

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2023.02.011

基于网络药理学的平胃散治疗 溃疡性结肠炎的潜在机制研究

马琪, 翁与竞, 覃施媛, 曹立亭, 毕师诚

西南大学 动物医学院, 重庆 荣昌 402460

摘要: 通过网络药理学研究平胃散对于溃疡性结肠炎(UC)的治疗作用及其潜在机制。通过检索中药系统药理数据库(TCMSP)收集平胃散中苍术、厚朴、陈皮、甘草 4 味中药的主要活性成分及其相关药物作用靶点;基于 UC 相关疾病数据库 GeneCards、TTD 以及 OMIM 综合筛选疾病靶点;比对药物与疾病靶点筛选共同潜在靶点,通过 STRING 数据库、Cytoscape 软件构建平胃散治疗 UC 靶点相互作用网络并筛出核心节点;同时将药物和疾病的共同潜在靶点与筛选后的平胃散中活性成分通过 Cytoscape_v3.2.1 软件生成体现活性成分-靶点相互作用的网络图并筛选出核心节点;利用 STRING 在线分析药物与疾病共同潜在靶点的 GO 生物富集过程和 KEGG 通路富集情况,构建活性成分-靶点-通路网络,并通过 AutoDock_Vina 软件对药物活性成分与核心靶点进行分子对接验证。在平胃散活性成分-靶点-通路网络中有 40 个活性成分、35 条 KEGG 通路以及 16 个核心靶点,分子对接结果显示,10 个活性成分与蛋白靶点 MMP9,CAT,PTGS2,MAPK3,MAPK8,AKT1,MAPK14 的最低结合能小于 -7 kJ/mol,说明这些活性成分与上述靶点蛋白结合较好,表明平胃散主要活性成分能通过 MMP9,CAT,PTGS2,MAPK 等靶点作用于 MAPK,IL-17,TNF,NF- κ B 等多个信号通路,起到治疗 UC 的作用。

关键词: 平胃散; 溃疡性结肠炎; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: S855.99; R962

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2023)02-0096-11

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on the Potential Mechanism of Pingwei Powder in Treating Ulcerative Colitis Based on Network Pharmacology

MA Qi, WENG Yujing, QIN Shiyuan, CAO Liting, BI Shicheng

College of Veterinary Medicine, Southwest University, Rongchang Chongqing 402460, China

Abstract: To study the therapeutic effect and potential mechanism of Pingwei powder on ulcerative colitis through network pharmacology, the information of main active compounds and their gene targets of Pingwei powder which included *Atractylodes rhizome*, *Magnolia officinalis*, *Pericarpium Citri Reticulatae* and *Glycyrrhiza uralensis* was collected by searching the pharmacology database of traditional Chinese medicine system (TCMSP). Based on Genecards, TTD and OMIM database, the targets of UC related diseases were selected. The common potential targets of drugs and diseases were selected, and the interaction net-

收稿日期: 2022-04-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(32202849); 重庆市自然科学基金项目(cstc2021jcyj-msxmX0982).

作者简介: 马琪, 博士, 讲师, 主要从事中药复方药理研究.

work of targets of Pingwei Powder was constructed by STRING database and Cytoscape software. At the same time, the common potential target of drug and disease and the active compounds in Pingwei powder were generated by Cytoscape, and the core nodes were screened. GO bioprocess enrichment and KEGG pathway enrichment were used to construct a compound-target-pathway network of diseases and drug cross-targets by using the String database. The software AutoDock was used to docking the active drug molecules with the core target. There are 40 active components, 35 KEGG pathways and 16 core targets in the active component-target-pathway network of Pingwei powder. The lowest binding energies of 10 active compounds to the protein targets MMP9, CAT, PTGS2, MAPK3, MAPK8, AKT1 and MAPK14 were less than -7 kJ/mol, which indicated that these active compounds had good bindings to the above target proteins. The results showed that the main active compounds of Pingwei powder could inhibit the differentiation of MAPK, IL-17, TNF, NF- κ B through the targets of MMP9, CAT, PTGS2 and MAPK.

Key words: Pingwei powder; ulcerative colitis; network pharmacology; molecular docking

溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)是一种慢性、非特异性、炎症性肠病,该病的病变区域位于结肠及直肠的黏膜及黏膜下层,其临床症状主要表现为腹痛、腹泻及便血等^[1]. UC在中医学辩证立法中一般归为“泻下”“痢疾”等范畴,认为其病因为外感湿热,饮食不节,导致脾、胃、小肠、大肠传导失调,水谷运行不畅,久而闭塞,伤及肠胃,气血瘀滞,以致便血^[2]. 平胃散出自宋代《太平惠民和剂局方》,由苍术、厚朴、陈皮、甘草 4 味药组成,诸药合用,共成燥湿运脾,行气和胃之功. 现代药理研究表明,平胃散有明显的调节胃肠运动,抗菌抗炎,抗溃疡和增强免疫等作用. 平胃散治疗 UC 可以通过调节肠道菌群,恢复肠道微生态平衡,促进胃肠运动,抑制炎症反应等发挥作用.

中药方剂是在中医辨证立法的基础上,按照一定的组织原则,选择适当的药物组合运用达到预期的治疗效果. 近年来,随着系统生物学与计算机网络分析技术的应用,网络药理学研究也常被用于探究中药方剂与相关疾病之间的关系,通过筛选药物成分、作用靶点、疾病靶点、作用通路等,模拟构建生物网络图,多维度地探究药物成分对疾病靶点的干预和影响,从而揭示药物在治疗疾病过程中发挥的多层次协同作用^[3-8]. 本文利用网络药理学研究方法和分子对接验证技术,揭示平胃散在治疗 UC 时的药效物质基础,探究平胃散治疗 UC 的关键靶点和作用通路,为后续的研究工作提供理论基础.

1 材料与方法

1.1 筛选平胃散活性成分及相关靶点

为收集平胃散中苍术、厚朴、陈皮、甘草 4 味中药的主要化学成分,通过检索中药系统药理数据库(TCMSP)^[9-10]筛选口服利用度(OB)大于(等于)30%且类药属性(DL)大于(等于)0.18^[11]的活性成分,获得平胃散活性成分及相关靶点. 在 Uniprot 数据库中对基因靶点信息及基因名称进行校对核实^[12-13].

