

基于数据挖掘及网络药理学探讨中医药治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的临床用药规律与作用机制

谢燕小^{1,2}, 周谨希^{1,2}, 孟星汝^{1,2}, 蒋紫云², 连乐桑²

1. 广州中医药大学研究生院, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学东莞医院, 广东 东莞 523000

【摘要】目的:探讨中医药治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)的组方规律,预测新方药物组合的潜在作用机制。**方法:**通过中国生物医学、中国知网、万方、维普等文献数据库,检索建库至2022年10月所收录的有关中医药治疗OSAHS的临床随机对照试验文献,后应用中医传承辅助平台(V2.5)集成的数据挖掘方法统计检索所获得的文献方药中药频次、性味归经、关联规则、新方组合等数据,并运用网络药理学方法分析新方组合治疗OSAHS的活性成分、核心靶点、作用通路等,最后通过分子对接进行验证。**结果:**检索并筛选最终获得有效方剂78首,其中茯苓、半夏、甘草、陈皮等使用频次最高;药性以温、寒、平为主,药味以辛、苦、甘为主,主要归肺、脾、胃经,常用药物组合有“半夏+茯苓”“甘草+茯苓”等,并挖掘核心组合4个,组合成新方2首。其中新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”与OSAHS的活性成分包括山奈酚、槲皮素、豆甾醇、 β -谷甾醇等,作用于白细胞介素-6(IL-6)、趋化因子配体2(CCL2)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)、内皮型一氧化氮合酶(NOS3)、人CXC趋化因子配体8(CXCL8)、IL-10等核心靶点,通过TNF、IL-17、核转录因子- κ B(NF- κ B)、Toll样受体、缺氧诱导因子-1(HIF-1)等多条通路发挥作用。分子对接结果提示关键活性成分与核心靶点结合性良好。**结论:**中医药治疗OSAHS新方用药多以化痰顺气、祛瘀开窍为主,并运用网络药理学预测其可能通过多个活性成分,作用于多靶点、多通路发挥疗效,为其治疗OSAHS提供临床理论依据及科学研究方向。

【关键词】阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征;中医药;数据挖掘;网络药理学;用药规律;作用机制

【中图分类号】R767.13 **【文献标志码】**A **【文章编号】**0256-7415(2023)15-0017-11

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2023.15.003

Explore the Clinical Medication Rules and Mechanisms of Traditional Chinese Medicine in the Treatment of Obstructive Sleep Apnea Hypopnea Syndrome Based on Data Mining and Network Pharmacology

XIE Yanxiao^{1,2}, ZHOU Jinxi^{1,2}, MENG Xingru^{1,2}, JIANG Ziyun², LIAN Leshen²

1. Graduate School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou Guangdong 510006, China; 2. Dongguan Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan Guangdong 523000, China

Abstract: Objective: To explore the medication rules of traditional Chinese medicine (TCM) in the treatment of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome (OSAHS), and predict the potential mechanism of action of new prescription drug combinations. **Methods:** By using literature databases such as China Biomedical Science, CNKI, Wanfang, and VIP, we searched for clinical randomized controlled trials related to the treatment of OSAHS with TCM, which were included in the database from construction to

【收稿日期】2023-02-22

【修回日期】2023-05-27

【基金项目】广东省中医药局中医药科研项目(20212248);广州中医药大学东莞医院(东莞市中医院)“拔尖人才”培养项目(东中医[2022]158号);全国第七批老中医药专家学术经验继承项目(国中医药办人教函[2021]272号)

【作者简介】谢燕小(1999-),女,在读硕士研究生, E-mail: 2696318269@qq.com。

【通信作者】连乐桑(1981-),男,副主任医师, E-mail: 5298596@qq.com。

October 2022. Then, we used data mining methods integrated with the TCM Inheritance Support System (TCMISS, V2.5) to statistically analyze the data obtained from the search, including the frequency of TCM prescriptions, their properties, flavors, meridian tropism, association rules, and combinations of new prescriptions. And network pharmacology methods were used to analyze the active ingredients, core targets, and action pathways of the new combination therapy for OSAHS, and finally verified them through molecular docking. **Results:** After searching and screening, 78 effective prescriptions were obtained, among which Poria, Pinelliae Rhizoma, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, and Citri Reticulatae Pericarpium were used the most frequently. The medicinal properties were mainly warm, cold, and mild, and the medicinal flavors were mainly acrid, bitter, and sweet. It mainly belongs to the lung, spleen, and stomach meridians. Common drug combinations include "Pinelliae Rhizoma + Poria" and "Glycyrrhizae Radix et Rhizoma + Poria", and four core combinations have been excavated to form two new prescriptions. The active ingredients of the new combination "Chuanxiong Rhizoma-Acori Tatarinowii Rhizoma-Curcumae Radix-Angelicae Sinensis Radix-Platycodonis Radix-Bupleuri Radix-Paeoniae Radix Rubra-Carthami Flos" and OSAHS include Kaempferol, Quercetin, Stigmasterol, β -glutinoesterol, etc., which acted on core targets such as IL-6, CCL2, IL-1 β , TNF, NOS3, CXCL8, IL-10, and passed through multiple pathways such as TNF, IL-17, NF- κ B, Toll-like receptors and HIF-1 play the function role. The molecular docking results indicate good binding between key active ingredients and core targets. **Conclusion:** New prescriptions for the treatment of OSAHS with TCM mainly focus on resolving phlegm and promoting qi circulation, removing blood stasis and opening the orifices. Network pharmacology predicts that it may exert therapeutic effects through multiple active ingredients acting on multiple targets and pathways, providing clinical theoretical basis and scientific research direction for its treatment of OSAHS.

