

基于网络药理学的气滞胃痛颗粒抗炎镇痛活性作用分析

杨晓娟^{1,2}, 胡黄婉茵², 张海珠³, 郝俊杰², 刘靖², 刘晓熠², 王玄², 邬国松², 肖小河², 牛明^{2*}, 罗光明^{1*}

1. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

2. 中国人民解放军总医院第五医学中心, 全军中医药研究所, 北京 100039

3. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000

摘要: **目的** 通过网络药理学的方法预测气滞胃痛颗粒抗炎镇痛主要活性成分的作用靶点, 结合中医方解配伍理论对其多成分-多靶点-多通路的作用进行分析。 **方法** 基于 TCMSP 中药系统生物学分析数据库收集气滞胃痛颗粒中 6 味中药的主要化学成分, 并借助 LC-MS 技术对所筛成分进行分析, 通过 TCMSP 检索和 Pharmmapper 软件预测获取各成分主要的作用靶点, 并通过 DIP 数据库, 利用蛋白质相互作用信息建立药物靶标与炎症疼痛靶标的关联, 构建药物-靶标-疾病网络, 通过网络特征分析气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的作用靶标, 阐释其抗炎镇痛的主要作用机制。 **结果** 根据网络分析, 共有 44 个炎症疼痛靶点与气滞胃痛颗粒密切相关, 其中直接作用靶点有 20 个, 主要是对环加氧酶-2 (COX-2) 和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 等蛋白酶的作用, 作用机制可能与调节肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、NOD 样受体 (NLR) 信号通路、血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路等与炎症疼痛密切相关的信号通路有关。 **结论** 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛作用体现了中药多成分、多靶点、多途径的作用特点, 该研究为深入阐释气滞胃痛颗粒抗炎镇痛作用机制提供科学依据, 并且进一步说明了中医药古方配伍理论的科学性。

关键词: 气滞胃痛颗粒; 抗炎镇痛; 网络药理学; 作用靶点; 配伍理论

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)13-3094-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.015

Anti-inflammatory and analgesic activity analysis of Qizhi Weitong Granules based on network pharmacology

YANG Xiao-juan^{1,2}, HU Huang Wan-yin², ZHANG Hai-zhu³, HAO Jun-jie², LIU Jing², LIU Xiao-yi², WANG Xuan², WU Guo-song², XIAO Xiao-he², NIU Ming², LUO Guang-ming¹

1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Department of China Military Institute of Chinese Materia, the Fifth Medical Centre, Chinese PLA (People's Liberation Army) General Hospital, Beijing 100039, China

3. Department of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective The target of anti-inflammatory and analgesic active components of Qizhi Weitong Granules was predicted by network pharmacology method, and the effect of multi-component-multi-target-multi-pathways on TCM-complexation theory was analyzed. **Methods** The main chemical constituents of six Chinese medicines in Qizhi Weitong Granules were collected based on the TCMSP Chinese Medicine System Biological Analysis Database and analyzed by LC-MS. The main target of each component was predicted by TCMSP search and Pharmmapper software. The relationship between drug, target and inflammatory pain target was established by DIP database and protein interaction information. In order to elucidate the main mechanism of anti-inflammatory and analgesic effects of Qizhi Weitong Granules, the network of "drug-target-disease" was constructed and the target of anti-inflammatory and analgesic effects of Qizhi Weitong Granules were analyzed by network characteristics. **Results** Through the network analysis, a total of 44 inflammatory targets were closely related to Qizhi Weitong Granules, of which 20 were

收稿日期: 2018-12-19

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-C-HUN-21); 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-TJ-43); 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-BJ-07); 全军医学科技“十二五”科研项目 (BWS11J049); 全军医学科技青年培育项目 (16QNP151); 北京市科技计划-京津冀协同创新推动 (Z171100004517014)

作者简介: 杨晓娟, 在读硕士研究生, 主要从事中药质量标准研究。Tel: 18330673151 E-mail: 1528059490@qq.com

***通信作者** 牛明, 博士, 工程师, 主要从事中药制剂及质量研究。Tel: (010)66933325 E-mail: nmbright@163.com

罗光明, 博士生导师, 教授, 主要从事中药鉴定及中药资源研究。Tel: (0791)871189825 E-mail: jzlgm88@163.com

directly targeted, mainly for the action of proteases such as COX-2 and iNOS. The mechanism may be related to the regulation of TNF signaling pathway, NOD-like receptor signaling pathways, VEGF signaling pathways and other signaling pathways closely related to inflammation. **Conclusion** The anti-inflammatory and analgesic effects of Qizhi Weitong Granules reflect the multi-component, multi-target and multi-pathway characteristics of traditional Chinese medicine. This study provides a scientific basis for further understanding the anti-inflammatory and analgesic mechanism of Qizhi Weitong Granules and explains the scientificity of the traditional Chinese medicine compatibility theory.