1.2 筛选 UC 相关疾病作用靶点

为收集 UC 疾病作用的相关靶点,通过检索疾病基因数据库如 GeneCards、TTD(Therapeutic Target Database)以及 OMIM(Online Mendelian Inheritance in Man)^[14],综合筛选后将其与上述平胃散潜在药物靶点进行比对,筛选出 167 个共同基因,作为 UC 和平胃散的共同潜在靶点.

1.3 构建平胃散活性成分-靶点网络

将 1.1 项筛选的平胃散活性成分与 1.2 项筛选的共同潜在靶点,依照活性成分-靶点之间的对应关系上传至在线可视化软件 Cytoscape 形成网络图^[15](图 1),利用 Cytoscape 软件进行拓扑参数分析,以自由度值的中位数来判定活性成分-靶点网络的核心节点.

1.4 分析平胃散治疗 UC 的核心靶点

上传 167 个潜在共同靶点至 STRING 数据库,进行平胃散治疗 UC 的靶点与靶点之间相互作用网络分析,并导出分析数据上传至 Cytoscape 软件绘制靶点与靶点相互作用网络图(图 2),依据自由度值的中位数

来判定平胃散治疗 UC 靶点互作网络的核心节点.

1.5 分子对接验证

通过 PubChem 数据库检索获得药物活性成分的 3D 结构, RCSB-PDB 数据库寻找核心靶点的 3D 结构 PDB 格式文件, 运用 PyMOL2. 4. 1 对靶点蛋白进行预处理, 利用 AutoDock_Vina 分子对接模拟软件, 对自由度值排名前 10 的药物活性成分与 STRING 互作网络筛选得到的核心靶点进行受体与配体对接. 全部分子对接完成后, 将药物活性成分和核心靶点最低结合能(Binding Energy)数据作热图(图 3), 并选取其中两个对接结果进行 PyMOL 2. 4. 1 软件可视化处理(图 4).

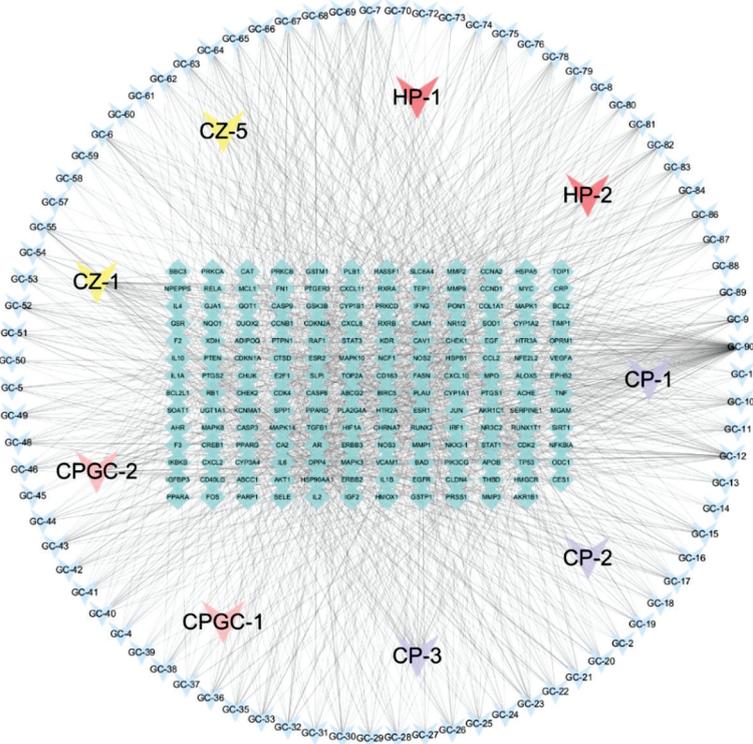
1.6 靶点通路富集分析

利用 STRING 在线蛋白质分析软件对 167 个共同靶点进行 GO(Gene Ontology)富集和 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)富集分析(图 5、图 6), 设定阈值 $p < 0.05^{[14]}$, 结合文献资料和生信分析筛选与 UC 有关的通路导入 Cytoscape 软件, 构建平胃散治疗 UC 的活性成分-核心靶点-作用通路网络图^[16](图 7).

2 结果

2.1 平胃散活性成分-靶点网络构建及核心活性成分筛选

将阈值设定为 *OB* 大于(等于)30%、*DL* 大于(等于)0.18, 结合数据库和文献资料最终整合得到平胃散 92 个活性成分, 包括苍术 2 个、厚朴 2 个、陈皮 3 个、甘草 83 个, 甘草与陈皮共有 2 个. 将平胃散 92 个活性成分及相关靶点导入 Cytoscape 软件构建活性成分-靶点网络, 如图 1 所示. 该网络图主要由节点和边构成, 不同颜色的节点代表不同的含义, 甘草成分用蓝色、苍术成分用黄色、厚朴成分用红色、陈皮成分用紫色、陈皮和苍术共有成分用粉色、靶点用绿色. 图 1 中共有节点 259 个, 包括 92 个成分节点和 167 个靶点节点, 边 1 330 条.



CZ: 苍术; HP: 厚朴; CP: 陈皮; GC: 甘草.

图 1 平胃散活性成分-靶点相互作用网络

经 Cytoscape-Tool-NetworkAnalyzer 分析得出活性成分-靶点网络中, 自由度值中位数为 3(核心节点需满足自由度值中位数的 2 倍作为参考值). 从表 1 可见, 自由度值由高到低排名前 10 的活性成分依次为

槲皮素(quercetin, 115)、山奈酚(kaempferol, 38)、汉黄芩素(wogonin, 37)、柚皮素(naringenin, 31)、川陈皮素(nobiletin, 27)、异鼠李素(isorhamnetin, 25)、芒柄花黄素(formononetin, 23)、7-甲氧基-2-甲基异黄酮(7-methoxy-2-methyl isoflavone, 22)、甘草酮 a(licochalcone a, 22)、鳞叶甘草素 A(glepidotin A, 20), 推测以上较高自由度值的活性成分是平胃散主要的药效物质基础, 能够发挥重要的药理作用。