Keywords: Obstructive sleep apnea hypopnea syndrome; Traditional Chinese medicine; Data mining; Network pharmacology; Medication rules; Mechanism of action

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)是以睡眠打鼾、呼吸及睡眠节律紊乱、反复出现呼吸暂停及觉醒、夜间发生低氧血症等为主要表现的常见呼吸系统疾病,长期患病可致高血压、精神情志异常、心律失常、冠心病等多种病变,甚则危及患者生命安全^[1]。因此,及早诊断并采取正确且有效治疗对 OSAHS 患者来说具有重要意义。目前西医治疗 OSAHS 主要以吸氧、佩戴矫治器等对症处理,尚缺乏疗效确切的药物,而通过手术治疗不仅存在一定风险,且需严格掌握手术适应证,无法针对所有患者,因此整体疗效并不十分理想^[2]。

OSAHS 在中医上可归属于鼾证范畴^[3],《鼾症中医诊疗专家共识意见》指出该疾病多属本虚标实之证,标实以痰湿、瘀血等为主,本虚以肺脾肾虚衰为主^[4]。近年来,大量临床研究如采用温阳化痰

法^[5]、化痰祛瘀法^[6]等中药方剂治疗 OSAHS 均表明具有确切疗效,但有关方剂的用药规律及分子机制尚未完全阐明,一定程度上限制了中医药发挥防治 OSAHS 的优势。故本研究将基于数据挖掘,系统性总结分析中医药治疗 OSAHS 组方用药规律,并运用网络药理学预测新方药物组合潜在作用机制,以期为进一步临床和科学研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 资料来源 设定“中医”或“中药”或“草药”或“方剂”或“复方”或“汤剂”和“阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征”或“OSAHS”为检索词,计算机检索中国生物医学、中国知网、万方、维普等文献数据库建库至 2022 年 10 月所收录的有关中医药治疗 OSAHS 的临床随机对照试验(RCT)文献,包括学位论文、期刊论文。

1.2 纳入标准 文献研究对象符合 OSAHS 的临床诊断;中医或中西医结合治疗 OSAHS、样本量在 20 例以上的临床随机对照试验,给药方式为内服并研究证明治疗有效的文献;方剂须有明确药物组成,且均只录入基本方。

1.3 排除标准 文献合并其他疾病如冠心病、慢性阻塞性肺疾病(COPD)、抑郁症等,或联合其他中医疗法如针灸、耳穴、拔罐等,或给药方式为中药注射、雾化吸入等;同方异名、重复发表、仅采用单味药治疗的文献。

1.4 数据规范化处理 参照 2020 年版《中华人民共和国药典》^[7]对文献中涉及的中药进行名称规范化,如“法半夏”“姜半夏”“清半夏”统一为“半夏”,“瓜蒌皮”“栝楼”统一为“瓜蒌”,“生石膏”“熟石膏”统一为“石膏”。

1.5 数据录入及分析 由 2 名研究者共同将数据录入中医传承辅助平台(V2.5)软件中,并进行数据核对及规范化处理,对已经核实确认好的数据进行统计分析。

1.6 药物活性成分及潜在作用靶点筛选 以同时满足口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18 为筛选条件^[8],将用药规律分析中得到的新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”录入中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)(<https://old.tcmsp-e.com/index.php>)以获得其活性成分和对应靶点,利用 Uniprot 数据库(限定条件: Homo Sapiens、Reviewed)统一校正靶点名称以获得潜在作用靶点。

1.7 OSAHS 疾病靶点获取及整合 以“Obstructive Sleep Apnea Hypopnea Syndrome”为检索条件,通过 DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)、GeneCards(<http://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) 数据库检索 OSAHS 靶点,去除重复值并统一靶点名称,最终得到 OSAHS 的疾病靶点。

1.8 PPI 网络构建及核心靶点筛选 利用微生信平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)成比例面积文氏图工具筛选出“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”与 OSAHS 的药物-疾病有效靶点,绘制 Venn 图,并整理出相应的有效活性成分,录入 Cytoscape 3.8 软件中对有效活性成分、有效靶点进行

拓扑分析得到 Degree 值,根据 Degree 值构建“中药-活性成分-有效靶点”的可视化网络图。同时通过 String 数据库(<https://www.string-db.org/>),选择置信度 >0.4,限定条件(Multiple Protein、Homo sapiens),忽略游离节点,构建有效靶点 PPI 网络,最后再通过 Cytoscape 3.8 内置的 Mcode 插件筛选出核心靶点并构建核心靶点图。

1.9 KEGG 及 GO 富集分析 采用 Metascape 数据库(<http://metascape.org/gp/index.html>),设定物种“H. sapiens”, $P < 0.01$,对筛选出的核心靶点进行 KEGG 及 GO 富集分析,其中 GO 分析包括细胞组分(CC)、分子功能(MF)、生物过程(BP),将 KEGG、GO CC、GO MF、GO BP 分析数据结果整理后录入微生信网站(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)进行可视化处理并绘制高级气泡图。

1.10 分子对接 在 TC MSP 下载关键活性成分“mol2”格式小分子结构图,分别在 Autodock Tools 1.5.7 中打开,进行加全氢、设置为配体、自动分配电荷、设置扭转键等操作,最后导出为“pdbqt”格式文件。在 Uniprot、RCSB PDB 中筛选并下载核心靶点的“pdb”格式蛋白结构图,分别在 Autodock Tools 1.5.7 中打开,进行去水及溶剂分子、加全氢、设置为受体等操作,最后导出为“pdbqt”格式文件。将处理好的受体及配体在 Autodock Tools 1.5.7 中打开,分别运行 autogrid4、autodock4 进行半柔性对接,通过小分子与蛋白质的结合能大小判断其结合的稳定性,最后将结果导出为“pdbqt”文件,运行 Pymol 进行可视化分析。

2 结果

2.1 文献数据挖掘

2.1.1 药物频次 见表 1。根据纳入及排除标准,共录入中医药治疗 OSAHS 处方 78 首,涉及 141 味中药,总频次 873 次,单味药物应用频数最高 62 次,最低 1 次。其中应用频次大于 10 次的中药有 24 味。

2.1.2 药物性味、归经统计 见表 2、表 3。纳入的 78 首方剂中,温性药物使用频率最高,达 44.10%,接近一半占比,寒、平性药物使用频率次之,凉、热性药物使用较少;药味以辛、苦、甘为主,3 味药的使用占有所有药味的绝大部分;排名前 3 的归经为肺、脾、胃经,总频率占有所有归经频率一半以上。

2.1.3 关联规则分析 见表 4、表 5、图 1。设最低支持度为 0.3(即支持度个数 24)，置信度 ≥ 0.80 ，得出支持度个数 ≥ 24 次的药对 27 对，药物关联组合有 28 对。

表 1 78 首中医治疗 OSAHS 处方高频药物(>10 次)					
药物	频次	频率(%)	药物	频次	频率(%)
茯苓	62	79.49	桃仁	17	21.79
半夏	59	75.64	黄芪	17	21.79
甘草	55	70.51	贝母	15	19.23
陈皮	47	60.26	厚朴	13	16.67
白术	38	48.72	僵蚕	12	15.38
石菖蒲	37	47.44	当归	12	15.38
枳实	29	37.18	党参	11	14.10
川芎	28	35.90	地龙	11	14.10
丹参	23	29.49	瓜蒌	10	12.82
郁金	20	25.64	柴胡	10	12.82
竹茹	20	25.64	生姜	10	12.82
桔梗	18	23.08	赤芍	10	12.82

