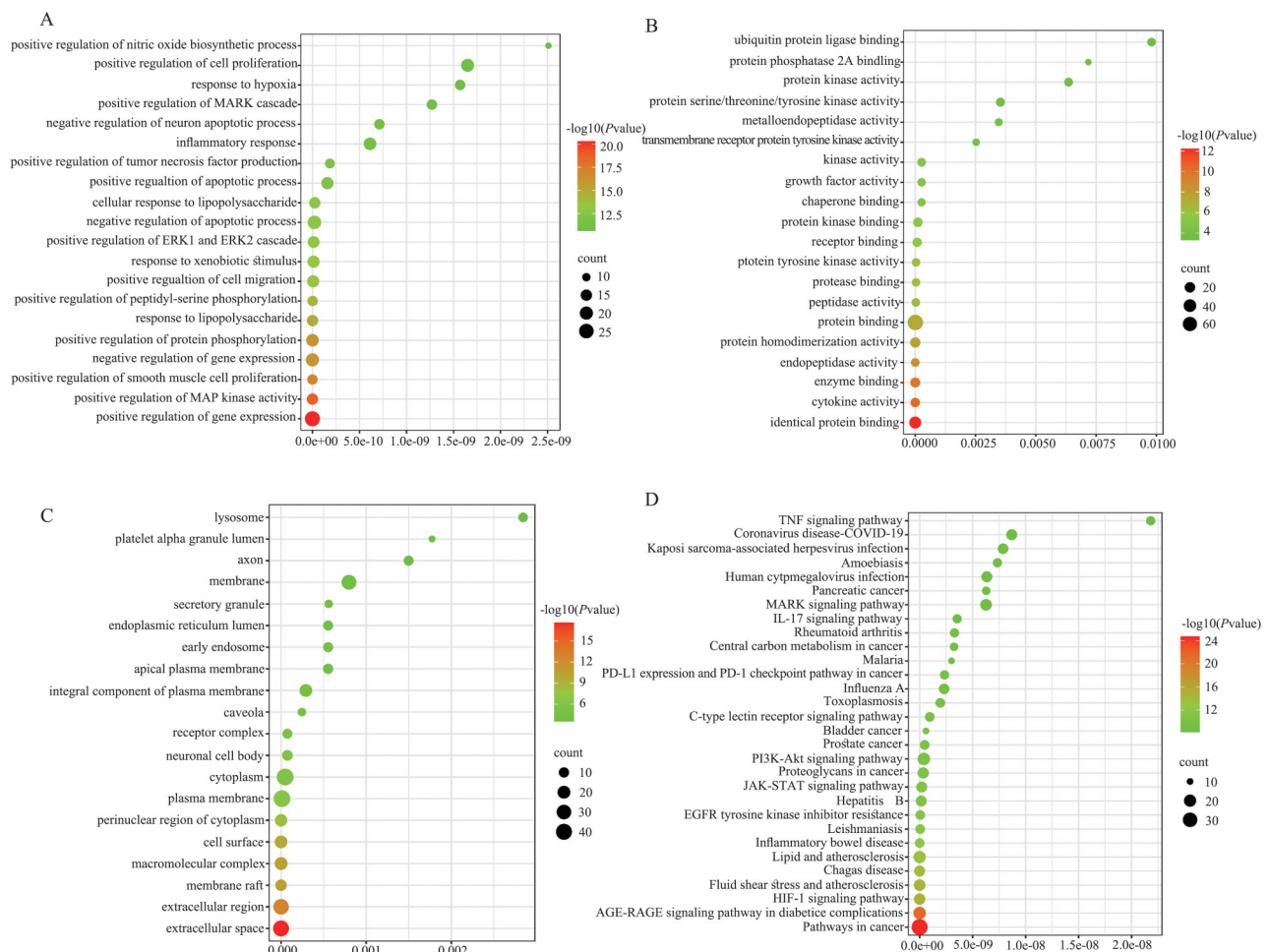
编号	化合物名称	所属中药	度值(Degree)
A	kaempferol (山奈酚)	黄芪 人参	101
HQ19	quercetin (槲皮素)	黄芪	94
RG4	oleic acid (油酸)	肉桂	49
RS3	beta-sitosterol (β -谷甾醇)	人参	39
CP5	nobiletin (川陈皮素)	陈皮	37

壁增厚,肺泡形态不规则,有大量炎性物质渗出。与模型组相比,桂龙咳喘宁组和六味补气方低、中、高剂量组大鼠的支气管、气管壁、肺泡壁等肺组织的病理变化都得到了不同程度的改善,明显特征为肺组织和支气管周围的炎性物质渗出减少,改善最为明显的组是六味补气方高剂量组,见图7。

2.3.3 肺组织匀浆中 IL-10 的水平 与正常组比较,模型组肺组织中 IL-10 水平下降($P<0.01$);与

表4 排名前15的核心靶点拓扑参数分析
Tab 4 Analysis of topological parameters of the top 15 core targets