表 1 平胃散活性成分-靶点网络核心化学成分拓扑分析数据

| TCMSP 编号 | 化学成分 | 介度 | 紧密度 | 自由度值 | 来源 |
|-----------|---|--------------|--------------|------|--------|
| MOL000098 | 槲皮素 | 0.519 132 24 | 0.569 844 79 | 115 | GC-90 |
| MOL000422 | 山奈酚 | 0.062 299 09 | 0.424 793 39 | 38 | GC-12 |
| MOL000173 | 汉黄芩素 | 0.072 602 03 | 0.423 393 74 | 37 | CZ-1 |
| MOL004328 | 柚皮素 | 0.123 457 60 | 0.413 848 63 | 31 | CPGC-2 |
| MOL005828 | 川陈皮素 | 0.055 145 58 | 0.409 888 36 | 27 | CP-3 |
| MOL000354 | 异鼠李素 | 0.014 635 52 | 0.407 290 02 | 25 | GC-7 |
| MOL000392 | 芒柄花黄素 | 0.020 316 62 | 0.404 724 41 | 23 | GC-10 |
| MOL003896 | 7-甲氧基-2-甲基异黄酮 | 0.008 934 97 | 0.403 453 69 | 22 | GC-9 |
| MOL000497 | 甘草酮 a | 0.029 122 49 | 0.403 453 69 | 22 | GC-67 |
| MOL004828 | 鳞叶甘草素 A | 0.002 197 64 | 0.400 936 04 | 20 | GC-23 |
| MOL004959 | 1-甲氧基菜豆素 | 0.002 277 07 | 0.399 688 96 | 19 | GC-64 |
| MOL005003 | 甘草果苷 | 0.003 585 81 | 0.398 449 61 | 18 | GC-81 |
| MOL000500 | 维斯体素 | 0.004 682 18 | 0.398 449 61 | 18 | GC-78 |
| MOL004991 | 7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮 | 0.001 510 21 | 0.398 449 61 | 18 | GC-75 |
| MOL004978 | 2-[(3R)-8, 8-二甲基-3, 4-二氢-2H-吡喃[6, 5-f] | 0.004 491 81 | 0.398 449 61 | 18 | GC-69 |
| MOL004974 | 3'-甲氧基光甘草定 | 0.002 630 63 | 0.398 449 61 | 18 | GC-68 |
| MOL004891 | 紫檀素 | 0.011 428 04 | 0.398 449 61 | 18 | GC-43 |
| MOL004811 | 粗毛甘草素 C | 0.001 339 99 | 0.398 449 61 | 18 | GC-17 |
| MOL005007 | 粗毛甘草素 M | 0.004 014 55 | 0.397 217 93 | 17 | GC-82 |
| MOL004966 | 3'-羟基-4'-甲基光甘草定 | 0.002 496 29 | 0.397 217 93 | 17 | GC-66 |
| MOL002565 | 苜蓿素 | 0.014 452 09 | 0.397 217 93 | 17 | GC-6 |
| MOL004912 | 光甘草酮 | 0.001 158 31 | 0.397 217 93 | 17 | GC-52 |
| MOL004824 | (2S)-6-(2, 4-二羟基苯基)-2-(2-羟基丙烷-2-基)-4-甲氧基-2, 3-二氢糠醛[3, 2-g]铬-7-酮 | 0.001 410 60 | 0.397 217 93 | 17 | GC-21 |
| MOL005016 | 芳香膜菊素 | 0.000 925 00 | 0.395 993 84 | 16 | GC-86 |
| MOL003656 | 黄羽扇豆魏特酮 | 0.000 935 00 | 0.395 993 84 | 16 | GC-8 |
| MOL005000 | 甘草宁 G | 0.001 158 75 | 0.395 993 84 | 16 | GC-79 |
| MOL004957 | 异刺芒柄花素 | 0.001 644 29 | 0.395 993 84 | 16 | GC-63 |
| MOL004907 | 光甘草轮 | 0.001 117 14 | 0.395 993 84 | 16 | GC-48 |
| MOL004883 | 甘草异黄酮 | 0.001 233 15 | 0.395 993 84 | 16 | GC-40 |
| MOL004849 | 3-(2, 4-二羟基苯基)-8-(1, 1-二甲基丙-2-烯基)-7-羟基-5-甲氧基-香豆素 | 0.001 208 46 | 0.395 993 84 | 16 | GC-30 |
| MOL004808 | 粗毛甘草素 B | 0.001 318 90 | 0.395 993 84 | 16 | GC-15 |
| MOL000417 | 毛蕊异黄酮 | 0.000 925 00 | 0.395 993 84 | 16 | GC-11 |
| MOL004915 | 黄甘草异黄酮 A | 0.000 764 00 | 0.394 777 27 | 15 | GC-55 |
| MOL004908 | 光甘草定 | 0.002 369 73 | 0.394 777 27 | 15 | GC-49 |
| MOL004864 | 5, 7-二羟基-3-(4-甲氧基苯基)-8-(3-甲基-2-烯基)色酮 | 0.000 796 00 | 0.394 777 27 | 15 | GC-36 |
| MOL004863 | 3-(3, 4-二羟基苯基)-5, 7-二羟基-8-(3-甲基-2-烯基)色酮 | 0.002 100 09 | 0.394 777 27 | 15 | GC-35 |
| MOL004857 | 甘草宁 B | 0.001 105 74 | 0.394 777 27 | 15 | GC-33 |
| MOL004856 | 甘草宁 A | 0.000 923 00 | 0.394 777 27 | 15 | GC-32 |
| MOL004835 | 刺果甘草查耳酮 | 0.002 796 58 | 0.394 777 27 | 15 | GC-26 |
| MOL004820 | 琉桑黄酮提取物 | 0.000 852 00 | 0.394 777 27 | 15 | GC-20 |

注: CZ: 苍术; HP: 厚朴; CP: 陈皮; GC: 甘草.

2.2 平胃散治疗 UC 的核心靶点分析

利用 STRING 在线数据库分析平胃散治疗 UC 靶点之间的交互作用, 将 167 个共同靶点相互作用关系数据导入 Cytoscape 软件, 进行网络拓扑分析得到自由度值大于 46 的靶点(中位数的 2 倍), 共筛选到 16 个核心靶点. 如图 2 所示, 自由度值与节点颜色呈正相关, 自由度值越大, 颜色越深, 表明靶点在活性成分-核心靶点网络关系中越重要^[14]. 从表 2 可见, 16 个核心靶点的自由度值从大到小依次为 RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT1)、白细胞介素-6(IL6)、细胞肿瘤抗原 p53(TP53)、肿瘤坏死因子(TNF)、丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)、丝裂原活化蛋白激酶 1(MAPK1)、前列腺素 G/H 合酶 2(PTGS2)、转录因子 AP-1(JUN)、半胱氨酸蛋白酶-3(CASP3)、基质金属蛋白酶-9(MMP9)、丝裂原活化蛋白激酶 8(MAPK8)、过氧化氢酶(CAT)、白细胞介素-8(CXCL8)、雌激素受体 1(ESR1)、内皮型一氧化氮合酶(NOS3)和丝裂原活化蛋白激酶 14(MAPK14), 且在平胃散治疗 UC 的直接作用靶点中处于核心位置, 推测这些靶点可能在平胃散发挥疗效的过程中, 对于治疗 UC 起到了较为重要的作用.