注：单味药物应用频率=单味药物应用频次/总处方量(78)×100%

表 2 78 首中医治疗 OSAHS 处方药物四气、五味分布							
序号	四气	频次	频率(%)	序号	五味	频次	频率(%)
1	温	381	44.10	1	辛	428	32.92
2	寒	232	26.85	2	苦	416	32.00
3	平	224	25.93	3	甘	367	28.23
4	凉	20	2.31	4	酸	53	4.08
5	热	7	0.81	5	咸	34	2.62
				6	涩	2	0.15

注：四气分布频率=频次/四气总频次(864)×100%；五味分布频率=频次/五味总频次(1300)×100%

表 3 78 首中医治疗 OSAHS 处方药物归经分布							
序号	归经	频次	频率(%)	序号	归经	频次	频率(%)
1	肺	521	22.15	7	胆	78	3.32
2	脾	491	20.88	8	大肠	70	2.98
3	胃	374	15.90	9	膀胱	46	1.96
4	心	330	14.03	10	心包	32	1.36
5	肝	258	10.97	11	小肠	13	0.55
6	肾	137	5.82	12	三焦	2	0.09

注：归经分布频率=频次/归经总频次(2352)×100%

表 4 78 首中医治疗 OSAHS 处方用药模式							
序号	药物模式	出现频度	序号	药物模式	出现频度	序号	药物模式
1	半夏, 茯苓	55	10	半夏, 石菖蒲	32	19	半夏, 陈皮, 甘草, 茯苓
2	甘草, 茯苓	45	11	茯苓, 石菖蒲	30	20	川芎, 茯苓
3	半夏, 甘草	42	12	半夏, 陈皮, 甘草	29	21	甘草, 石菖蒲
4	半夏, 陈皮	42	13	半夏, 白术	28	22	茯苓, 枳实
5	陈皮, 茯苓	40	14	半夏, 白术, 茯苓	28	23	陈皮, 石菖蒲
6	半夏, 甘草, 茯苓	39	15	半夏, 茯苓, 石菖蒲	28	24	陈皮, 枳实
7	半夏, 陈皮, 茯苓	38	16	陈皮, 甘草, 茯苓	28	25	半夏, 枳实
8	白术, 茯苓	34	17	半夏, 川芎	26	26	半夏, 陈皮, 石菖蒲
9	陈皮, 甘草	34	18	白术, 甘草	26	27	白术, 甘草, 茯苓

表 5 78 首中医治疗 OSAHA 处方药物关联规则							
序号	规则	置信度(%)	序号	规则	置信度(%)	序号	规则
1	半夏, 白术→茯苓	100.00	11	半夏, 陈皮, 甘草→茯苓	89.66	21	陈皮, 甘草→半夏
2	陈皮, 石菖蒲→半夏	96.00	12	白术→茯苓	89.47	22	陈皮→茯苓
3	陈皮, 茯苓→半夏	95.00	13	陈皮→半夏	89.36	23	枳实→半夏
4	茯苓, 石菖蒲→半夏	93.33	14	川芎→茯苓	89.29	24	白术, 茯苓→半夏
5	半夏→茯苓	93.22	15	茯苓→半夏	88.71	25	陈皮, 甘草→茯苓
6	川芎→半夏	92.86	16	半夏, 石菖蒲→茯苓	87.50	26	甘草→茯苓
7	半夏, 甘草→茯苓	92.86	17	甘草, 茯苓→半夏	86.67	27	石菖蒲→茯苓
8	陈皮, 甘草, 茯苓→半夏	92.86	18	石菖蒲→半夏	86.49	28	陈皮→半夏, 茯苓
9	白术, 甘草→茯苓	92.31	19	枳实→茯苓	86.21		
10	半夏, 陈皮→茯苓	90.48	20	枳实→陈皮	86.21		

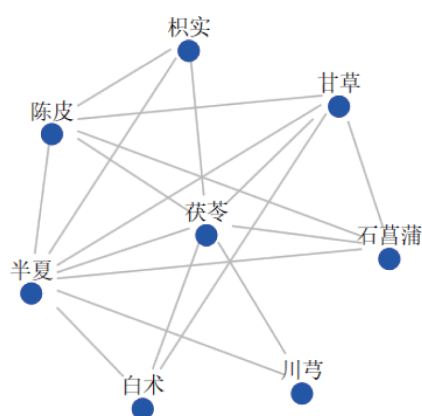


图1 药物关联可视化网络图

2.1.4 新方分析 见表6、表7、图2。根据实际情况，设置相关度为7，惩罚度为3，可得到“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”“茯苓-生姜-白术-郁金”2首新方。

表6 中药治疗 OSAHS 的内在核心组合

序号	核心组合	序号	核心组合
1	川芎+石菖蒲+郁金	3	当归+桔梗+柴胡+赤芍+红花
2	茯苓+生姜+白术	4	茯苓+郁金+白术

表7 中药治疗 OSAHS 的新方组合

序号	新方组合
1	川芎+石菖蒲+郁金+当归+桔梗+柴胡+赤芍+红花
2	茯苓+生姜+白术+郁金

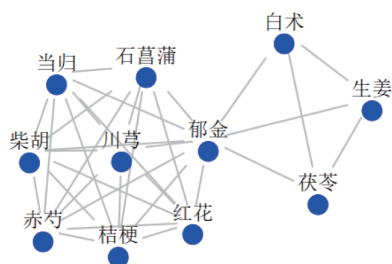


图2 新方组合可视化网络图

2.2 网络药理学分析结果 根据数据挖掘结果显示，由内在核心组合聚合而成的新方有2首，分别为“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”“茯苓-生姜-白术-郁金”，其中第一首新方为血府逐瘀汤加减方，梁新元^[9]的临床研究结果表明血府逐瘀汤加减对出现气虚血瘀证的 OSAHS 患者有效，由此推测第一首新方对 OSAHS 患者可能具有同等疗效，因此通过对新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-

当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”进行网络药理学分析，进一步预测其潜在作用机制，为其可适用于 OSAHS 患者提供临床理论依据及科学研究方向。

