

基于网络药理学和实验验证探究五味清浊丸改善结肠炎的作用机制

刘代剑¹, 喻祥旺², 杨 晞¹, 王 羽^{1*}, 张国友^{2*}

1. 遵义医科大学 药学院 基础药理教育部重点实验室, 贵州 遵义 563000

2. 通辽市人民医院 胃肠病外科, 内蒙古 通辽 028000

摘要: **目的** 基于网络药理学和实验验证探究五味清浊丸对结肠炎的作用机制。**方法** 采用 TCMSP、TCMID 数据库筛选五味清浊丸的主要成分, 借助 PubChem、SwissTargetPrediction 数据库检索对应成分的作用靶点。运用 GeneCards、OMIM、DrugBank、TTD 检索结肠炎靶点。将交集靶点导入 STRING 11.5 构建“五味清浊丸-结肠炎-靶点”网络, 并运用 Cytoscape 3.10.0 软件筛选核心靶点。使用 DAVID 6.8 进行基因本体 (GO) 和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。通过 TCMSP、PDB 数据库获取关键靶点的 3D 结构。借助科研者之家分子对接平台进行分子对接, 应用 MOE2020 软件进行可视化。采用 3% 葡聚糖硫酸钠诱导结肠炎小鼠模型, 分别设置对照组、模型组、五味清浊丸 (0.4、0.8、1.6 g/kg) 组及柳氮磺吡啶组。评估结肠长度及组织病理学变化; ELISA 法检测血清炎症因子白细胞介素 (IL)-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ -干扰素 (IFN- γ)、IL-10 水平; Western blotting 检测结肠组织中 Src 蛋白酪氨酸激酶 (SRC)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B1 (Akt1) 蛋白表达。**结果** 网络药理学分析显示, 木犀草素、 β -谷甾醇等可能是五味清浊丸的关键活性成分, SRC、Akt1、TNF 等为核心靶点, 且这些靶点显著富集于 PI3K/Akt 等炎症相关通路。动物实验进一步表明, 五味清浊丸能显著延长模型小鼠结肠, 减轻结肠组织病理损伤, 并能显著降低促炎因子 (IL-6、TNF- α 、IFN- γ) 水平, 提升抗炎因子 IL-10 水平。五味清浊丸能显著抑制模型组小鼠结肠组织中 SRC、PI3K、Akt1 的蛋白相对表达量 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 五味清浊丸能有效缓解结肠炎, 其作用机制可能与抑制 SRC/PI3K/Akt1 信号通路的激活, 进而减轻肠道炎症反应有关。

关键词: 五味清浊丸; 结肠炎; 网络药理学; 木犀草素; β -谷甾醇; Src 蛋白酪氨酸激酶; 磷脂酰肌醇 3-激酶; 蛋白激酶 B1

中图分类号: R285; R286.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2026)01-0029-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.01.004

Mechanism of Wuwei Qingzhuo Pills in improving colitis based on network pharmacology and experimental verification

LIU Daijian¹, YU Xiangwang², YANG Xi¹, WANG Yu¹, ZHANG Guoyou²

1. Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education, School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

2. Department of Gastrointestinal hernia Surgery, Tongliao City People's Hospital, Tongliao 028000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of action of Wuli Qingzhuo Pills on colitis based on network pharmacology and experimental validation. **Methods** The main components of Wuwei Qingzhuo Pills were screened using TCMSP and TCMID databases, and the corresponding target sites of the components were retrieved using PubChem and SwissTargetPrediction databases. The target sites of colitis were retrieved using GeneCards, OMIM, DrugBank, and TTD. The intersection target sites were imported into STRING 11.5 to construct the “Wuwei Qingzhuo Pill-colitis-target” network, and the core target sites were screened using Cytoscape 3.10.0 software. GO and KEGG pathway enrichment analysis was performed using DAVID 6.8. The 3D structures of key target sites were obtained from TCMSP and PDB databases. Molecular docking was performed using the Researcher's Home Molecular Docking Platform, and visualization was carried out using MOE2020 software. A 3% dextran sulfate sodium-induced colitis mice model was established, with control group, model group, Wuwei Qingzhuo Pills (0.4, 0.8, 1.6 g/kg) groups, and sulfasalazine groups. The colonic length and histopathological changes were evaluated, serum inflammatory factors interleukin IL-6, TNF- α , IFN- γ , and IL-

收稿日期: 2025-10-24

基金项目: 内蒙古医学科学院公立医院科研联合基金科技项目 (2023GLLH0390, 2023GLLH0388); 通辽市科技计划项目 (TL2024YF001)

作者简介: 刘代剑, 主要从事药理学研究。E-mail: 1557056943@qq.com

*通信作者: 王 羽, 主要从事药理学研究。E-mail: shen348@126.com

张国友, 主要从事胃肠道肿瘤、代谢性疾病基础与临床研究。E-mail: ZGY201312@126.com

10 levels were detected by ELISA. The expression of SRC, PI3K, and Akt1 in colon tissue was detected by Western blotting. **Results** Network pharmacology analysis showed that luteolin, β -sitosterol, etc. might be the key active components of WuWEI Qingzhuo Pills, and SRC, Akt1, TNF, etc. were the core targets, and these targets were significantly enriched in inflammation-related pathways such as PI3K/Akt. Animal experiments further demonstrated that Wuwei Qingzhuo Pills could significantly extend the colons of model mice, alleviate colonic tissue pathological damage, and significantly reduce pro-inflammatory factors (IL-6, TNF- α , IFN- γ) levels, and increase anti-inflammatory factor IL-10 levels. Wuwei Qingzhuo Pills could significantly inhibit the relative expression of SRC, PI3K, and Akt1 proteins in the colonic tissue of model group mice ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Wuwei Qingzhuo Pills can effectively alleviate colitis, and its mechanism of action may be related to inhibiting the activation of SRC/PI3K/Akt1 signaling pathway and reducing intestinal inflammatory responses.