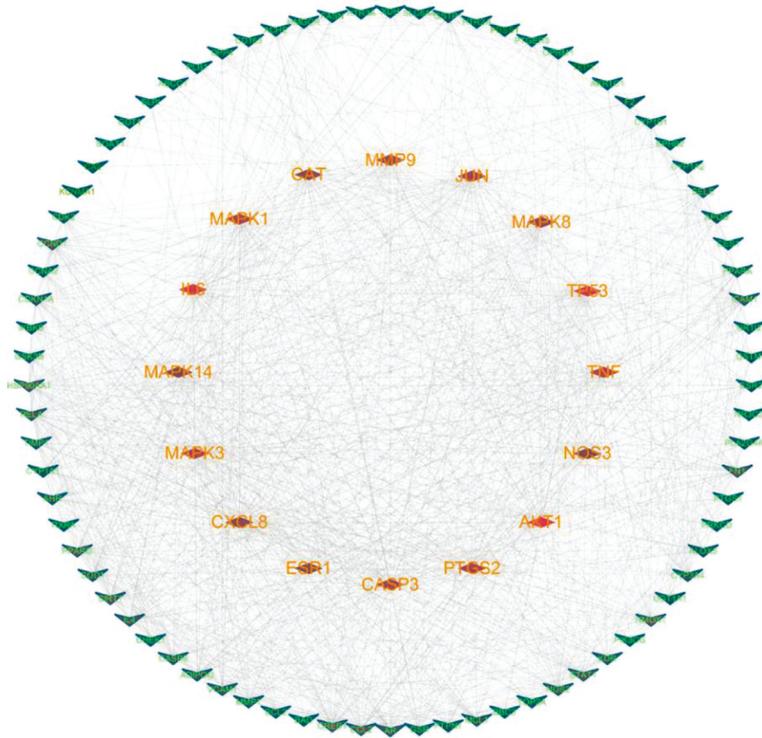


图 2 平胃散治疗 UC 核心靶点网络

表 2 平胃散治疗 UC 核心靶点拓扑数据分析

| 靶点 | 靶点名 | 自由度值 | 靶点 | 靶点名 | 自由度值 |
|-------|----------------------------|------|--------|--------------|------|
| AKT1 | RAC- α -丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 | 70 | CASP3 | 半胱氨酸蛋白酶-3 | 54 |
| IL6 | 白细胞介素-6 | 67 | MMP9 | 基质金属蛋白酶-9 | 52 |
| TP53 | 细胞肿瘤抗原 p53 | 66 | MAPK8 | 丝裂原活化蛋白激酶 8 | 51 |
| TNF | 肿瘤坏死因子 | 58 | CAT | 过氧化氢酶 | 50 |
| MAPK3 | 丝裂原活化蛋白激酶 3 | 58 | CXCL8 | 白细胞介素-8 | 49 |
| MAPK1 | 丝裂原活化蛋白激酶 1 | 56 | ESR1 | 雌激素受体 1 | 47 |
| PTGS2 | 前列腺素 G/H 合酶 2 | 56 | NOS3 | 内皮型一氧化氮合酶 | 46 |
| JUN | 转录因子 AP-1 | 54 | MAPK14 | 丝裂原活化蛋白激酶 14 | 46 |

2.3 分子对接验证

利用分子对接软件将 16 个核心靶点和 10 个核心活性成分进行对接模拟计算, 得到对接最低结合能数据结果并作热图. 由图 3 可知, 结合能越小分子对接得越好, 所有小分子化合物与靶蛋白的最低结合能都小于 -5.0 kJ/mol, 说明靶蛋白配体与活性成分受体可以自发结合, 最低结合能越小表明药物活性成分与靶点蛋白结合越好^[9]. 对接结果显示, 10 个活性成分与蛋白靶点 MMP9, CAT, PTGS2, MAPK3, MAPK8, AKT1, MAPK14 的最低结合能均小于 -7 kJ/mol, 说明这些活性成分与上述靶点蛋白结合较好.