序号	靶点	度值	介数中心性	紧密中心性
1	TNF	73	196.717 6	0.892 473 1
2	IL-6	73	175.855 4	0.882 978 7
3	ALB	72	194.160 9	0.873 684 2
4	INS	69	161.465 8	0.846 938 8
5	AKT1	69	130.567 4	0.855 670 1
6	BCL2	65	132.102 5	0.821 782 2
7	IL-1B	66	139.992 3	0.821 782 2
8	IFNG	64	96.946 22	0.805 825 2
9	HIF1A	64	107.361 6	0.813 725 5
10	TP53	63	95.898 71	0.805 825 2
11	TGFB1	63	154.843 5	0.798 076 9
12	MMP9	62	83.130 41	0.790 476 2
13	EGFR	62	125.136 5	0.798 076 9
14	IL-10	61	68.961 68	0.775 700 9
15	STAT3	61	70.244 93	0.790 476 2



A:GO-BP分析图;B:GO-MF分析图;C:GO-CC分析图;D:KEGG 富集分析图

图4 交集靶点的GO与KEGG富集分析

Fig 4 GO and KEGG enrichment analysis of intersection targets

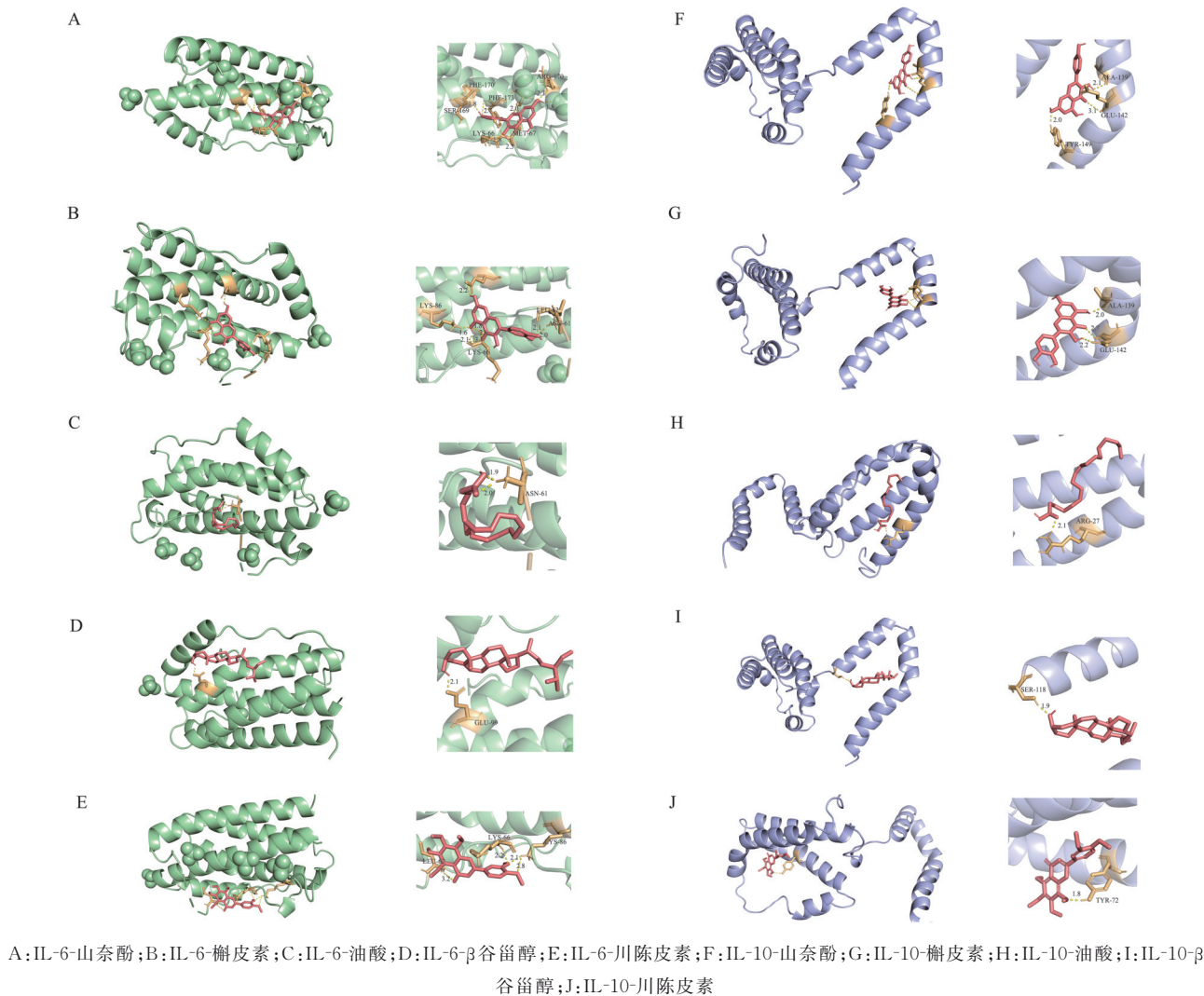


图5 六味补气方部分活性成分与关键蛋白的分子对接图

Fig 5 Molecular docking diagram of key targets and active ingredients of Liuwei Buqi decoction