Key words: Wuwei Qingzhuo Pills; colitis; network pharmacology; luteolin; β -sitosterol; SRC; PI3K; Akt1

作为慢性复发性炎症性疾病之一，溃疡性结肠炎的临床表现为持续性腹泻、腹痛、黏液血便，严重导致全身症状^[1]。我国溃疡性结肠炎患者呈逐年上涨趋势，患病率为 11.6/10 万，已成为不容忽视的公共卫生问题。其临床上多采用 5-氨基水杨酸、糖皮质激素、免疫抑制剂等治疗，但存在 5-氨基水杨酸仅对轻中度有效；20%~30% 患者对激素/免疫抑制剂无效；生物制剂 1 年失效率 20%~40%，目前缺乏行之有效的治疗手段^[2]。五味清浊丸又名通拉嘎-5，始载于《后序医典》，已载入《中国药典》2020 年版一部。该方由全石榴、红花、肉桂、白豆蔻、荜茇组成，主治食欲不振、消化不良、胃脘冷痛、满闷暖气等症^[3]。其中石榴为味酸、甘、性热、锐、糙、动、膩、燥、轻，具有助胃火、祛赫依巴达干、消食、开胃、止泻功能。现代研究认为石榴可止泻、抑菌驱虫，研究发现其具有抗溃疡的作用^[4]；红花味甘、微苦，性凉、钝、柔、和、重、固，以锁脉，清肝热、调元气；肉桂、豆蔻以消食、调元气，肉桂可使胃血流量增加，有细胞保护作用，抑制溃疡形成、缓解痉挛引起的疼痛^[5]。白豆蔻使肠蠕动增强以促进胃液分泌、止吐，还可以制止肠内异常发酵。荜茇具有助胃火，祛赫依巴达干，调和体素、温中散寒、行气止痛，具有溃疡的功效。

本研究采用网络药理学联合分子生物学对五味清浊丸的主要成分及治疗结肠炎的关键核心靶点进行筛选，应用“成分-靶点”网络和蛋白质相互作用 (PPI) 关系分析，基因本体 (GO) 和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 预测五味清浊丸治疗结肠炎的相关通路，为五味清浊丸治疗结肠炎提供实验基础，并建立结肠炎小鼠模型用五味清浊丸进行干预，分析五味清浊丸治疗结肠炎的有效性以及对炎症的影响，研究五味清浊丸是否通过 Src 蛋白酪氨酸激酶 (SRC) /磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) /蛋

白激酶 B1 (Akt1) 信号通路治疗结肠炎。

1 材料

1.1 实验动物

雌性 ICR 小鼠 48 只，SPF 级，体质量 26~32 g，鼠龄 7~8 周，由遵义医科大学 SPF 级动物饲养中心提供，动物饲养于遵义医科大学 SPF 级动物房，所有动物实验均获得遵义医科大学伦理委员会批准 (伦理批号 ZMU21-2503-402)。采用饲养环境明暗 12 h 循环，自由摄水饮食，相对湿度 55%~60%，温度 22~24 °C。

1.2 试剂与仪器

五味清浊丸购自内蒙古蒙药股份有限公司 (批号 2502071，规格每 10 丸重 2 g)，葡聚糖硫酸钠 (批号 MB5535) 购自美伦生物公司；小鼠白细胞介素 (IL)-6 (批号 431307)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α ，批号 430907)、 γ 干扰素 (IFN- γ ，批号 430807)、IL-10 (批号 431417) 试剂盒购自 BioLegend 公司；SRC (批号 2109S) 购自 Cell Signaling Technology 公司、PI3K (批号 30092-1-AP)、Akt1 (批号 80816-1-RR) 购于武汉三鹰生物技术有限公司、p65 (批号 HA721307) 购于 HUABIO、核因子 κ B 抑制蛋白- α (IKB- α ，批号 ET1609-78)， α -肌动蛋白 (α -actin，ET1607-53) 购于杭州华安生物技术有限公司。

BX43 正置显微镜 (Olympus 公司)、JY502 电子天平赛 (赛多利斯科学仪器有限公司)、YQ-720C 超声机 (上海易净公司)、Quantity One 全自动凝胶成像分析系统 (Bio-Rad 公司)、DDY-10 型三恒电泳仪 (Bio-Rad 公司)

2 网络药理学分析方法

2.1 五味清浊丸有效成分和结肠炎靶点的筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 并融合整理中国中药信息数据库 (TCMID) 数据库检索“荜茇、豆蔻、红花、石榴、

肉桂”的活性成分,通过设置筛选条件为口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18,进行活性成分的收集与筛选。所得成分借助 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库检索化合物结构式,将其在 SwissTargetPrediction (<https://www.swisstargetprediction.ch/>)中检索对应成分的作用靶点。

以“colitis”为关键词,在 GeneCards (<https://www.genecards.org>)、OMIM (<https://omim.org>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、TTD (<https://db.idrblab.net/ttd/>)数据库中进行检索。将检索到的疾病靶点进行筛选合并去除重复值得疾病靶池。利用 Venny 2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny>)取成分靶点与疾病靶点的交集,定义为潜在治疗靶点。