2.2.1 新方组合活性成分与潜在作用靶点筛选 在 TCMSP 数据库分别筛选川芎、石菖蒲、郁金、当归、桔梗、柴胡、赤芍、红花的活性成分，剔除未明确靶点的成分并去重后得到47个药物活性成分。进一步搜索其相关靶点并通过 Uniprot 数据库(限定条件: Homo Sapiens、Reviewed)统一校正靶点名称，去重后获得潜在作用靶点共255个。

2.2.2 OSAHS 疾病靶点获取及整合 以“Obstructive Sleep Apnea Hypopnea Syndrome”为关键词在 OMIM、GeneCards、DrugBank、DisGeNET 数据库检索 OSAHS 靶点，将4个数据库的靶点合并，去除重复值并统一靶点名称后共得到887个 OSAHS 疾病靶点。

2.2.3 中药-活性成分-有效靶点 PPI 网络 见图3、图4。在微生信平台成比例面积文氏图工具分别录入255个新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”潜在作用靶点及887个 OSAHS 疾病靶点，得到药物-疾病共同靶点共45个，绘制 Venn 图，运用 Cytoscape3.8 软件构建中药-活性成分-有效靶点网络，根据 Degree 值调节颜色深浅，推测度值明显高于其他成分的山奈酚(MOL000422)、槲皮素(MOL000098)、豆甾醇(MOL000449)、 β -谷甾醇(MOL000358)等为新方药物组合治疗 OSAHS 的关键活性成分，其中山奈酚、槲皮素、豆甾醇在红花、柴胡均有分布，山奈酚在石菖蒲中也有分布，豆甾醇在当归、赤芍中也有分布， β -谷甾醇主要集中在郁金、红花、赤芍、当归中。

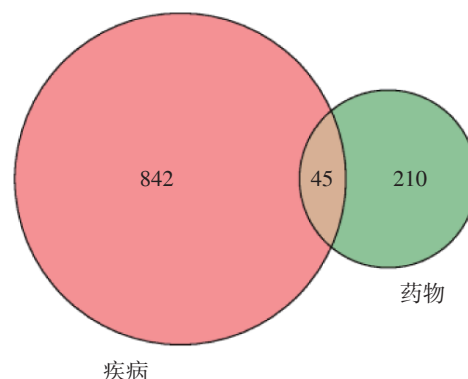
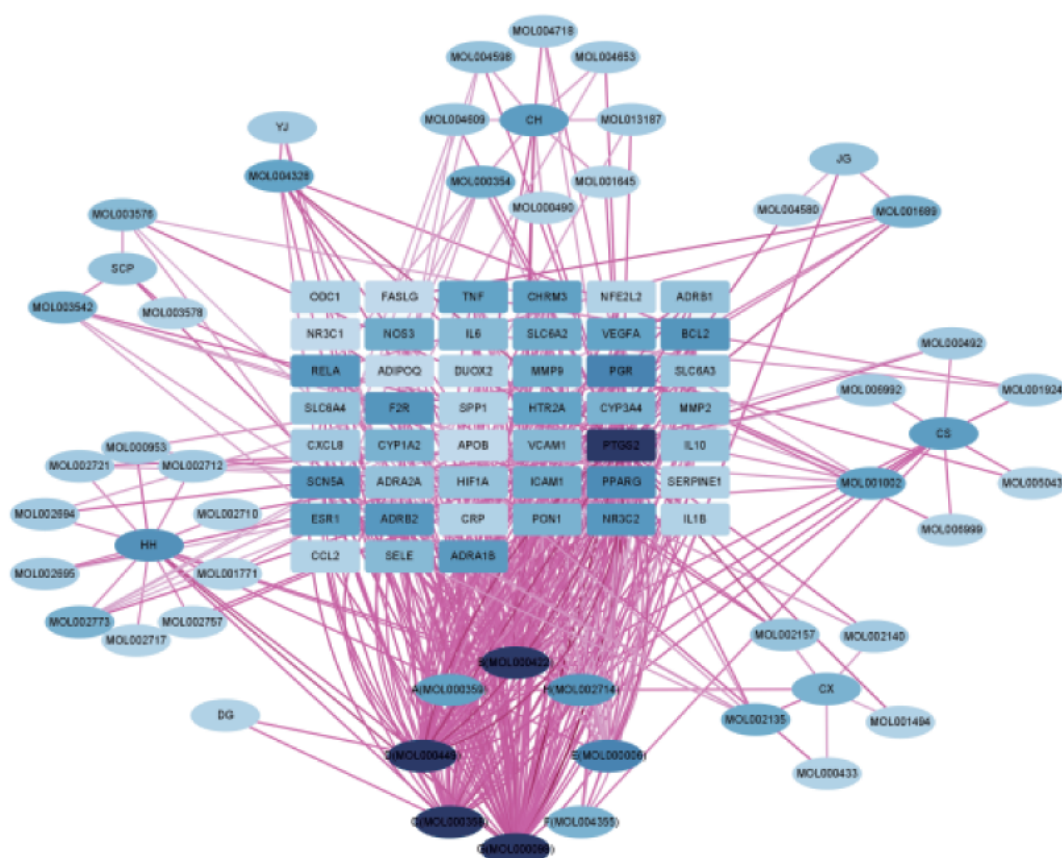


图3 药物-疾病共同靶点(有效靶点)



注: CX. 川芎; SCP. 石菖蒲; YJ. 郁金; DG. 当归; JG. 桔梗; CH. 柴胡; CS. 赤芍; HH. 红花

图 4 中药-活性成分-有效靶点 PPI 网络图

2.2.4 有效靶点 PPI 网络及核心靶点 见图 5、图 6。将 45 个有效靶点上传至 String 数据库中构建有效靶点 PPI 网络, 其中越核心的靶点, 连接该靶点的线条越多。通过 Cytoscape 3.8 软件内置的 Mcode 插件共筛选出核心靶点 23 个, 根据 Degree 值调节颜色深浅, 度值较高的靶点有白细胞介素-6(IL-6)、趋化因子配体 2(CCL2)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)、内皮型一氧化氮合酶(NOS3)、人 CXC 趋化因子配体 8(CXCL8)、IL-10 等。

2.2.5 KEGG 及 GO 富集分析 见图 7、图 8。通过对 23 个核心靶点进行 KEGG 分析, 共筛选得到 73 条 KEGG 通路, 应用微生信网站选取其中显著性最强 20 条通路绘图, 结果显示, 新方组合治疗 OSAHS 的核心靶点参与调控多种信号通路, 主要涉及炎症、癌症、凋亡等方面, 如 AGE-RAGE、TNF、cancer、Malaria、IL-17、核转录因子- κ B(NF- κ B)、Toll 样受体、缺氧诱导因子-1(HIF-1)等通路。取 GO 富集结果前 10 位绘图, 结果显示, 核心靶点主要发