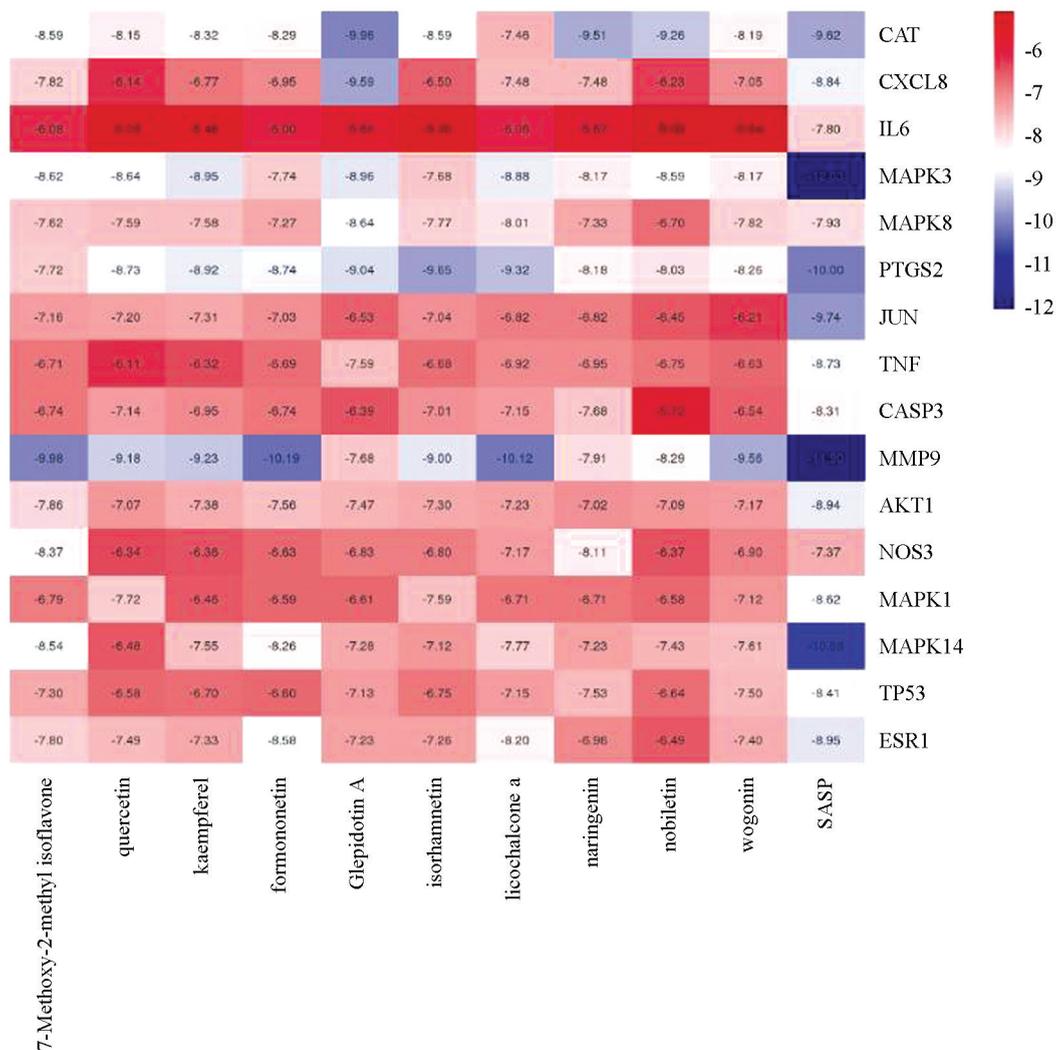


图 3 平胃散活性成分与核心靶点蛋白分子对接结合能热图

其中, MMP9 与汉黄芩素(wogonin)、芒柄花黄素(formononetin)结合活性良好, 绘制分子对接细节如图 4 所示。

MMP9-wogonin

MMP9-formononetin

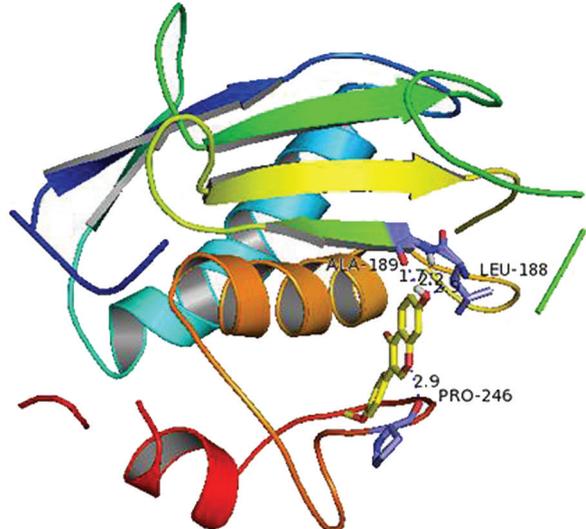
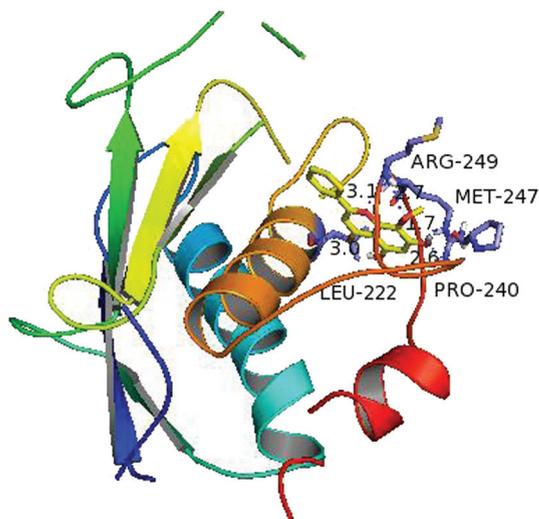


图 4 MMP9 分子对接图

药物小分子结合在蛋白的活性口袋,并且与活性口袋有较好的匹配^[6]. wogonin 与 MMP9 活性位点的 LYS745, THR854, ASP855 形成 3 个氢键相互作用, formononetin 也与 MMP9 活性位点的 LYS745, THR854, ASP855 形成 3 个氢键相互作用. 表 3 列出参与分子对接的 16 个靶点蛋白的基本信息,包括靶点、Uniprot 编号及 PDB 编号. 柳氮磺胺吡啶(SASP)与靶点蛋白对接的最低结合能和平胃散核心活性成分与靶点蛋白的最低结合能相差不大,验证了靶点蛋白晶体及配体选择的合理性.

表 3 参与分子对接的 16 个靶点蛋白

| 靶点 | Uniprot 编号 | PDB 编号 | 靶点 | Uniprot 编号 | PDB 编号 |
|-------|------------|--------|--------|------------|--------|
| AKT1 | P31749 | 6HHJ | CASP3 | P42574 | 6BF1 |
| IL6 | P05231 | 4NI9 | MMP9 | P14780 | 6ESM |
| TP53 | P04637 | 3D06 | MAPK8 | P45983 | 4UX9 |
| TNF | P01375 | 5UUI | CAT | P04040 | 1DGF |
| MAPK3 | P27361 | 4QTB | CXCL8 | P10145 | 1QE6 |
| MAPK1 | P28482 | 6Q7S | ESR1 | P03372 | 6SHO |
| PTGS2 | P35354 | 5FLA | NOS3 | P29474 | 6PPI |
| JUN | P05412 | 5T01 | MAPK14 | Q16539 | 2FST |

2.4 靶点生物功能及靶点-通路分析

通过 STRING 数据库共获得 GO 生物过程条目 2 183 条, p 值从小到大排序取前 20 条作图. 由图 5 可知,富集气泡大小代表富集的基因数量,气泡越大,表明富集的基因数目越多^[17];气泡颜色代表 p 值,其值由大到小从红色向蓝色变化. 在基因本体富集的生物过程中,细胞对化学刺激的反应、细胞的正向调节、生物过程的正向调节、细胞对刺激的反应等排名靠前.