2.2 “五味清浊丸-结肠炎-靶点”网络构建与核心靶点筛选

将交集靶点导入 STRING 11.5 (<https://string-db.org>),物种设为“homo sapiens”,置信度≥0.9,隐藏离散节点。所得网络导入 Cytoscape 3.10.0,以度(degree)值≥56.318 318 318 3,介数中心性(betweenness)≥319.49,接近中心性(closeness)≥0.001 564 046 320 128 19、为阈值筛选核心靶点、有效成分。

2.3 GO 与 KEGG 富集分析

使用 DAVID 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov>),背景设置为“homo sapiens”,进行 GO 的生物过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)以及 KEGG 通路富集。显著性阈值为 $P < 0.05$ 且错误发现率(FDR) < 0.05。富集结果以微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn>)进行可视化。

2.4 分子对接

通过 TCSP、PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)获取关键靶点的 3D 结构。借助科研之家分子对接平台进行分子对接,应用 MOE2020 软件进行可视化。

3 动物实验验证

3.1 药物配制

用分析天平准确称取 2、4、8 g 的五味清浊丸、捣成粉末分别倒入不同的玻璃瓶中,定容至 100 mL,随后超声使其充分溶解,得到 0.02、0.04、0.08 g/mL 溶液,以成年小鼠单次 ig 的最大安全剂量 20 mL/kg 进行换算,分别得到五味清浊丸水提液 0.4、

0.8、1.6 g/kg 剂量组。

3.2 结肠炎小鼠模型建立

采用葡聚糖硫酸钠诱导法建立结肠炎小鼠模型^[6]。将葡聚糖硫酸钠溶于小鼠无菌饮用水中,配制成浓度为 3%的溶液。适应性喂养结束后,除对照组外,其余小鼠均自由饮用 3%葡聚糖硫酸钠溶液,连续 3 d,以诱导急性结肠炎。为验证造模是否成功,每天记录 1 次小鼠体质量,并观察小鼠活动状况、精神状态、粪便性状、血便情况。造模至第 2 天后,小鼠体质量明显下降,开始出现半稀便及隐血便,后期出现稀便及鲜血便,说明本模型的制备是成功的。

3.3 分组及给药

将小鼠随机分为对照组、模型组、五味清浊丸(0.4、0.8、1.6 g/kg)组、柳氮磺吡啶组,每组 8 只。葡聚糖硫酸钠诱导 3 d 后,五味清浊丸(0.4、0.8、1.6 g/kg)组、柳氮磺吡啶(0.2 g/kg)^[7]分别按剂量 ig 给药,对照组、模型组给予等体积的生理盐水,所有小鼠连续 ig 5 d。五味清浊丸给药剂量根据临床等效剂量换算。

3.4 样本采集

末次给药后禁食不禁水 1 d,取样。采用 1%戊巴比妥钠(10 mL/kg) ip 麻醉小鼠,摘眼球取血,4 °C,3 500 r/min,离心 15 min,取上清。完整剥离结肠组织并测量每只小鼠结肠长度,选取一部分于 4%多聚甲醛溶液中固定,用于苏木精-伊红(HE)染色,其余结肠分装冻存于-80 °C冰箱,用于后续检测。

3.5 小鼠结肠组织病理变化

取出固定液中肠组织,梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋后切片后,显微镜观察并采集图像。

3.6 ELISA 法检测小鼠血清 IL-6、TNF α 、IFN- γ 、IL-10 水平

按照试剂盒说明书进行操作,检测各组小鼠血清 IL-6、TNF α 、IFN- γ 、IL-10 的水平。

3.7 Western blotting 检测小鼠结肠组织蛋白表达水平

小鼠结肠组织加入裂解液后提取蛋白,经 SDS-PAGE 分离蛋白,Western blotting 检测结肠组织中 SRC、Akt1、PI3K 的蛋白表达水平。

3.8 统计学方法

实验数据采用 SPSS 29.0 统计,采用 *t* 检验分析两组之间差异;One-way ANOVA 分析多组间的

差异。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

4 结果

4.1 网络药理学研究结果

4.1.1 五味清浊丸有效成分靶点的筛选 通过 TCMSP、TCMID 检索到五味清浊丸有效的作用靶点 794 个, GeneCards、OMIM、DrugBank、TTD 数据库中进行检索获得结肠炎靶点 2 618 个, 取交集得到 336 个共同靶点, 见图 1。根据以上交集靶点对“五味清浊丸有效成分-靶点”进行可视化网络构建, 见图 2。以 degree 值作为主要参数, 介数

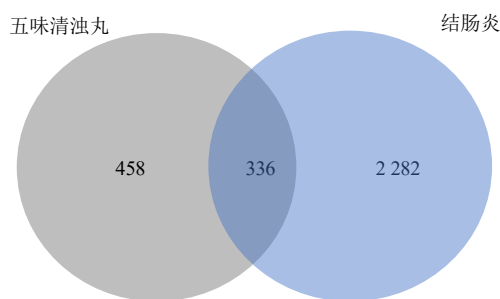


图 1 五味清浊丸活性成分和结肠炎交集靶点韦恩图
Fig. 1 Venn diagram of Wuwei Qingzhuo Pills active ingredients and colitis intersection target