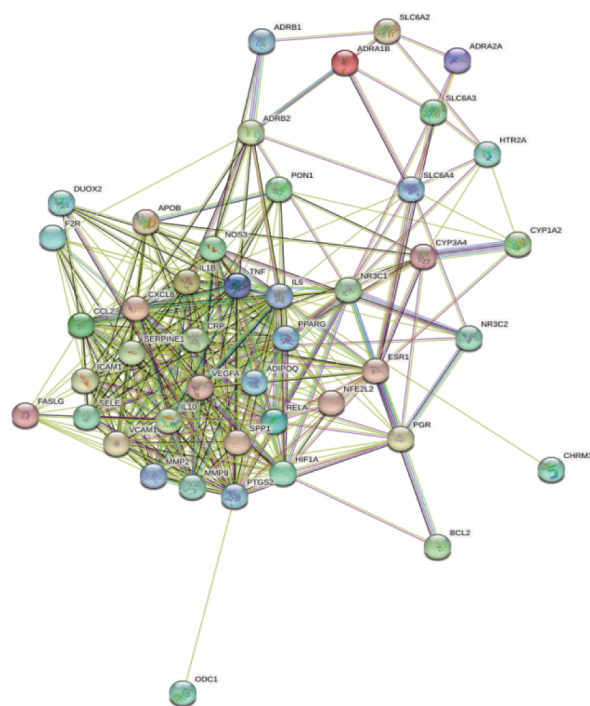


图 5 有效靶点 (PPI) 网络

挥作用的生物过程有细菌反应、细菌分子起源反应、对脂多糖的反应、炎症反应、细胞对脂质的反应等，包含细胞外基质、外部封装结构等细胞组分，具有信号受体调节活性、信号受体激活活性、受体配体活性等分子功能。

2.3 分子对接 见表8、图9。选择上文确定的关键活性成分(山奈酚、槲皮素、豆甾醇、 β -谷甾醇)与核心靶点(IL-6、CCL2、IL-1 β 、TNF、NOS3、CXCL8、IL-10)进行分子对接，根据结合能大小判断关键活性成分与核心靶点结合的稳定性，结合能 ≤ -5 kJ/mol(1 kcal=4.184 kJ，即结合能 ≤ -1.2 kcal/mol)说明分子间对接结果良好，结合能越低，分子间结合越稳定。结果显示，4种关键活性成分均可与7个核心靶点稳定结合，且结合能均小于-1.2 kcal/mol，一定程度上验证了中药有效成分与核心靶点间的结合性，为网络药理学结果提供数据支撑。其中豆甾醇与NOS3对接结合能最低，结合性能最好，为-7.91 kcal/mol；其次是 β -谷甾醇与CCL2，为-7.13 kcal/mol；豆甾醇与IL-6，为-6.91 kcal/mol。选择结合最稳定的前3个分子对接结果进行可视化分析。

3 讨论

通过数据挖掘发现，中医药治疗 OSAHS 使用频次较高的中药分类属利水渗湿药、祛痰药、补虚药、理气药、活血化瘀药，与鼾证中医诊疗专家共识中认为鼾证分为痰湿内阻、痰瘀互结、痰热内蕴、气虚痰瘀等证型特点相符^[4]。中医学认为 OSAHS 多属本虚标实，标实以痰湿和瘀血为主，故高频药物中以茯苓利水渗湿，半夏、陈皮、石菖蒲等化痰，枳实、川芎行气，丹参、郁金、桃仁等活血化