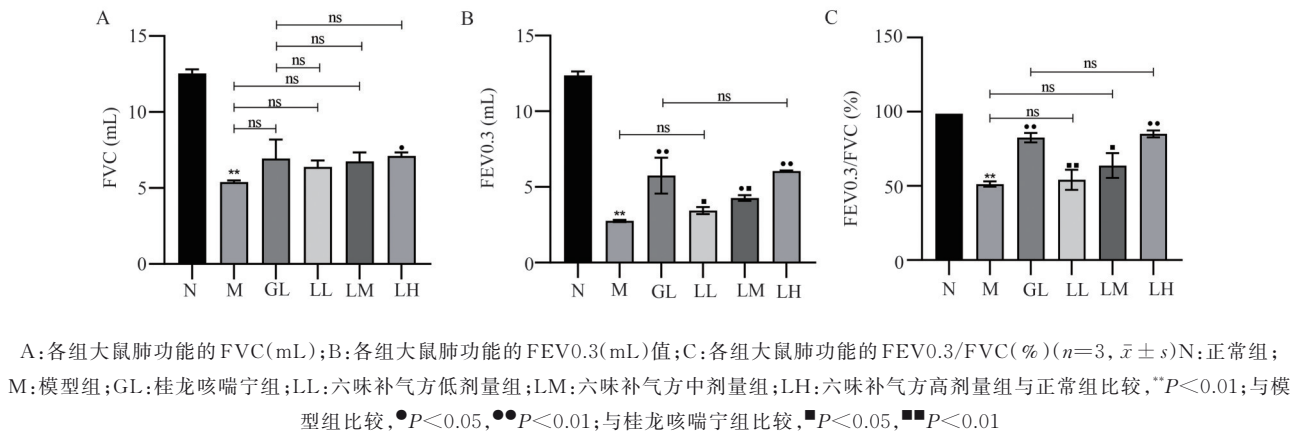
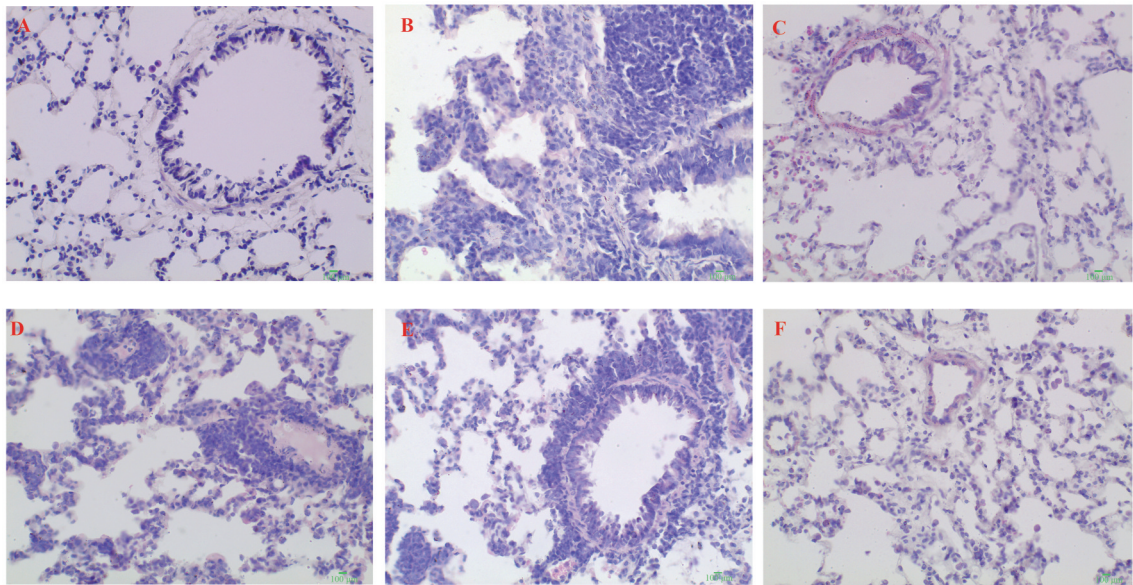


图6 各组肺功能参数

Fig 6 Parameters of lung function of each group

模型组比较,各用药组 IL-10 水平上升($P<0.01$); 与桂龙咳喘宁组比较,六味补气方低剂量组 IL-10 下降($P<0.01$),六味补气方中剂量组 IL-10 水平下

降($P<0.01$),六味补气方高剂量组 IL-10 水平上升。见图8。



$n=3$, A: 正常组; B: 模型组; C: 桂龙咳喘宁组; D: 六味补气方低剂量组; E: 六味补气方中剂量组; F: 六味补气方高剂量组

图7 各组大鼠肺组织病理学变化(H&E染色, 200×)

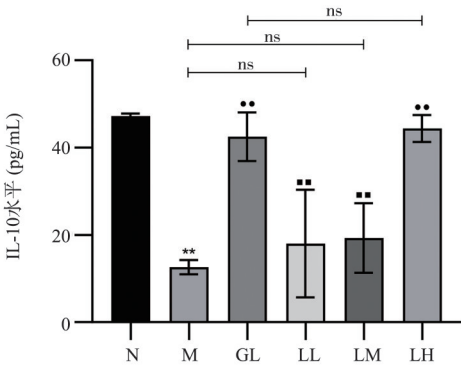
Fig 7 Pathological changes of lung tissue in each group (H&E staining, 200×)

表5 六味补气方治疗COPD的核心成分与核心靶点结合能 (kcal/mol)