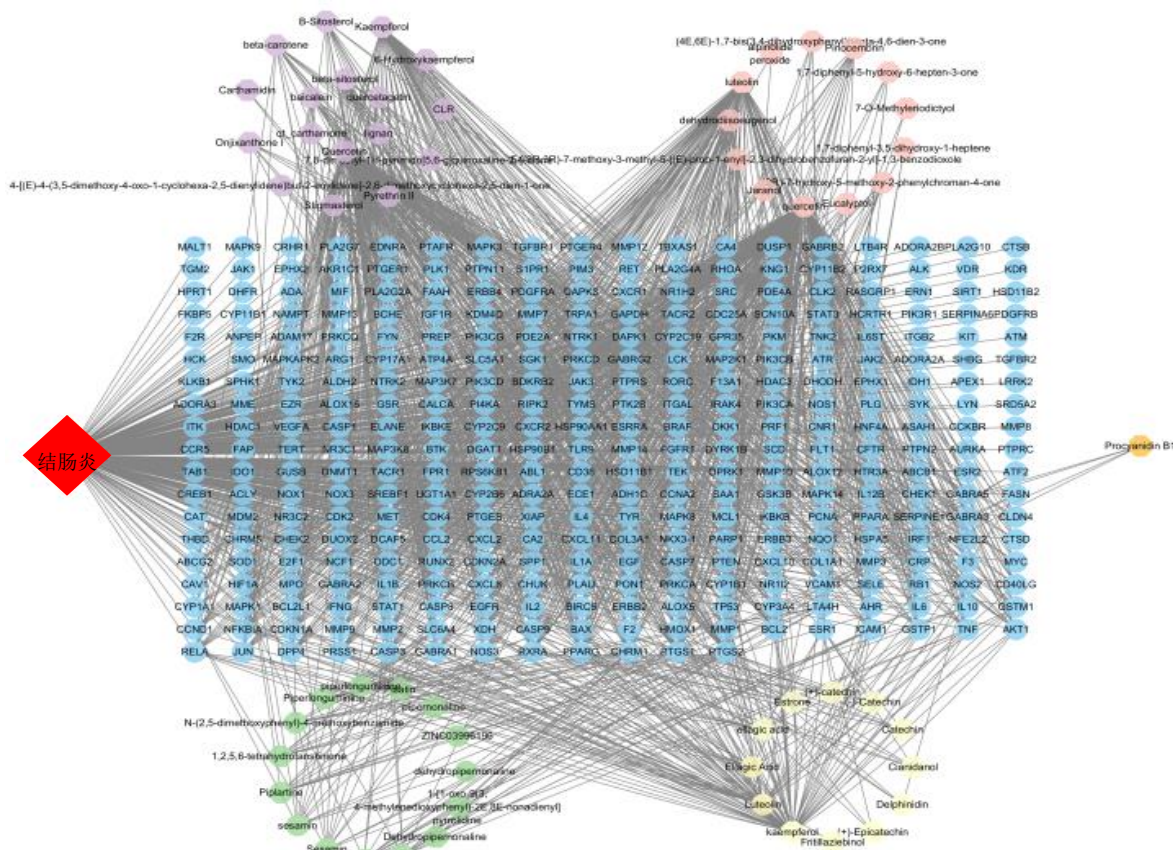


图 2 五味清浊丸药效成分-靶点相互作用网络

Fig. 2 Compound-target interaction network of Wuwei Qingzhuo Pills

中心性、接近中心性为辅助阈值筛选排名前 15 的有效成分, 见表 1。核心靶点 PPI 网络图见图 3。

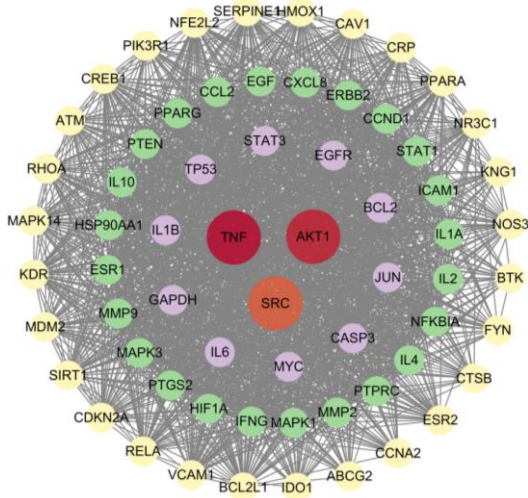
4.1.2 富集分析 将活性成分中治疗结肠炎的 336 个核心靶点信息导入 DAVID 数据库中进行 GO 富集和 KEGG 功能注释分析。通过 GO 富集分析, 核心靶点显著富集在 374 个 BP 中, 涉及 136 种 CC 与 219 种 MF, 分别选取 P 值最低的前 20 条进行可视化处理, 其中交集靶点主要分布在质膜、胞质溶

胶、受体复合物、膜筏等 CC 中, 通过调节组蛋白 H2AX142 激酶活性、组蛋白 H3Y41 激酶活性、蛋白质酪氨酸激酶活性、蛋白激酶活性等方式参与蛋白质磷酸化、对外源性刺激的反应、炎症反应等 BP, 从而起到抗结肠炎作用。核心靶点共显著富集在 187 条通路中, 选取其中 P 值靠前的通路进行可视化处理, 结果表明, 富集倍数较大的通路有 TNF 信号通路、糖尿病并发症中的高级糖基化终末产物-