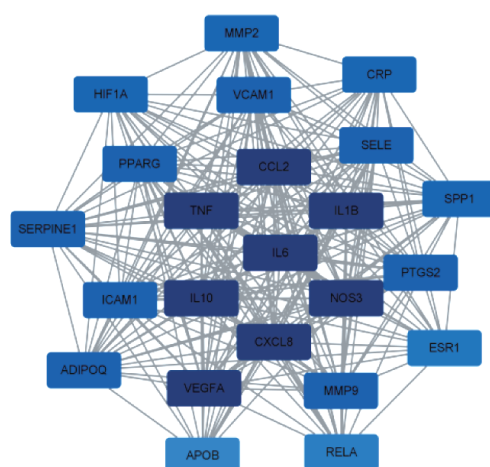


图6 新方组合治疗 OSAHS 核心靶点图

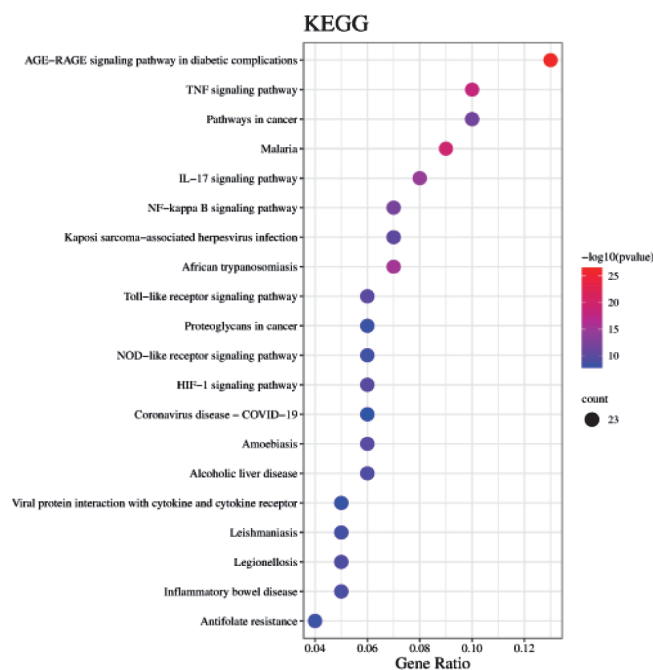


图7 GO 分析富集气泡图

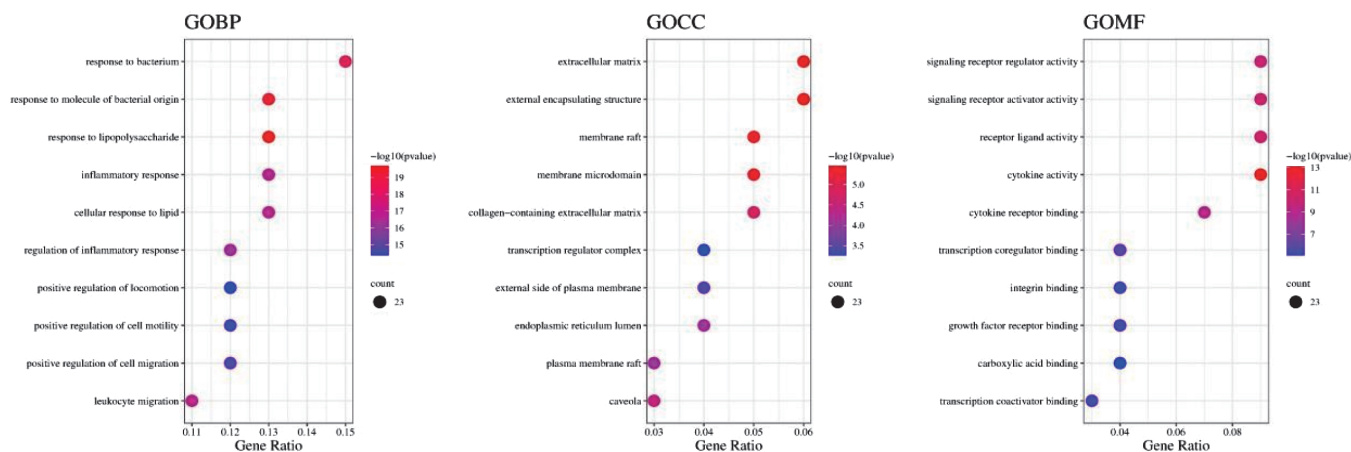
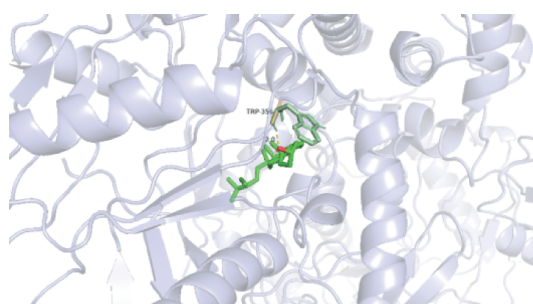


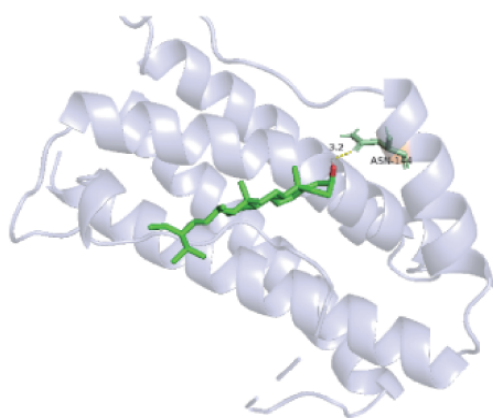
图8 KEGG 通路分析气泡图

表8 关键活性成分与核心靶点分子对接结合能 kcal/mol

靶点	山奈酚	槲皮素	豆甾醇	β -谷甾醇
IL-6	-6.10	-6.17	-6.91	-6.87
CCL2	-5.95	-5.78	-6.88	-7.13
IL-1 β	-5.52	-6.02	-6.56	-6.69
TNF	-3.91	-3.94	-5.65	-5.00
NOS3	-4.93	-4.96	-7.91	-6.65
CXCL8	-4.43	-3.97	-6.63	-5.65
IL-10	-4.21	-3.45	-6.70	-6.64



A. 豆甾醇-NOS3

B. β -谷甾醇-CCL2

C. 豆甾醇-IL-6

图9 分子对接结果可视化结构图

瘀治疗标实之证，以甘草、白术等补气药扶正补虚。药性以温、寒、平为主，温性药物既可温化痰邪，亦可通过发越阳气，开腠理，协助调节水液正常代谢，以杜生痰之源；痰湿内蕴，壅遏日久易化热，形成痰热内蕴证，故以寒性药清化热痰；平性药不显寒热，能和能补，可调和药性、补益本虚。药味以辛、苦、甘为主，辛味药发散、行气，可芳香化湿、开窍醒神，苦主泄降、主燥湿，兼能制约辛味药过度发散，辛苦并用，一升一降，可疏理气机，行散痰湿之邪，甘能补能缓，可补中益气、扶正补虚。用药主要归肺、脾、胃经，表明中医药治疗 OSAHS 可从肺、脾、胃入手。肺通调水道，脾运化水液，二者协同合作使水液正常输布及代谢，若肺脾功能受损，水液运化输布失常，停而为湿，聚而为饮，凝而为痰。而脾与胃相互影响，相互制约，脾为胃行其津液，胃主收纳腐熟水谷，脾主运化，二者共同完成食物的消化、吸收及精微的输布。因此通过调节肺脾胃可使人体水液正常代谢，杜绝痰湿之邪生成，且通过补益脾胃可使气血生化有源，扶助本虚。关联规则分析得到中医药治疗 OSAHS 常用药对有“半夏+茯苓”“甘草+茯苓”“半夏+甘草”等，结合置信度较高的组合如“半夏+白术+茯苓”“陈皮+石菖蒲+半夏”等，可见用药多以祛痰药+利水渗湿药或祛痰药+补虚药相配伍使用，说明在治疗 OSAHS 的中医用药配伍方面仍以祛除痰湿之邪为首要目标，兼扶正固本。

经数据挖掘最终提取出新方两首，第一首新方“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”由血府逐瘀汤去桃仁、生地黄、甘草、枳壳、牛膝，加石菖蒲、郁金组成，方中红花、赤芍活血化瘀，当归活血养血，柴胡疏肝解郁、升达清阳，与桔梗同用，尤善理气行滞，再入川芎、郁金等行气活血药，使气行则血行，桔梗并可宣肺化痰、载药上行，石菖蒲开窍豁痰，诸药合用，共奏化痰顺气、祛瘀开窍之功，适用于 OSAHS 痰瘀互结之证。第二首新方“茯苓-生姜-白术-郁金”以健脾、利湿、行气为主要功效，方中茯苓利水渗湿、健脾宁心，生姜辛温以助气血通行，白术益气健脾，郁金活血行气、疏肝解郁，四药合用健脾祛湿之力强但