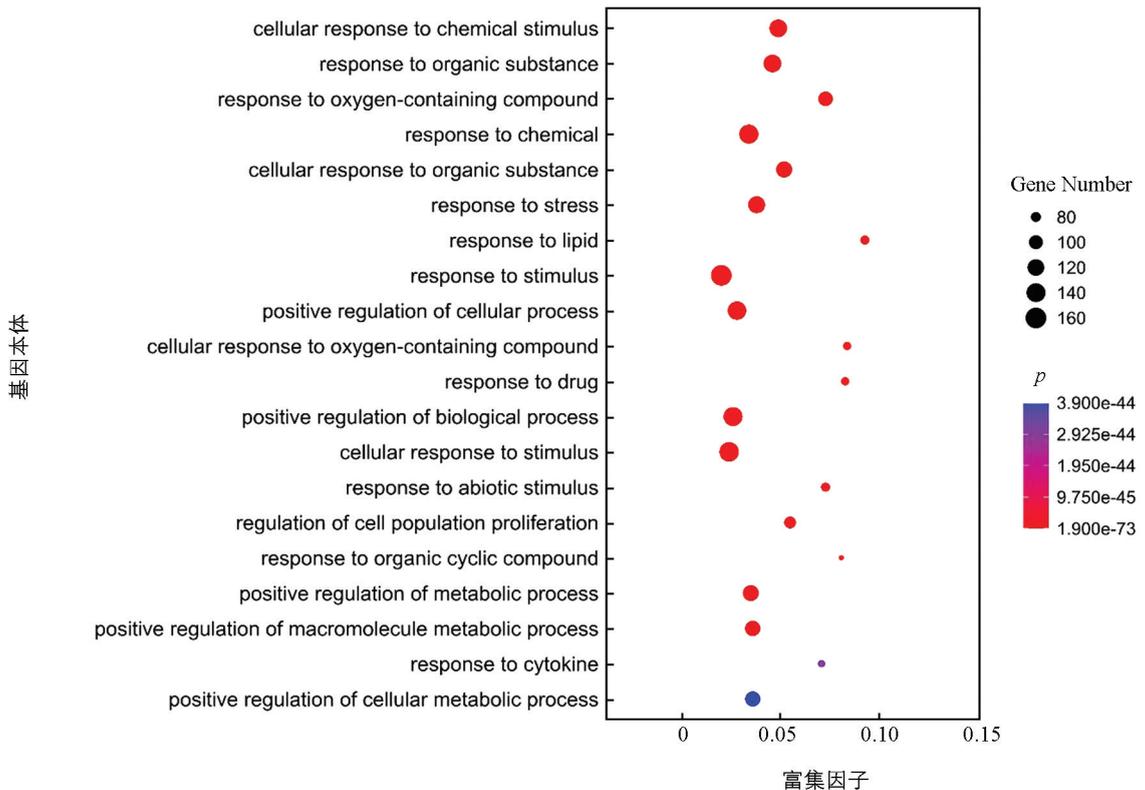


图 5 GO 功能富集分析

通过 STING 数据库共筛选出 35 条与 UC 有关的 KEGG 通路(图 6), 主要包括 PI3K-AKT 信号通路、MAPK 信号通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路、Th17 细胞分化等, 表明平胃散在发挥治疗 UC 作用时, 可能主要是依靠调节平胃散的活性成分来实现上述信号通路.

3 讨论

参苓白术散对溃疡性结肠炎模型小鼠具有治疗效果^[18]；而平胃散有燥湿运脾、行气和胃的功效，是治疗 UC 的有效方剂，临床上已有多例报道证实平胃散治疗 UC 具有较好的疗效。本文采用网络药理学方法，应用中药方剂以多种药物成分，通过多种途径来协同作用于多个靶点及多条通路，构建药物活性成分-靶点-通路的互作关系网络，探究平胃散治疗 UC 的作用机制，为平胃散临床应用提供科学依据。

在平胃散活性成分-靶点网络中经分析可得，自由度值排名前 10 的化学成分分别为槲皮素、山奈酚、汉黄芩素、柚皮素、川陈皮素、异鼠李素、芒柄花黄素、7-甲氧基-2-甲基异黄酮、甘草查尔酮 a、鳞叶甘草素 A，均属于黄酮类化合物，说明平胃散治疗 UC 与黄酮类化合物的抑制酶活性、抗癌、抗菌、抗病毒、抗炎症、抗过敏等功能^[19]具有密切联系。

通过 STRING 数据库在平胃散治疗 UC 的靶点关系网络中筛选出 16 个核心靶点，结合分子对接结果，发现 10 个活性成分与 16 个核心靶点蛋白对接结合能均小于 -5.0 kJ/mol。其中，分子对接结合能都小于 -7.0 kJ/mol 的靶点蛋白有 MMP9, CAT, PTGS2, MAPK3, MAPK8, AKT1, MAPK14，说明这 7 个靶点可能是平胃散治疗 UC 的关键作用靶点。选取 MMP9 与汉黄芩素、芒柄花黄素分子对接细节进行分析，发现汉黄芩素可以与 MMP9 蛋白活性口袋较好地匹配，其活性位点是 MMP9 的 LYS745, THR854, ASP855 这 3 个氢键。芒柄花黄素也可与 MMP9 的 LYS745, THR854, ASP855 这 3 个氢键进行匹配，说明 MMP9 确为平胃散治疗 UC 的一个核心靶点。

MMP-9 是 MMP 家族成员，由成纤维细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等多种细胞分泌而成，广泛存在于萎缩性胃炎、胃溃疡、体表溃疡等多种炎症性疾病中，是细胞外基质的重要降解酶^[20]。MMP-9 在癌症相关疾病中均呈现出高表达状态，肿瘤细胞的高侵袭转移能力与 MMP-9 的过表达显著关联^[21]。研究表明，葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的 UC 小鼠 MMP-9 在 mRNA 和蛋白水平上均升高^[22]，且在平胃散治疗 UC 的关键靶点网络关系中 MMP9 处于核心地位，结合分子对接结果显示 MMP9 与平胃散中多种关键活性成分结合能低于 -7 kJ/mol。KEGG 通路富集分析显示，MMP9 与 UC 有关炎症通路 IL-17, TNF 和 MAPK 信号通路密切相关，因此平胃散可能通过调节 MMP9 的表达，影响 UC 有关炎症信号通路。