表 1 药效成分 - 靶点相互作用网络中排名前 15 位的药效成分

Table 1 Top 15 bioactive components in the compound-target interaction network

MOL 编号	药效成分	介数中心性	接近中心性	degree 值
MOL000098	槲皮素	4 717.461 183 00	0.001 059 322	294
MOL000006	木犀草素	977.785 791 70	0.000 946 970	129
MOL000422	山柰酚	754.611 434 20	0.000 945 180	72
MOL000358	β -谷甾醇	226.646 123 60	0.000 909 091	32
MOL000449	豆甾醇	295.230 518 60	0.000 904 159	22
MOL002773	β -胡萝卜素	154.608 034 10	0.000 900 901	16
MOL002844	松属素	84.510 320 01	0.000 899 281	15
MOL002714	黄芩素	161.718 593 80	0.000 899 281	15
MOL000258	脱氢二异戊醇	299.286 903 00	0.000 910 747	15
MOL001592	胡椒碱	183.763 543 80	0.000 904 159	13
MOL001558	芝麻素	161.222 990 50	0.000 896 057	12
MOL001002	鞣花酸	47.749 288 57	0.000 854 701	11
MOL002848	茛菪酰胺	103.487 429 40	0.000 899 281	10
MOL001601	1,2,5,6-四氢蒽醌	109.606 562 70	0.000 897 666	9
MOL010921	雌酮	86.988 802 73	0.000 896 057	8



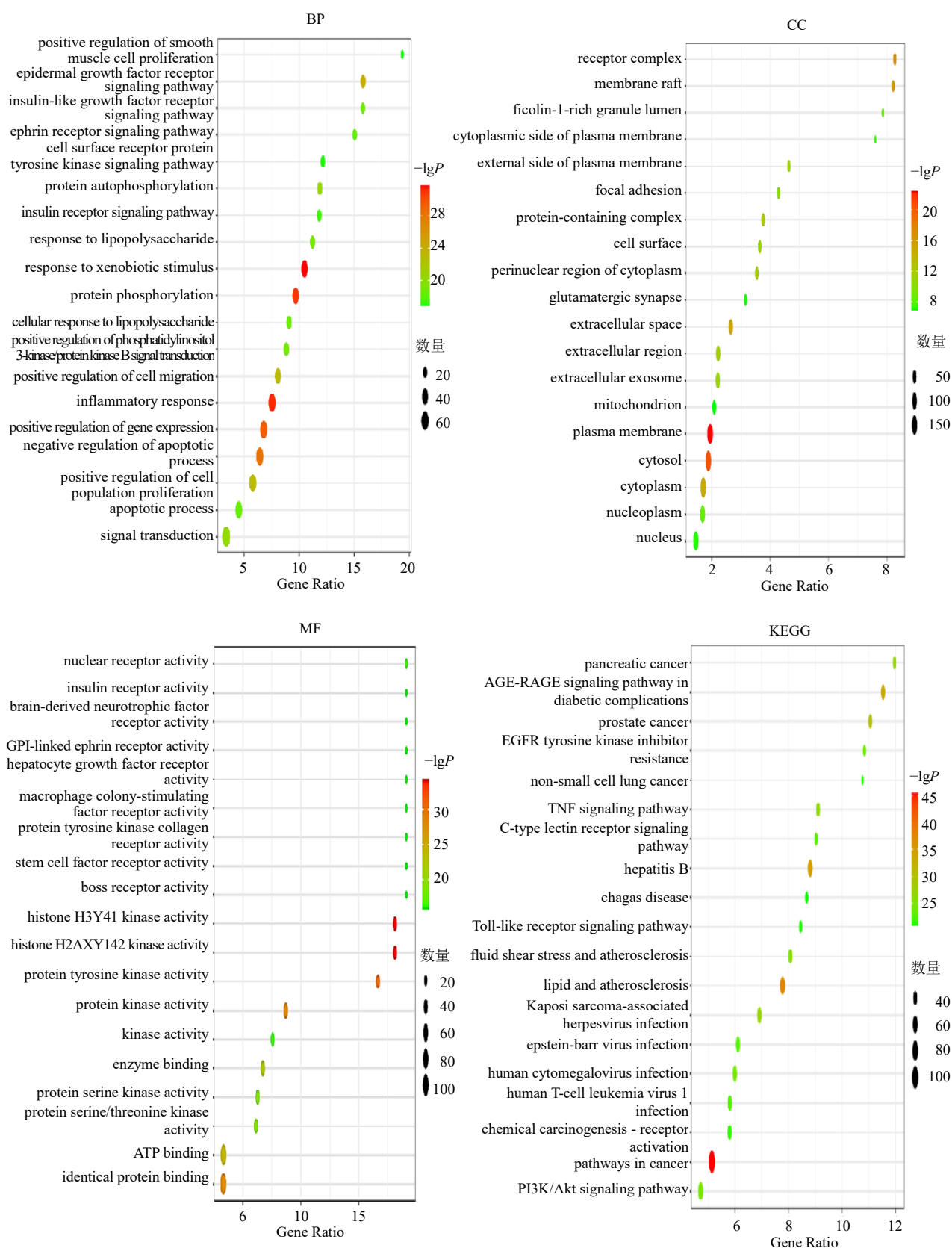


图 4 GO 和 KEGG 富集分析图
Fig. 4 GO and KEGG enrichment analysis plot

表 2 关键活性成分 - 靶点分子对接结合能		
Table 2 Key active components and target molecule docking binding energy		
靶点	结合能/(kcal·mol ⁻¹)	
	木犀草素	β-谷甾醇
Akt1	-8.634	-8.483
SRC	-8.477	-6.688
TNF	-9.129	-9.617