化痰活血之力相对较弱,适用于 OSAHS 患者脾虚湿滞以致气血运行不畅之证。因痰、瘀之邪是促成 OSAHS 发病的重要因素,在治法上无论虚实之证,皆要兼顾祛痰化瘀。相较第二首新方,第一首新方为血府逐瘀汤化裁方,以理气药、活血化瘀药、祛痰药等组成,行气祛痰、活血化瘀之力更强,理论上更符合 OSAHS 的病机特点,在临床上可能发挥更好的疗效。且第一首新方的临床研究证据更充分,如蒋紫云等^[10]的临床研究表明行气化痰法中药汤剂联合西医常规治疗 OSAHS 比西医常规治疗更有效,王娟^[11]应用血府逐瘀汤合温胆汤加减治疗痰瘀互结证 OSAHS 患者有效,苏丹等^[12]对血府逐瘀汤现代药理学研究进行总结后发现血府逐瘀汤具有保护心肌细胞、防止血管重构、改善微循环、舒张血管等多种药理作用。因此,选择第一首新方“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”进一步行网络药理学分析以预测其潜在药理机制。

网络药理学结果显示新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”治疗 OSAHS 的有效成分包括山奈酚(MOL000422)、槲皮素(MOL000098)、豆甾醇(MOL000449)、 β -谷甾醇(MOL000358)等。山奈酚在本研究中的药物来源有石菖蒲、柴胡、红花,研究发现,其主要具有抗氧化、抗炎、心脏保护、神经保护、抗焦虑、镇痛和抗过敏活性等药理活性,可通过抑制 NF- κ B 表达促炎性细胞因子、趋化因子来发挥抗炎作用^[13]。槲皮素主要来源于柴胡、红花,是一种生物类黄酮,具有抗炎、抗氧化等多种生物活性,研究表明,槲皮素可抑制 NF- κ B 表达,并降低炎症细胞因子如 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的水平,通过抑制 NOX2 的产生来降低 ROS 诱导的氧化应激和炎症反应,是与氧化应激和炎症反应相关的肺部疾病的潜在治疗成分^[14]。此外,有动物实验数据显示,槲皮素可通过增强非 REM 睡眠并减少 REM 睡眠来改善睡眠-觉醒周期,对睡眠节律紊乱具有潜在治疗作用^[15]。豆甾醇和 β -谷甾醇是天然植物甾醇,均来源于赤芍、红花、当归,豆甾醇在郁金中、 β -谷甾醇在柴胡中也有存在。动物实验表明豆甾醇可以使雌激素或 NMDA 受体激活,从而增强胆碱能神经系统传递信息能力,

进一步改善认知功能^[16],低剂量给药 β -谷甾醇在小鼠中引起抗焦虑样作用,而不会对中枢神经系统产生明显的抑制作用^[17]。豆甾醇和 β -谷甾醇对神经元具有多种作用,可以通过加速神经元发芽来改变神经元的细胞结构,从而改善精神症状和大脑功能^[18]。综上,新方药组或可通过多种具有协同作用的活性成分发挥抗炎、抗氧化、抗焦虑、改善大脑及神经功能等效应达到治疗 OSAHS 的目的。

经 PPI 网络分析得到新方药物组合治疗 OSAHS 的核心靶点有 IL-6、CCL2、IL-1 β 、TNF、NOS3、CXCL8、IL-10 等。其中 IL-6、IL-1 β 、CXCL8、IL-10 属于促进炎症级联反应的细胞因子^[19],炎症早期阶段,IL-6 由 Toll 样受体刺激单核和巨噬细胞产生,参与各种生物学过程包括免疫性疾病和癌症等,阻断 IL-6 可减少炎症、贫血并具有抗血管生成作用^[20]。CXCL8 由不同类型的细胞分泌,包括血液单核细胞、肺泡巨噬细胞、内皮细胞和上皮细胞等,与多种免疫性疾病、炎症反应、肿瘤的发生和发展相关^[21]。TNF 也是一种促炎细胞因子,在炎症、细胞增殖、分化和凋亡过程中起重要作用,研究报告,由促炎细胞因子和抗炎介质的产生之间的不平衡引起的全身性炎症是 OSAHS 发病机理的关键,而多种炎症因子如 IL-1 β 、IL-6、CXCL8、TNF- α 的血清水平也已被证明在 OSAHS 患者中有所改变^[22]。趋化因子 CCL2 在细胞生长、发育、分化、凋亡、分布过程及炎症反应、创伤修复等过程均发挥重要作用,且实验研究显示,CCL2 也参与血管形成过程,对 CMEC 血管形成起促进作用^[23]。NOS3 主要在内皮细胞中表达,由血管舒缓激肽等激动剂催化产生 NO 以参与内皮祖细胞的活化、调节血流、抑制血小板聚集和黏附、舒张血管等,参与高血压病、冠心病等多种心血管疾病的调控^[24]。综上,新方药组可能通过激活核心靶点的表达或调节其表达水平来调控炎症反应、免疫修复、细胞增殖与分化、血管形成与舒张等过程,从而进一步发挥治疗 OSAHS 的作用。

本研究的通路富集分析显示,新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”治疗 OSAHS 主要涉及多种炎症相关通路、癌症通路、凋亡通路,如 AGE-RAGE、TNF、cancer、Malaria、

IL-17、NF- κ B、Toll 样受体、HIF-1 等通路。研究表明, IL-17 是将 OSAHS 与全身性炎症联系起来的重要因素, 其中 IL-17A 代表着 OSAHS 炎症反应中的关键 IL, 与疾病严重程度呈正相关, 其主要在各种组织中诱导趋化因子产生, 并与 TNF- α 和 IL-1 协同作用, 将单核细胞和中性粒细胞募集到炎症部位^[25]。NF- κ B 家族是转录因子家族, NF- κ B 信号通路在机体炎症和免疫反应中有重要调节作用, 炎症主要激活 NF- κ B, 而缺氧与 HIF-1 信号通路密切相关^[26], HIF-1 是参与缺氧应答的主要转录因子, 在血管壁疾病和内在免疫和炎症反应的调节中发挥作用, 在低氧条件下, HIF-1 和 NF- κ B 之间存在紧密的联系^[27]。Toll 样受体信号通路在 OSAHS 发病机制中同样发挥重要作用, 其主要通过 Myd88/NIK 及 Myd88/MAPK 信号转导通道诱导产生大量促炎因子, 从而介导炎症反应, 并可调控 TNF- α 、IL-6、leptin、CRP 等炎性因子来影响疾病的发生、发展^[28]。此外, 新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”还可通过参与 AGE-RAGE 信号通路、癌症通路、Kaposi 肉瘤疱疹病毒感染通路、Malaria 通路等达到治疗 OSAHS 的目的, 而新方药组能否通过这些信号通路起作用, 并能否阐明其与癌症、病毒感染等的复杂关系, 有待今后进一步进行实验研究证实。