核心靶点	山奈酚	槲皮素	油酸	β -谷甾醇	川陈皮素
TNF	-9.0	-8.9	-7.3	-9.7	-7.3
IL-6	-10.7	-10.9	-7.3	-10.7	-8.3
ALB	-10.4	-10.8	-7.0	-11.4	-9.1
INS	-6.3	-6.2	-3.7	-7.1	-6.1
AKT1	-7.6	-7.9	-4.0	-7.0	-6.5
BCL2	-10.4	-10.9	-7.2	-10.7	-8.8
IL-1B	-10.7	-11.6	-7.3	-10.6	-8.3
IFNG	-10.4	-10.9	-7.4	-10.7	-9.8
HIF1A	-10.4	-10.8	-7.4	-10.7	-8.3
TP53	-5.6	-5.5	-3.8	-7.1	-5.5
TGFB1	-9.9	-10.4	-4.0	-7.7	-7.9
MMP9	-8.8	-8.6	-5.5	-7.3	-6.8
EGFR	-10.4	-10.9	-7.3	-10.7	-8.7
IL-10	-7.0	-6.7	-4.4	-7.8	-6.4
STAT3	-8.0	-8.2	-4.2	-6.9	-7.1

3 讨论

本研究通过网络药理学预测及分子对接与动物实验的验证,探索了六味补气方治疗COPD的潜在作用机制。六味补气方是基于新安医学“固本培元”理论而创制的,全方由黄芪、益智仁、人参、玉竹、陈皮、肉桂组成,具有益气化痰祛瘀之功^[18]。《本



$n=3, \bar{x} \pm s$, 与正常组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ●● $P<0.01$; 与桂龙咳喘宁组比较, ■ $P<0.01$

图8 各组肺组织匀浆IL-10水平
Fig 8 The levels of IL-10 in lung tissue homogenate in each group

草经集注》中记载黄芪有补气固表、敛疮生肌之功效,黄芪甲苷是黄芪的主要活性成分之一,可抑制气道炎症反应,而黄芪多糖可调节免疫失衡^[19-21]。益智仁性温,味辛,多用于脾肾虚寒不固所致诸症^[22]。人参可大补元气,温补脾肺,其中人参中含有皂苷类、糖类等多种化学成分,在调节免疫和抗炎抗菌等多方面发挥显著作用,也可改善COPD短气喘促,咳喘、咳痰等症状^[23,24]。玉竹对于肺胃阴伤,燥热咳嗽,内热消渴等症状具有较好的功效,其主要成分玉竹多糖具有免疫调节^[25]。《中国药典》中记录了川陈皮素、橙皮苷、橘皮素为陈皮的主要化学成分,具有疏理气机,祛湿化痰的作用^[26]。肉桂

性辛、大热,可祛风散寒,又善补火助阳^[27]。肺为娇脏,需用甘凉、甘平、甘温等手段,将脏腑机能进行调补,达到补脾益肺的效果^[28]。六味补气方全方以参芪为君,益智为臣,陈皮、玉竹、肉桂为辅,通过脏腑间的生克制化,达到补益肺气,缓解肺功能障碍,改善肺部病理改变和减轻免疫炎症反应的作用,是治疗 COPD 的重要方剂。既往临床研究显示,六味补气方能够明显改善 COPD 稳定期患者的生存质量,增强患者的肺功能,降低患者的发病率^[6]。桂龙咳喘宁片由“龙骨、牡蛎、桂枝、法半夏、黄连、芍药、生姜、杏仁、炙甘草、瓜蒌皮”组成^[14]。有研究表明,桂龙咳喘宁片具有改善肺通气,降低炎症反应及平喘镇咳的作用,因此本研究选取具有扶正祛邪,宣肺,止咳化痰功效的桂龙咳喘宁片作为阳性对照药物以增强实验的客观性和可行性^[29,30]。

在本研究中,根据“药物-有效成分-作用靶点图”发现六味补气方的有效成分主要为山奈酚、槲皮素、油酸、川陈皮素和 β -谷甾醇等。其中,六味补气方可治疗 COPD 的活性成分有 76 个,相关作用靶点有 778 个,相互作用网络图显示各成分均对应多个靶点,各靶点又受多个成分调控,其中黄芪和人参的有效成分各含 2 个,由此推测黄芪和人参在六味补气方在发挥重要作用,符合六味补气方中参芪为君的地位。既往研究表明,山奈酚、槲皮素、川陈皮素都属于天然植物中的黄酮类化合物,具有低毒性、高活性的特点,能够抑制炎症和氧化应激^[31,32]。山奈酚可以使 AKT1 蛋白的磷酸化失活,阻断 PI3K-Akt 信号通路,发挥抗炎作用,同时可以抑制 LPS 介导的炎症反应^[33,34]。槲皮素能够减少肺部炎症以及炎症和氧化介质的释放,有研究表明,槲皮素可以缓解由香烟烟雾引起的肺气肿,减轻肺损伤,改善肺功能,是预防 COPD 的潜在替代品^[35]。川陈皮素不仅具有抗炎和抗氧化应激作用,此外还起到抗肺纤维化的作用^[36]。 β -谷甾醇对降低急性肺损伤大鼠促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 含量及升高抑炎因子 IL-10 和 IL-4 含量的作用非常显著,同时还具有抗肿瘤及免疫调节作用^[37,38]。