显著延长模型结肠长度，明显减轻结肠病理变化，减少炎性细胞浸润，溃疡的形成。血清学检测发现五味清浊丸组能显著降低 IL-6、TNF-α、IFN-γ 水平，升高 IL-10 水平 ($P<0.01$)。提示五味清浊丸对结肠炎具有一定的治疗作用。

采用网络药理学方法探讨五味清浊丸治疗结肠炎过程中可能的机制，筛选的主要化合物包括木犀草素、β-谷甾醇等。木犀草素属于黄酮类化合物，

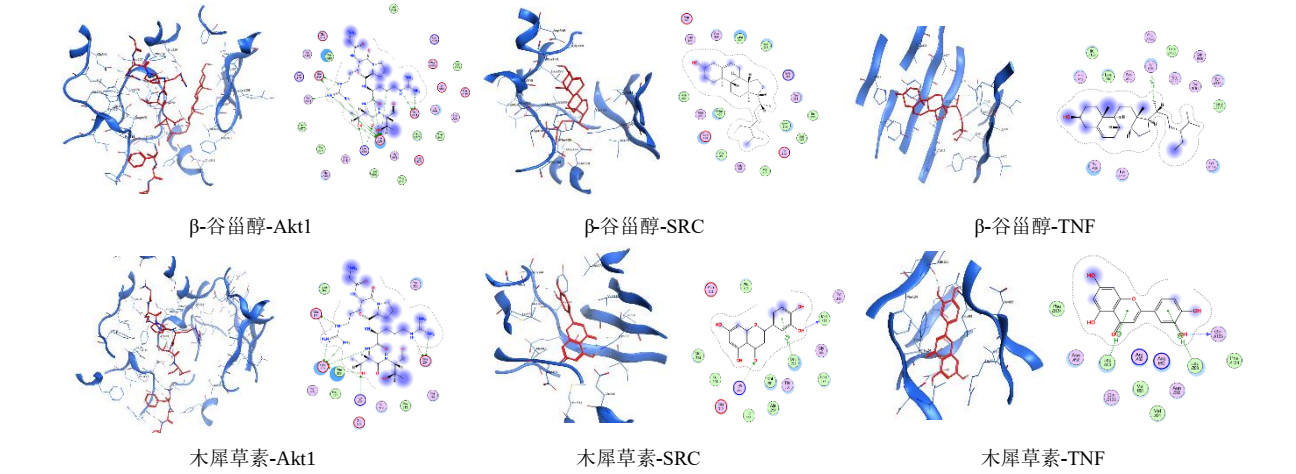


图 5 分子对接模拟图

Fig. 5 Molecular docking simulation diagram

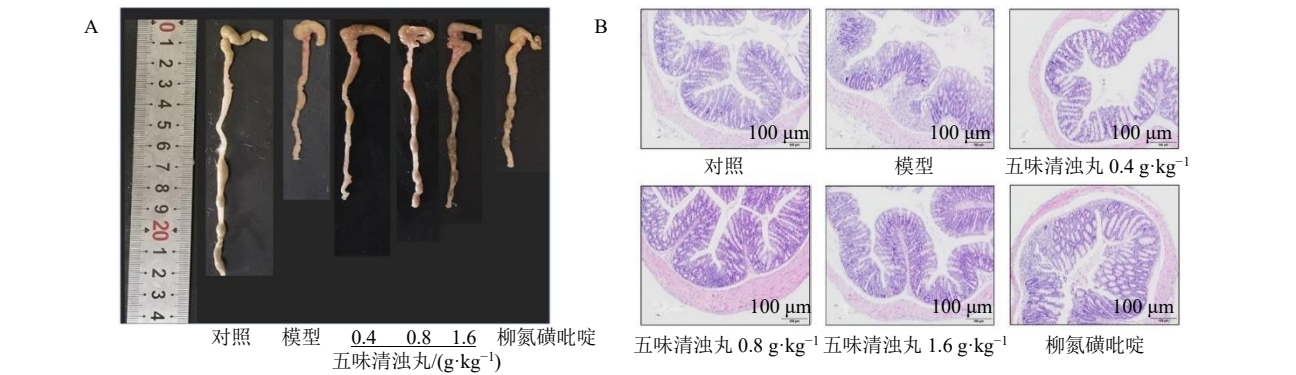


图 6 五味清浊丸对小鼠结肠形态 (A) 和结肠组织病理学 (B) 的影响 (×20)

Fig. 6 Effects of Wuwei Qingzuo Pills on the morphology of the mouse colon (A) and the histopathology of the colon tissue (B), (×20)

表 3 各组血清中炎症因子水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)					
Table 3 Expression of inflammatory cytokines in serum of each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)					
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	IFN-γ/(pg·mL ⁻¹)	IL-10/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	9.07±0.44	27.66±4.15	2.13±0.12	3.19±0.22
模型	—	17.15±1.37**	43.95±4.71**	6.08±0.56**	1.54±0.28**
五味清浊丸	0.4	13.01±1.03	31.93±3.40##	5.03±0.29##	2.17±0.24##
	0.8	10.34±1.90##	15.98±3.04##	3.95±0.34##	2.47±0.13##
	1.6	7.07±0.71##	9.73±1.19##	3.70±0.32##	2.33±0.16##
柳氮磺吡啶	0.2	10.69±0.78##	22.80±7.29##	3.54±0.27##	2.37±0.45##

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: ## $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs model group.