PTGS2 是正常组织中起到维持稳态和炎症调节相关作用的重要应答基因^[23]，因此 PTGS2 可通过调节 UC 在不同信号通路中相关基因的表达发挥作用。PTGS2 与细胞因子 IL-1、TNF- α 、IL-6、血小板活化因子等调节因子密切相关，其局部表达增加可引发炎症和缺血^[24]。PTGS2 在各种异常内外环境的刺激下会呈现出病理性过度表达，显著区别于正常的生理情况。仇雅岚等^[25]研究发现抑制 PTGS2 在结直肠癌组织中过度表达有利于减少结直肠癌风险，PTGS2 在结直肠癌发生、发展、转移中发挥重要作用。洪寅雯等^[26]研究发现 PTGS2 是调节脂质过氧化相关蛋白的靶基因，且抑制肠黏膜细胞脂质过氧化在治疗 UC 相关疾病中起到重要作用。分子对接结果显示，平胃散中 10 个活性化学成分与 PTGS2 结合能均低于 -7.0 kJ/mol，显示平胃散与 PTGS2 活性位点结合能力强，亦可推测出平胃散作用于 PTGS2 时，通过不同的炎症信号通路调节相关基因的表达，从而达到减缓 UC 炎症反应的作用。

CAT 是一类主要起催化底物氧化还原反应的酶，在平胃散治疗 UC 的关键靶点网络关系中处于核心地位。DSS 会破坏肠道上皮细胞的完整性，击破肠道的机械屏障，诱发急性 UC^[18]，而研究表明 CAT 能有效地清除各种活性氧基团，从而防止细胞膜系统的损坏^[27]。同时，CAT 可以通过抑制炎症、提高机体免疫力、增强机体对羟基自由基及超氧阴离子的抑制能力等，有效缓解由于氧化应激所造成的机体或功能损伤^[28]。KEGG 富集结果显示，NF- κ B 信号通路具有较高的富集性，研究发现 CAT 可以通过降低致炎因子 IL-1 β , IL-8, TNF- α 和 PTGS2 的信使 RNA 及蛋白表达，降低 NF- κ B 激活水平，从而达到抑制 NF- κ B 信号转导通路的作用^[29]。Kobayashi 等^[30]的研究表明，CAT 具有抑制金属蛋白酶(MMPs)和 NF- κ B 表达的功能，可以起到抑制肿瘤细胞对上皮细胞的黏附、减少肿瘤细胞数目、抑制肿瘤生长及转移的作用。分子对接结果显示，平胃散中 10 个活性化合物分子与 CAT 的结合能均低于 -7.0 kJ/mol，表明平胃散与 CAT 活性位点结合能力较强。因此，本文推测平胃散作用于 CAT，通过其强抗氧化性及调节致炎因子表达的功能，发挥抑制 NF- κ B 等信号通路的作用，从而在平胃散治疗 UC 的关键靶点网络中起到关键作用。

MAPK 级联反应存在于所有生物体的大多数细胞内,是真核生物细胞重要的信号转导通路,参与多种细胞功能^[31],其中 MAPK14 信号级联的激活可调节细胞增殖分化、凋亡、衰老和炎症等生物过程,其影响具有多效性和多样性^[32]. MAPK14 是促炎基因程序的关键激活因子,在 UC 中可调节 TNF- α , IL-1, IL-6, IL-1 β 等炎症细胞因子的产生^[33]. MAPK14 可通过增强 TNF- α 表达诱导细胞生理功能紊乱和细胞凋亡,另有研究表明 MAPK 信号通路与氧化应激性肠上皮细胞损伤密切相关^[34]. 因此,平胃散药物活性成分可能通过 MAPK14 级联反应来抑制 IL-6, IL-1 β , TNF- α 的表达,从而达到对 UC 的治疗效果.

KEGG 富集结果显示,在 UC 相关通路中 MAPK, TNF, IL-17 等具有较高的富集性. 研究表明 IL-17 家族细胞因子可以通过活化 NF- κ B 来介导信号传送及转录激活因子的磷酸化,进而促进大肠癌的发生发展^[35]. 在炎症反应过程中, NF- κ B 通过提高 IL-1 β , IL-6 等炎症因子的基因转录来增加 IL-1 β , IL-6 的表达,因此调控 NF- κ B 在平胃散治疗 UC 中起到关键作用^[36].

本文应用网络药理学的方法对平胃散治疗 UC 的分子机制进行探讨,平胃散中不同药物的活性成分通过调控不同的靶蛋白作用于不同的通路,对 UC 起到治疗作用,体现了中药方剂整体性、系统性的特点. 结果发现,平胃散可能从以下几个方面发挥治疗作用:① 作用于 MMP9 靶点,控制其 mRNA 和蛋白水平的表达量,起到稳定肠道黏膜环境的作用,从而发挥治疗效果;② 作用于 CAT 和 PTGS2,调节炎症细胞因子 IL-1 β , IL-8, TNF- α 及相关蛋白基因的表达,发挥抗炎作用;③ 抑制 NF- κ B, MAPK 和 IL-17 等信号通路的活化及相关炎症因子的表达,起到治疗 UC 的作用. 本文运用网络药理学的方法探究了平胃散治疗 UC 的作用机制,为后续实验验证提供依据.

参考文献:

- [1] TRIPATHI K, FEUERSTEIN J D. New Developments in Ulcerative Colitis: Latest Evidence on Management, Treatment, and Maintenance [J]. *Drugs in Context*, 2019, 8: 212572.
- [2] 马琪,董婧,翁与竞,等. 基于 16S rDNA 测序技术探究参苓白术散对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2022, 42(6): 1230-1240.
- [3] 周倩,唐梦君,张小燕,等. 5 个品种白羽肉鸡大肠杆菌耐药差异分析 [J]. *南方农业学报*, 2022, 53(8): 2312-2320.
- [4] 刘琳,郭晓银,何彦侠,等. 腹泻仔猪肠道大肠杆菌分离鉴定与毒力基因及耐药性分析 [J]. *东北农业大学学报*, 2022, 53(6): 65-75.
- [5] 王慧,高茂桢,孙晓红,等. 生牛乳中高黏液型肺炎克雷伯菌耐药、毒力及生物被膜形成能力分析 [J]. *南方农业学报*, 2022, 55(9): 2654-2664.
- [6] 耿娟,韩荣嘉,刘建华,等. 宠物猫源病原菌分离鉴定及药物敏感性分析 [J]. *河南农业大学学报*, 2022, 56(4): 634-641.
- [7] 于文会,金银珠,姜晓文,等. 复方中药缓解产蛋鸡热应激研究 [J]. *东北农业大学学报*, 2022, 53(2): 27-35.
- [8] 陈敏,周金凤,韦崇万,等. 白藜节醇和 EGCG 联用对小鼠骨骼肌抗氧化能力的影响 [J]. *南方农业学报*, 2022, 53(9): 2683-2690.
- [9] 王璞,郑心. “半枝莲-黄芪”药对治疗非小细胞肺癌的网络药理学研究 [J]. *中医临床研究*, 2021, 13(34): 30-34.
- [10] 韦玥吟,蒋怡莹,黄盼玲,等. 基于网络药理学预测妇血康有机酸治疗功能失调性子宫出血的机制 [J]. *中成药*, 2022, 44(1): 250-254.
- [11] 张新,陈文娜,宋囡,等. 基于分子互作网络探讨丹莪片干预 PI3K/AKT/NF- κ B/TNF 通路防治非酒精性脂肪肝病的机制 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(11): 1324-1332.
- [12] 缪志伟,徐艳,宁丽琴,等. 白头翁汤治疗溃疡性结肠炎分子机制的网络药理学分析及初步验证 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(8): 1808-1815.
- [13] 杨振寰,贾子君,索菲娅,等. 基于网络药理学探究黄连解毒汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(3): 359-367.
- [14] 宋红新,马旭冉,王敦方,等. 基于网络药理学的黄芩汤治疗溃疡性结肠炎的潜在机制研究 [J]. *药学学报*, 2020, 55(2): 247-255.
- [15] 张晓囡,张军平,徐士欣,等. 基于网络药理学的黄连解毒汤治疗高血压潜在机制研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(24): 5865-5875.

- [16] 杨志华, 毕颖斐, 毛静远, 等. 基于网络药理学探讨清痰化痰方治疗冠心病痰热瘀结证的作用机制 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(1): 28-36.
- [71] 温芳, 舒鹏, 黄芪-党参药对治疗胃癌的网络药理学研究 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(2): 89-94, 267-268.
- [18] 马琪, 翁与竞, 李佳, 等. 参苓白术散对溃疡性结肠炎模型小鼠的疗效评价 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 785-792.
- [19] 延玺, 刘会青, 邹永青, 等. 黄酮类化合物生理活性及合成研究进展 [J]. 有机化学, 2008(9): 1534-1544.
- [20] 刘凯东, 白月奎, 张乐, 等. 快速康复外科对腹腔镜结直肠癌手术老年患者 miR-21、VEGF、MMP-9、炎症因子及胃肠功能的影响 [J]. 临床消化病杂志, 2022, 34(5): 355-360.
- [21] 张健, 李玉梅, 何志军, 等. 结直肠癌病人 miR-21、血管内皮生长因子、基质金属蛋白酶-9 表达与临床特征及预后的相关性 [J]. 临床外科杂志, 2020, 28(12): 1144-1146.
- [22] 李亚兰, 刘佳静, 马沛广, 等. 葛根芩连汤调控 MMP-9/p38 MARK 途径修复溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜上皮屏障功能 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 8-15.
- [23] ZHOU Z Y, LU C J, MENG S H, et al. Silencing of PTGS2 Exerts Promoting Effects on Angiogenesis Endothelial Progenitor Cells in Mice with Ischemic Stroke Via Repression of the NF- κ B Signaling Pathway [J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(12): 23448-23460.
- [24] 高鹏. 炎症反应通路相关基因与脑卒中发病关系的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2008.
- [25] 仇雅岚, 高静东, 刘敏, 等. 基于网络药理学的健脾解毒方抗结直肠癌的作用机制研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(2): 136-146.
- [26] 洪寅雯, 吴本升, 徐治中, 等. 基于生物信息学探讨血竭散对克罗恩病大鼠结肠组织 Notch1、Nrf2、GPX4 和 PTGS2 表达的影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(7): 38-42, 221.
- [27] 王芳, 符晨星, 陈家顺, 等. 过氧化氢酶的生物学功能及在动物中的应用 [J]. 饲料研究, 2021, 44(5): 126-129.
- [28] 铁梅, 刘丽, 庄晓虹, 等. 硒蛋白和过氧化氢酶清除羟自由基作用的研究 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(17): 6-10.
- [29] 王群英. 过氧化氢酶对肠上皮细胞的保护机制的研究 [D]. 广州: 第一军医大学, 2005.
- [30] KOBAYASHI Y, NISHIKAWA M, HYODOU K, et al. Hydrogen Peroxide-Mediated Nuclear Factor κ B Activation in Both Liver and Tumor Cells During Initial Stages of Hepatic Metastasis [J]. Cancer Science, 2008, 99(8): 1546-1552.
- [31] 段永强, 程卫东, 杜娟, 等. 益气健脾中药对脾气虚大鼠神经肽 Y、血管活性肠肽和丝裂原活化蛋白激酶 14 基因表达的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(4): 59-62, 66.
- [32] WU W, ZHANG W, CHOI M, et al. Vascular Smooth Muscle-MAPK14 is Required for Neointimal Hyperplasia by Suppressing VSMC Differentiation and Inducing Proliferation and Inflammation [J]. Redox Biology, 2019, 22: 101137.
- [33] WU Q F, LIU H X, LIAO J, et al. Colchicine Prevents Atrial Fibrillation Promotion by Inhibiting IL-1 β -Induced IL-6 Release and Atrial Fibrosis in the Rat Sterile Pericarditis Model [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129: 110384.
- [34] 段永强, 程卫东, 杜娟, 等. 四君子汤对脾气虚大鼠 SP/CCK 和 Mapk14 mRNA 表达水平的影响 [J]. 中药材, 2014, 37(4): 656-660.
- [35] 徐槐, 刘朝奇, 吴发明, 等. IL-17 在大肠癌发生发展中作用的研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(96): 90-91.
- [36] HOZUMI HIDEAKI, HOKARI RYOTA, KURIHARA CHIE, et al. Endoscopic Finding of Spontaneous Hemorrhage Correlates with Tumor Necrosis Factor Alpha Expression in Colonic Mucosa of Patients with Ulcerative Colitis [J]. International Journal of Colorectal Disease, 2013, 28(8): 1049-1055.