通过 PPI 网络图,发现治疗 COPD 的核心靶点有 TNF、IL-6、AKT1 和 IL-10 等。根据分子对接验证的结果可知:六味补气方的核心成分与 PPI 网络中核心靶点的结合能基本 ≤ -5 kcal/mol,说明六味补气方中的核心成分与核心蛋白结合较稳定,可以起到干预 COPD 的作用,其中结合能较稳定的有

IL-6、AKT1 等。COPD 的发生、发展与气道炎症因子和细胞之间相互作用有着重要关联,甚至加重 COPD 的患病程度^[39]。IL-6 作为炎症水平标志物,与可溶性受体集合后可活化免疫细胞,加强机体释放大量促炎细胞因子和趋化因子,使机体正常组织细胞损坏及免疫系统失衡^[40]。Bian 等^[34]研究结果表明,LPS 能够诱导炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的过度表达。李学斌研究发现 *Foxp3* mRNA 与 IL-10 在 COPD 患者肺组织的含量明显下降,与此同时 COPD 的发生、发展还与 Treg 细胞数目的减少密切相关^[41]。

通过 GO 富集分析结果显示,生物过程主要集中于脂多糖应答、炎症反应、MAP 激活酶的调节和氧化反应等;分子功能主要与蛋白质结合、细胞因子活性和蛋白酶结合等有关;核心蛋白主要集中于细胞外基质、细胞膜、细胞质和膜筏等位置。KEGG 富集结果表明,六味补气方可介导 PI3K-Akt、JAK-STAT 和 IL-17 等信号通路对 COPD 发挥治疗作用。炎症细胞因子和下游靶点可由 PI3K/Akt 信号通路通过参与慢阻肺气道炎症反应进行调控^[42]。有研究表明,JAK-STAT 通路的激活与炎症因子的表达密切相关,通过激活 JAK-STAT 通路,扰乱 Th17/Treg 平衡,从而加重 COPD 病程^[43]。IL-17 信号通路可以精确调控炎症转录过程中白细胞介素的含量,对自身免疫性疾病与炎症反应中的调节作用极其关键^[44]。基于上述论断,六味补气方干预 COPD 的过程可能与炎症、免疫等通路相关。

本课题组前期研究发现六味补气方可以下调 IL-4 水平,上调 INF- γ 水平并纠正 Th1/Th2 的平衡^[45]。课题组前期研究涉及 Th1/Th2 免疫平衡关系。Th1 和 Th2 细胞均由 Th 细胞分化而来,同时 Th 细胞还能分化 Th17 细胞,Th17 细胞介导的炎症反应可以通过 IL-10 及其受体的分泌和信号转导抑制^[46]。因此,本研究将围绕 IL-10 展开系列体内验证。依据前法,通过 LPS 滴注联合烟熏的造模方法建立 COPD 大鼠模型,检测肺功能参数和观察支气管肺组织病理变化,根据上述两种指标判断本研究的 COPD 模型成功建立与否。同时选取与六味补气方有效成分结合能较高的抑炎因子 IL-10,通过 ELISA 法检测 COPD 大鼠肺组织匀浆中 IL-10 水平。实验结果表明,六味补气方各给药组呈现明显量效关系,量效关系最为明显的组为六味补气方高剂量组,说明六味补气方能够显著增强大鼠肺功

能,改善支气管肺组织病理变化和抑制炎症反应,进一步验证了网络药理学预测的结果。

综上所述,六味补气方治疗 COPD 具有多成分、多靶点和多通路的作用特点。联合网络药理学与体内验证发现,六味补气方可增强肺功能,改善组织病理变化和上调 IL-10 水平,初步探究了复方治疗 COPD 的作用机制与核心靶点 IL-10 密切相关。另外,通过网络药理学和分子对接技术,初步探究六味补气方治疗 COPD 的作用机制,通过山奈酚、槲皮素、川陈皮素等有效成分,作用于 TNF、AKT1、IL-6、和 IL-10 等多个核心靶点,影响 PI3K-Akt、JAK-STAT 和 IL-17 等多条信号通路实现,可为下一步研究提供参考。此外,本研究采用的实验研究方法较简单,尚未对预测中可治疗 COPD 的有效成分进行体内验证,后续有必要开展更深入的分子生物学实验,为本研究所预测结果提供更加精准的实验依据。

作者贡献度说明:

赵晶燕:设计文章的框架与思路,撰写论文初稿;赵晶燕,栾雪婧:绘制图表和论文结果的可视化呈现;赵晶燕,吴柏合,蒋庆要和方远:动物实验设计和实施;刘向国:论文终稿审定、文章质量控制及审校。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- Sandelowsky H, Weinreich UM, Aarli BB, et al. COPD-do the right thing[J]. *Bmc Fam Pract*, 2021, 22(1):244.
- 代义龙,徐小凡,徐小虎,等.慢性阻塞性肺疾病急性加重期发病机制的研究进展[J]. *临床肺科杂志*, 2024, 29(6):932-936.
Dai YL, Xu XF, Xu XH, et al. Research progress on the pathogenesis of acute exacerbations of COPD[J]. *J Clin Pulmonary Med*, 2024, 29(6):932-936.
- 王凤燕,张冬莹,梁振宇,等.面向全科医生的《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021年修订版)》解读[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(29):3660-3663, 3677.
Wang FY, Zhang DY, Liang ZY, et al. Interpretation of guideline for the diagnosis and treatment of COPD (2021 revision) for general practitioners [J]. *Chin General Pract*, 2021, 24(29):3660-3663, 3677.
- Lai CC, Wang YH, Wang CY, et al. Comparative effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers on the risk of pneumonia and severe exacerbations in patients with COPD[J]. *Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, 13:867-874.
- 张玉,王博,姜廷桢,等.中医治疗慢性阻塞性肺疾病的研究进展[J]. *实用中医内科杂志*, 2023, 37(10):55-59.
Zhang Y, Wang B, Jiang TZ, et al. Research progress of TCM therapy for chronic pulmonary disease[J]. *J Practi Tradit Chin Int Med*, 2023, 37(10):55-59.
- 张开宇,刘欣欣,梅少奇,等.六味补气方联合信必可治疗慢性阻塞性肺病稳定期(肺气虚证)临床研究[J]. *中医临床杂志*, 2019, 31(1):137-140.
Zhang KY, Liu XX, Mei SQ, et al. Research of Liuwei Buqi decoction combine symbicort for COPD stabilization (lung qi deficiency syndrome) in patients with clinical observation [J]. *Clin J Tradit Chin Med*, 2019, 31(1):137-140.
- 张开宇,吴同利,刘欣欣,等.六味补气方联合常规治疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重期的疗效研究[J]. *中国中医急症*, 2016, 25(11):2115-2117.
Zhang KY, Wu TL, Liu XX, et al. Observation on the clinical effect of six-ingredient qi-invigorating formulae combined with conventional treatment on acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2016, 25(11):2115-2117.
- Hopkins AL. Network pharmacology[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10):1110-1111.
- Zhao L, Zhang H, Li N, et al. Network pharmacology, a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309:116306.
- 马璐,田国祥,耿辉,等.中药系统药理数据库 TCMSP 及其分析应用简介[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12(12):1413-1416.
Ma L, Tian GX, Geng H, et al. Chinese medicine system pharmacology database TCMSP and its analytical application [J]. *Chin J Evid Based Cardiovasc Med*, 2020, 12(12):1413-1416.
- 何佳慧,陈佳悦,陈心怡,等.基于网络药理学和体外实验探索黄连-大黄-肉桂复方治疗肝癌的作用机制[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2023, 33(12):1082-1086, 1091.
He JH, Chen JY, Chen XY, et al. Study on mechanism of *Rhizoma Coptidis-Rheum Officinale-Cinnamon* compound in treating hepatocellular carcinoma based on network pharmacology and *in vitro* experiments [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis*, 2023, 33(12):1082-1086, 1091.
- 王卉,丁焕章,杨勤军,等.基于证候-药物的新安医家治疗咳嗽医案数据挖掘研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2024, 31(3):34-41.
Wang B, Ding HZ, Yang QJ, et al. Study on data mining