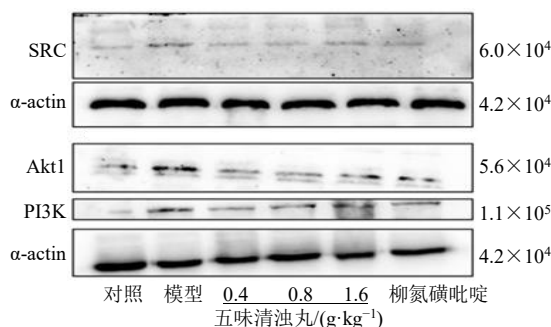


图 7 各组肠组织中 SRC、PI3K、Akt1 的蛋白电泳图
Fig. 7 Protein electrophoresis of SRC, PI3K, and Akt1 in intestinal tissue from each group

表 4 各组肠组织中 SRC、PI3K、Akt1 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 4 Comparison of SRC, PI3K, and Akt1 expression levels in intestinal tissues among different groups ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量		
		SRC	Akt1	PI3K
对照	—	1.00 ± 0.40	1.00 ± 0.29	0.98 ± 0.64
模型	—	1.90 ± 0.24**	2.39 ± 0.27**	2.43 ± 0.38**
五味清浊丸	0.4	1.41 ± 0.59	1.65 ± 0.19 [#]	1.15 ± 0.23 [#]
	0.8	1.25 ± 0.33 [#]	1.52 ± 0.19 [#]	1.24 ± 0.33 [#]
	1.6	1.19 ± 0.24 [#]	1.71 ± 0.37 [#]	1.42 ± 0.54
柳氮磺吡啶	0.2	1.35 ± 0.39	1.26 ± 0.16 [#]	0.81 ± 0.34 [#]

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group.

具有广泛的生物学活性, 其中抗炎作用是其重要特性之一。研究发现, 木犀草素可通过多种途径发挥抗炎作用, 如在脂多糖刺激的 RAW 264.7 细胞中, 木犀草素抑制了核因子- κ B (NF- κ B) 和激活蛋白-1 (AP-1) 的激活, 减少一氧化氮 (NO) 和前列腺素 E2 (PGE2) 等炎症介质的产生^[15]。此外, 木犀草素还可通过激活细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2) 信号通路, 抑制炎症、细胞凋亡和自噬, 从而改善结肠炎^[16]。 β -谷甾醇是一种在植物细胞膜中广泛存在的植物甾醇。研究发现, β -谷甾醇可显著降低结肠炎小鼠疾病活动指数 (DAI), 改善结肠组织学结构, 减少炎症介质生成^[17]。此外, β -谷甾醇还能抑制 NF- κ B 和促炎细胞因子的表达, 减少炎症细胞如巨噬细胞的激活及极化, 有效缓解炎症状态^[18]。 β -谷甾醇能够提高肠道抗菌肽表达, 减少肠道致病菌如沙门菌的存活, 协同减轻结肠炎肠道炎症^[19]。

采用网络药理学分析提示, 五味清浊丸可能通过靶向 SRC、Akt1、TNF 发挥抗结肠炎的作用。SRC 是一种非受体酪氨酸激酶, 研究发现在碘乙酰胺诱

导的结肠炎大鼠模型中, 多巴胺 D2 受体激动剂可减轻结肠炎症状, 其机制与下调 c-SRC, 降低结肠血管通透性有关, 提示 SRC 参与了结肠炎中血管通透性改变这一病理过程^[20]。在葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎模型中, 磷脂酶 D2 (PLD2) 可通过 c-SRC 激酶依赖性途径介导紧密连接蛋白 Occludin 的磷酸化和蛋白酶体降解, 破坏肠道上皮屏障, 说明 SRC 参与了 PLD2 对肠道屏障功能的调控, 在结肠炎肠道上皮屏障破坏的病理机制中起重要作用^[21]。此外, 在溃疡性结肠炎患者中, SHIP1 蛋白的严重缺乏与疾病严重程度相关, 且 SHIP1 缺陷的患者循环 CD4⁺ T 细胞数量减少, 这可能与 SRC 参与的信号通路有关, 影响了 T 细胞稳态和溃疡性结肠炎的发病^[22]。而炎症因子 (如 TNF- α 、IL-6) 和脂多糖可以通过其受体 (如 Toll 样受体 TLR4) 激活 SRC。研究发现, SRC 可以直接磷酸化并激活 PI3K 的调节亚基 p85, 或者磷酸化受体酪氨酸激酶 (RTKs), 为 PI3K 提供锚定位点, 从而高效地启动 PI3K/Akt 通路。PI3K/Akt1 信号通路在细胞的生长、增殖、凋亡和代谢等诸多生物学过程中发挥着核心调控作用^[23]。研究表明, 在溃疡性结肠炎患者的黏膜活检标本及葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎模型中, PI3K/Akt 信号通路参与了 TNF- α 等促炎细胞因子的调节和释放, 提示该信号通路在溃疡性结肠炎的炎症发展和进程中具有重要调控作用^[24]。在克罗恩病患者中, PI3K/Akt 信号通路被激活, 表明该信号通路的异常激活可能参与了克罗恩病的发病, 这也从侧面反映了 PI3K/Akt1 信号通路在炎症性肠病发病机制中的复杂性^[25]。而本实验网络药理学分析发现五味清浊丸可能调控 PI3K/Akt1 信号通路。为了验证这一预测, 本研究采用免疫印迹实验发现, 五味清浊丸可抑制 PI3K/Akt1 信号通路和炎症相关通路蛋白的表达。因此, 五味清浊丸可能通过调控 SRC/PI3K/Akt1 炎症通路而治疗结肠炎, 并通过体内实验验证了这一假说, 为后续五味清浊丸治疗结肠炎作用机制的深入研究提供参考。