综上所述, 本研究基于数据挖掘归纳并总结了中医药治疗 OSAHS 的用药规律, 其中用药以祛痰药、利水渗湿药、补虚药、理气药、活血化瘀药居多, 药性以温、寒、平为主, 药味以辛、苦、甘为主, 主要归肺、脾、胃经, 多以祛痰药+利水渗湿药或祛痰药+补虚药相配伍使用, 体现 OSAHS 主要治法以化痰、利湿、祛瘀、补气为主。新方组合“川芎-石菖蒲-郁金-当归-桔梗-柴胡-赤芍-红花”有化痰顺气、祛瘀开窍功效, 适用于 OSAHS 痰瘀互结之证, 基于网络药理学方法预测其治疗 OSAHS 的潜在有效成分有山奈酚、槲皮素、豆甾醇、 β -谷甾醇等, 潜在核心靶点有 IL-6、CCL2、IL-1 β 、TNF、NOS3、CXCL8、IL-10 等, 并可能通过 TNF、IL-17、NF- κ B、Toll 样受体、HIF-1 通路等多条途径发挥作用, 分子对接结果也在一定程度上验证了组方的中

药有效成分与核心靶点间的结合性良好。该结论预测了新方组合的潜在作用机制, 为新方组合治疗 OSAHS 的进一步临床应用和科学研究提供依据及参考。

[参考文献]

- [1] 张希龙. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(2011年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(1): 9-12.
- [2] CHANG H P, CHEN Y F, DU J K. Obstructive sleep apnea treatment in adults[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2020, 36(1): 7-12.
- [3] 李宏辉, 吴明华. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的中医临床研究概况[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(33): 186-188.
- [4] 陈志斌, 兰岚. 鼾症中医诊疗专家共识意见[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(1): 1-5.
- [5] 田琳, 赵东凯, 刘晓莉, 等. 温阳化痰法治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的临床观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2017, 15(9): 88-90.
- [6] 胡任飞, 杨玉萍. 化痰祛瘀法治疗重度阻塞型睡眠呼吸暂停低通气综合征临床研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 726-727.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1, 440.
- [8] LIU H, WANG J, ZHOU W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: an example using licorice[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 146(3): 773-793.
- [9] 梁新元. 血府逐瘀汤加减治疗26例阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征疗效初探[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [10] 蒋紫云, 陶海澜, 肖超烈, 等. 行气化痰法中药汤剂治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的系统评价[J]. 中医临床研究, 2021, 13(31): 135-139.
- [11] 王娟. 血府逐瘀汤合温胆汤加减治疗阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(痰瘀互结证)的临床研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.
- [12] 苏丹, 姚丽. 血府逐瘀汤的现代药理学研究[J]. 中医药学报, 2013, 41(3): 172-175.
- [13] CALDERON-MONTANO J M, BURGOS-MORON E, PEREZ-GUERRERO C, et al. A review on the dietary flavonoid kaempferol[J]. Mini Rev Med Chem, 2011, 11(4): 298-344.
- [14] SUL O J, RA S W. Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF- κ B in Lung Epithelial Cells[J]. Molecules, 2021, 26(22): 6949.
- [15] KAMBE D, KOTANI M, YOSHIMOTO M, et al. Effects of quercetin on the sleep-wake cycle in rats: involvement of gamma-aminobutyric acid receptor type A in regulation of rapid eye movement sleep[J]. Brain Res, 2010, 1330: 83-88.

- [16] PARK S J, KIM D H, JUNG J M, et al. The ameliorating effects of stigmasterol on scopolamine-induced memory impairments in mice[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 676(1-3): 64-70.
- [17] AGUIRRE-HERNANDEZ E, ROSAS-ACEVEDO H, SOTO-HERNANDEZ M, et al. Bioactivity-guided isolation of beta-sitosterol and some fatty acids as active compounds in the anxiolytic and sedative effects of *Tilia americana* var. *mexicana*[J]. *Planta Med*, 2007, 73(11): 1148-1155.
- [18] HAQUE M N, MOON I S. Stigmasterol upregulates immediate early genes and promotes neuronal cytoarchitecture in primary hippocampal neurons as revealed by transcriptome analysis[J]. *Phytomedicine*, 2018, 46: 164-175.
- [19] BOSHTAM M, ASGARY S, KOUHPAYEH S, et al. Aptamers Against Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines: A Review[J]. *Inflammation*, 2017, 40(1): 340-349.
- [20] ROSSI J F, LU Z Y, JOURDAN M, et al. Interleukin-6 as a therapeutic target[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(6): 1248-1257.
- [21] HA H, DEBNATH B, NEAMATI N. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases[J]. *Theranostics*, 2017, 7(6): 1543-1588.
- [22] JI L, LIU Y, LIU P, et al. Serum periostin and TNF- α levels in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome[J]. *Sleep Breath*, 2021, 25(1): 331-337.
- [23] 娄强, 刘永莲, 张舒曼, 等. CCL2促进大鼠原代心肌微血管内皮细胞血管形成[J]. *生理学报*, 2020, 72(4): 441-448.
- [24] 孙婷, 池晴佳, 王贵学. NOS3参与心血管疾病调控机制研究进展[J]. *生物医学工程学杂志*, 2016, 33(1): 188-192.
- [25] TOUJANI S, KAABACHI W, MJID M, et al. Vitamin D deficiency and interleukin-17 relationship in severe obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome[J]. *Ann Thorac Med*, 2017, 12(2): 107-113.
- [26] YU L M, ZHANG W H, HAN X X, et al. Hypoxia-Induced ROS Contribute to Myoblast Pyroptosis during Obstructive Sleep Apnea via the NF- κ B/HIF-1 α Signaling Pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4596368.
- [27] GRAS E, BELAIDI E, BRIANCON-MARJOLLET A, et al. Endothelin-1 mediates intermittent hypoxia-induced inflammatory vascular remodeling through HIF-1 activation[J]. *J Appl Physiol*(1985), 2016, 120(4): 437-443.
- [28] 龙冠晗, 陈梅晞. TOLL样受体、炎症反应与阻塞性睡眠呼吸暂停综合征[J]. *临床肺科杂志*, 2013, 18(10): 1876-1878.

(责任编辑: 吴凌, 李海霞)