- of cough medical records treated by xin'an doctors based on syndrome-drugs [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2024, 31(3):34-41.
- 13 刁嵩, 白文佩, 赵立东. 左慈丸的化学成分及治疗围绝经期听力损失的作用机制研究: 基于网络药理学与分子对接技术[J]. *中国全科医学*, 2024, 27(12):1493-1503.
Diao H, Bai WP, Zhao LD. Chemical composition and mechanism of *Zuoci* pill in treating perimenopausal hearing loss based on network pharmacology and molecular docking technology [J]. *Chin General Pract*, 2024, 27(12):1493-1503.
 - 14 吴柏合, 于芳春, 谢桂元, 等. 六味补气方对慢性阻塞性肺疾病细胞焦亡的干预作用及机制研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2024, 44(5):583-591.
Wu BH, Yu FC, Xie GY, et al. Effect and mechanism of Liuwei Buqi formula on pyroptosis in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2024, 44(5):583-591.
 - 15 李丽球, 谢丽华, 孙圣华. 慢性阻塞性肺疾病动物模型的研究进展[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42(9):1105-1110.
Li LQ, Xie LH, Sun SH. Progress in study on animal models of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Cent South Univ Med Sci*, 2017, 42(9):1105-1110.
 - 16 刘志刚, 李泽庚, 徐彬, 等. 六味补气胶囊对肺气虚慢性阻塞性肺疾病大鼠模型肺组织代谢物及代谢特征标志物影响代谢组学随机平行对照研究[J]. *实用中医内科杂志*, 2015, 29(9):134-139.
Liu ZG, Li ZG, Xu B, et al. Lung tissue metabonomics randomized controlled studies on the chronic obstructive pulmonary disease rat model of Fei-qi deficiency syndrome and chinese materia medica intervention [J]. *J Practi Tradit Chin Intern Med*, 2015, 29(9):134-139.
 - 17 凌晓颖, 陶嘉磊, 孙逊, 等. 基于网络药理学的连花清瘟方抗冠状病毒的物质基础及机制探讨[J]. *中草药*, 2020, 51(7):1723-1730.
Ling XY, Tao JL, Sun X, et al. Exploring material basis and mechanism of Lianhua Qingwen prescription against coronavirus based on network pharmacology [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(7):1723-1730.
 - 18 童佳兵, 王心恒, 杨程, 等. 基于新安医学固本补气法综合干预COPD稳定期肺肾气虚证的临床观察研究[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(6):1372-1374.
Tong JB, Wang XH, Yang C, et al. Clinical observational study on the comprehensive intervention of syndrome of insufficiency of lung and kidney qi in stable COPD using the tonifying qi method based on xin'an medicine [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2018, 29(6):1372-1374.
 - 19 刘国伦, 赵迪, 刘学芳, 等. 基于网络药理学和分子对接技术研究黄芪-赤芍治疗COPD的作用机制[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(9):3132-3146.
Liu GL, Zhao D, Liu XF, et al. Study of the mechanism of radix astragali seu hedysari-radix paeoniae rubra in the treatment of COPD based on network pharmacology and molecular docking [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med*, 2021, 23(9):3132-3146.
 - 20 Chen L, Sun BB, Wang T, et al. Cigarette smoke enhances β -defensin 2 expression in rat airways *via* nuclear factor- κ B activation [J]. *Eur Respir J*, 2010, 36(3):638-645.
 - 21 Jin H, Luo Q, Zheng Y, et al. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T cells contribute to the antiasthmatic effects of astragalus membranaceus extract in a rat model of asthma [J]. *Immunopharmacol*, 2013, 15(1):42-49.
 - 22 段丽红, 王春宝, 吴正治, 等. 益智仁在疾病中的研究进展[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2023, 33(10):124-128.
Duan LH, Wang CB, Wu ZZ, et al. Study of fruits of *Alpinia oxyphylla* in disease. [J]. *Shenzhen J Integr Tradit Chin West Med*, 2023, 33(10):124-128.
 - 23 高婧, 张昊, 任坤, 等. 中药人参药对的药理活性研究进展[J]. *人参研究*, 2024, 36(4):67-72.
Gao Q, Zhang H, Ren K, et al. Research progress on the pharmacological activities of the herbal pair ginseng in traditional Chinese medicine [J]. *Ginseng Res*, 2024, 36(4):67-72.
 - 24 王成阳, 刘向国, 彭青和, 等. 六味补气胶囊对COPD急性加重患者Treg及Th1、Th2、Th17型细胞的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(6):1978-1981.
Wang CY, Liu XG, Peng QH, et al. Effect of Liuwei Buqi capsules on Treg, Th1, Th2, Th17 in patients with COPD of acute exacerbation [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2014, 29(6):1978-1981.
 - 25 肖岚, 彭壮, 易健, 等. 玉竹多糖抗肺肿瘤活性及其机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(10):2368-2372.
Xiao L, Peng Z, Yi J, et al. Study on anti-lung tumor activity and mechanisms of polygonatum polysaccharide [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2018, 29(10):2368-2372.
 - 26 孟祥松, 胡云飞, 钱心悦, 等. “陈久”类药材的种类及其历史源流[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(18):2317-2322.
Meng XS, Hu YF, Qian XY, et al. Species and medical history of “Chenjiu” medicinal materials [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2021, 38(18):2317-2322.
 - 27 夏天卫, 周国威, 姚晨, 等. 桂枝及肉桂治痹的中医认识与现代药学研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(6):218-226.