综上所述, 网络药理学对五味清浊丸的有效成分及作用靶点进行预测, 发现木犀草素、 β -谷甾醇等可能通过 SRC、Akt1、TNF 等多个靶点发挥抗结肠炎作用, 体内实验进一步证明五味清浊丸可降低 SRC/PI3K/Akt1 信号通路中蛋白的表达, 进而降低肠道炎症, 保护肠道黏膜屏障作用, 发挥治疗结肠炎的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Aznar M D G, Guerrero M D V, García M B, *et al.* Specific composition diets and improvement of symptoms of immune-mediated inflammatory diseases in adulthood—could the comparison between diets be improved? [J]. *Nutrients*, 2025, 17(3): 493.
- [2] Vuitton L, Peyrin-Biroulet L. New therapeutic goals in inflammatory bowel diseases [J]. *Rev Prat*, 2014, 64(9): 1232-1236.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 648-649.
- [4] 吴淑娟, 王新军, 张武胜, 等. 石榴汁对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠溃疡性结肠炎的作用 [J]. *食品科学*, 2023, 44(13): 88-96.
- [5] 屈树兰. 肉桂醛对溃疡性结肠炎的药效及机制研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2021.
- [6] Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, *et al.* A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice [J]. *Gastroenterology*, 1990, 98(3): 694-702.
- [7] 贾立伟, 李欣, 朱文娅, 等. 牛磺熊去氧胆酸联合柳氮磺胺吡啶对小鼠结肠炎模型的药效作用及机制 [J]. *解放军医学院学报*, 2015, 36(11): 1134-1137.
- [8] Zeng Z R, Zhu Z H, Yang Y Y, *et al.* Incidence and clinical characteristics of inflammatory bowel disease in a developed region of Guangdong Province, China: A prospective population-based study [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(7): 1148-1153.
- [9] He J, Wu J C, Tan J, *et al.* Role of declined electrogenic $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter NBCe1 in mucus barrier impairment and colonic inflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 150: 114282.
- [10] 陈琴, 张志云, 朱云婴, 等. 基于国家专利的中药复方治疗溃疡性结肠炎用药规律研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(1): 171-178.
- [11] 王尧, 陈果, 张仕杰, 等. 中药通过调节肠道微生物-肠免疫轴治疗溃疡性结肠炎研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(22): 7857-7869.
- [12] 戴八十三. 通拉嘎-5 蒙医临床应用及研究进展 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2017, 17(8): 165.
- [13] 乌云嘎. 蒙药通拉嘎-5 联合维生素 D 对糖尿病肾病大鼠肾脏的保护作用的研究 [D]. 通辽: 内蒙古民族大学, 2023.
- [14] Ma C, Buren Q, Eerde M, *et al.* Molecular assessment of traditional Mongolian medicine Tongola-5 in lactulose-induced diarrhea: An *in vivo* study [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2025, 19: 6145-6181.
- [15] Park C M, Song Y S. Luteolin and luteolin-7-O-glucoside inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through modulation of NF- κ B/AP-1/PI3K-Akt signaling cascades in RAW 264.7 cells [J]. *Nutr Res Pract*, 2013, 7(6): 423-429.
- [16] Vukelić I, Detel D, Batičić L, *et al.* Luteolin ameliorates experimental colitis in mice through ERK-mediated suppression of inflammation, apoptosis and autophagy [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 145: 111680.
- [17] Zhang Y S, Jin X S, Xia H H, *et al.* β -sitosterol ameliorates ulcerative colitis through modulation of the AMPK/MLCK anti-inflammatory pathway [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2025, 39(6): e70287.
- [18] Geng R Y, Cao Y Y, Liu T, *et al.* β -Sitosterol improves murine ulcerative colitis by inhibiting the expression of ribosomal proteins and the attempted polarization of type 1 macrophages [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2025, 40(1): 169.
- [19] Ding K, Tan Y Y, Ding Y, *et al.* β -sitosterol improves experimental colitis in mice with a target against pathogenic bacteria [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4): 5687-5694.
- [20] Tolstanova G, Deng X M, Ahluwalia A, *et al.* Role of dopamine and D2 dopamine receptor in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(10): 2963-2975.
- [21] Chelakkot C, Ghim J, Rajasekaran N, *et al.* Intestinal epithelial cell-specific deletion of PLD2 alleviates DSS-induced colitis by regulating occludin [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1573.
- [22] Fernandes S, Srivastava N, Sudan R, *et al.* SHIP1 deficiency in inflammatory bowel disease is associated with severe Crohn's disease and peripheral T cell reduction [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1100.
- [23] Xu W T, Yang Z, Lu N H. A new role for the PI3K/Akt signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition [J]. *Cell Adh Migr*, 2015, 9(4): 317-324.
- [24] Huang X L, Xu J, Zhang X H, *et al.* PI3K/Akt signaling pathway is involved in the pathogenesis of ulcerative colitis [J]. *Inflamm Res*, 2011, 60(8): 727-734.
- [25] Long S H, He Y, Chen M H, *et al.* Activation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway triggered by PTEN downregulation in the pathogenesis of Crohn's disease [J]. *J Dig Dis*, 2013, 14(12): 662-669.

[责任编辑 高源]