- Xia TW, Zhou GW, Yao C, et al. Traditional Chinese medicine cognition and modern pharmaceutical research on effect of cassia twig and cinnamomum cassia in treating paralysis [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2019, 25(6):218-226.
- 28 李静静, 王奎玲, 花代平, 等. “培土生金”法治疗慢性阻塞性肺疾病的现代医学研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2020, 44(5):490-494.
Li JJ, Wang GL, Hua DP, et al. Modern medical research on the treatment of COPD with the method of “reinforcing earth to generate metal” [J]. *J Zhejiang Chin Med Univ*, 2020, 44(5):490-494.
- 29 熊海东, 桂龙咳喘宁联合强力枇杷胶囊治疗老年稳定期慢阻肺临床观察[J]. *光明中医*, 2024, 39(18):3723-3725.
Xiong HD. Clinical observation on Guilong Kechuaning tablets combined with Qiangli Pipa capsules in the treatment of elderly patients with COPD [J]. *Guangming J Chin Med*, 2024, 39(18):3723-3725.
- 30 常素芳, 徐国华, 赵龙, 等. 桂龙咳喘宁片联合布地奈德治疗小儿急性支气管炎的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(1):147-150.
Chang SF, Xu GH, Zhao L, et al. Clinical study on Guilong Kechuaning tablets combined with budesonide in treatment of acute bronchitis in children [J]. *Drugs Clinic*, 2024, 39(1):147-150.
- 31 白玉晓, 王添全, 丁帅, 等. 基于网络药理学探讨青钱柳调节血糖的作用机制[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(11):4017-4030.
Bai YX, Wang TQ, Ding S, et al. Mechanism of cyclocarya paliurus regulating blood glucose based on network pharmacology [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med*, 2021, 23(11):4017-4030.
- 32 辛力, 龚文慧, 郭静英, 等. 天然产物川陈皮素的成分差异及抗肿瘤作用机制研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 1-14.
Xin L, Gong WH, Guo JY, et al. Research progress on the compositional differences and anti-tumor effect mechanism of natural product nobiletin [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 1-14.
- 33 陈鑫, 郑晓梅, 舒艺璇, 等. 山奈酚腹腔注射后脑出血大鼠脑组织神经炎症反应及PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达观察[J]. *山东医药*, 2024, 64(15):19-24.
Chen X, Zheng XM, Shu YX, et al. Observation of neuroinflammatory response and PI3K/AKT signaling pathway-related protein expression in brain tissues of ICH rats after intraperitoneal injection of kaempferol [J]. *Shandong Med J*, 2024, 64(15):19-24.
- 34 Bian Y, Liu P, Zhong J, et al. Kaempferol inhibits multiple pathways involved in the secretion of inflammatory mediators from LPS-induced rat intestinal microvascular endothelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3):1958-1964.
- 35 Araújo N, Dematos N, Oliveira M, et al. Quercetin improves pulmonary function and prevents emphysema caused by exposure to cigarette smoke in male mice [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(2):181.
- 36 杨静帆, 李敏艳, 秦燕勤, 等. 川陈皮素的药理活性研究进展[J]. *中医学报*, 2023, 38(4):719-725.
Yang JF, Li MY, Qin YQ, et al. Research progress on pharmacological activity of nobiletin [J]. *Acta Chin Med*, 2023, 38(4):719-725.
- 37 周强, 张坤, 李富强, 等. β -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.
Zhou Q, Zhang K, Li FQ, et al. β -sitosterol alleviated inflammation response and fibrosis in rats with LPS-induced acute lung injury [J]. *Med J West Chin*, 2022, 34(6):813-818.
- 38 Boubaker J, Bentoumia I, Sassi A, et al. Antitumoral potency by immunomodulation of chloroform extract from leaves of *nitraria retusa*, tunisian medicinal plant, *via* its major compounds β -sitosterol and palmitic acid in BALB/c mice bearing induced tumor [J]. *Nutr Cancer*, 2018, 70(4):650-662.
- 39 伍清华, 陈瑞坤, 彭芳, 等. 气道炎症在COPD发生发展中的研究进展[J]. *中国医药科学*, 2020, 10(17):48-52.
Wu QH, Chen RK, Peng F, et al. Research progress of airway inflammation in the occurrence and development of COPD [J]. *Chin Med Pharm*, 2020, 10(17):48-52.
- 40 李丽. 慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压病人血清CRP、CysC和ET-1水平变化及临床意义[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(6):1051-1053.
Li L. Changes in serum levels of CRP, CysC, and ET-1 and their clinical significance in patients with chronic obstructive pulmonary disease combined with pulmonary hypertension [J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2021, 19(6):1051-1053.
- 41 李学斌. 桃红四物汤联合华盖散加减治疗慢性阻塞性肺疾病疗效观察及对睡眠质量的影响[J]. *世界睡眠医学杂志*, 2018, 5(1):100-102.
Li XB. Effect of taohong siwu decoction combined with huagai powder on the treatment of chronic obstructive pulmonary disease and its influence on sleep quality [J]. *World J Sleep Med*, 2018, 5(1):100-102.
- 42 梁可克, 王志旺, 黄柯婷, 等. PI3K-Akt信号通路调控慢

- 性阻塞性肺疾病气道炎症反应的研究新进展[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2022, 21(10): 751-755.
- Liang KK, Wang ZW, Huang KT, et al. Recent advances in research on the regulation of airway inflammatory responses in chronic obstructive pulmonary disease by the PI3K-Akt signaling pathway[J]. Chin J Respir Crit Care Med, 2022, 21(10): 751-755.
- 43 李娜. JAK/STAT 信号通路在慢性阻塞性肺疾病小鼠 Th17/Treg 免疫失衡中的作用[D]. 兰州大学, 2023.
- Li N. The effects of JAK/STAT signaling pathway in Th17/Treg imbalance in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease[D]. Lanzhou University, 2023.
- 44 张树伟. COPD、支气管哮喘、哮喘-COPD 重叠综合征患者血清 TNF- α 、IL-17 和 IL-18 水平与肺功能参数的关系研究[J]. 中国医药指南, 2022, 20(19): 51-54.
- Zhang SW. The Relationship between serum TNF- α , IL-17 and IL-18 levels and lung function parameters in patients with COPD, bronchial asthma and asthma-COPD overlap syndrome[J]. Guide Chin Med, 2022, 20(19): 51-54.
- 45 于芳春, 刘向国, 方芳, 等. 六味补气方对 COPD 模型大鼠 Th1/Th2 类细胞平衡调节作用的实验研究[J]. 陕西中医, 2022, 43(2): 161-165.
- Yu FC, Liu XG, Fang F, et al. Experimental study of Luwei Buqi recipe on the balance of Th1/Th2 cells in COPD model rats[J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2022, 43(2): 161-165.
- 46 刘韩韩, 朱蕾. Th17/Treg 在慢性阻塞性肺疾病中的研究进展[J]. 复旦学报(医学版), 2023, 50(1): 147-153.
- Liu HH, Zhu L. Research progress of Th17/Treg in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Fudan Univ J Med Sci, 2023, 50(1): 147-153.

[本文编辑] 宋睿璞 邹洲 朱昊