Key words: Qizhi Weitong Granules; anti-inflammatory and analgesic activity; network pharmacology; target; compatibility theory

气滞胃痛颗粒是《中国药典》收录的非处方中成药, 处方来源于医圣张仲景《伤寒论》中经典方四逆散, 由柴胡、白芍、枳壳、香附(炙)、延胡索(炙)、甘草(炙) 6 味药材组成, 具有舒肝理气、和胃止痛的功效^[1]。此药临床广泛用于治疗肝郁气滞、胸痞胀满、胃脘疼痛, 疗效确切, 有抗炎镇痛、抗溃疡、促胃动力等作用^[2-4]。本方即四逆散加延胡索、香附和血理气, 治疗胁痛, 寒热往来, 专以疏肝为目的。用柴胡、枳壳、香附理气为主, 白芍、延胡索和血为佐, 再用甘草以缓之, 调和诸药。现代药理研究表明, 柴胡具有显著的抗炎镇痛作用, 且可以保护消化系统, 提高机体免疫力; 白芍可以抗炎镇痛, 治疗包括便秘、腹泻、腹胀、阴寒、脾虚等肠道应激性综合征, 增强免疫功能; 香附具有抗炎镇痛、抗氧化的作用, 对胃黏膜具有保护作用; 延胡索可以改善心血管疾病, 具有抗实验性胃溃疡作用, 抑制胃酸分泌, 也具有抗炎镇痛的药理作用; 枳壳具有调节胃肠运动, 治疗胃肠道疾病的作用, 同时还可以治疗胃下垂和功能性消化不良; 甘草也具免疫调节、抗炎镇痛、解痉等功效^[5-10]。复方气滞胃痛颗粒具有明显的胃黏膜保护及促进胃肠蠕动作用, 具有明显的抗溃疡、抗炎镇痛作用^[2-4]。通过比较发现 6 味中药既有相同的药理作用, 但是也各有侧重, 而中药复方防治疾病的物质基础是中药相互协调, 相互作用, 从而达到整体作用。

近年来, 网络药理学的快速发展及其在中医药研究中的拓展应用, 为系统研究中药的药效作用机制提供了快捷高效的新手段和新思路。网络药理学的方法, 基于系统生物学理论, 从药物、靶点与疾病间相互作用的整体性和系统性出发, 通过采用复杂生物网络模型, 揭示药物、基因、靶点、疾病之间复杂的整体生物网络关系, 在此基础上分析、预测药物的药理学机制^[11-14]。而中药及中药复方具有多成分、多途径、多靶点、协同作用的特点^[15], 均关注的是整体性而非局部性, 都注重的是致病因素或者药物干预下机体或网络系统表现出的整体反

应, 而不单纯是观察某些局部的器官或病灶^[16]。可以说, 网络药理学和中医药之间在整体性和系统性方面具有高度的一致性。这也为中药复方的深入研究提供了新的机遇, 运用网络与系统的思想来理解复方和生物系统的复杂性, 使得现代复方研究由描述转为预测成为可能^[17]。

本研究主要是基于文献检索和数据库查询方式收集气滞胃痛颗粒中各药味所含的化学成分和作用靶标, 并借助 LC-MS 技术对化学成分进行指认, 利用蛋白质相互作用信息建立药物靶标与炎症疼痛靶标的关联, 构建“药物-靶标-疾病”网络, 对气滞胃痛颗粒抗炎镇痛作用的主要靶点和作用通路进行分析, 并进一步分析复方方解和现代药理学研究及临床运用的关联, 以期对指导气滞胃痛颗粒实验研究、临床合理用药以及为中药方剂的网络药理学进一步研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

安捷伦 6550 iFunnel Q-TOF LC-MS (美国安捷伦科技公司); Agilent 1290 超高效液相色谱仪; SynergyH2 多功能微孔板检测仪 (美国 BioTek 公司); 万分之一电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 台式高速离心机 (美国 Thermo 公司); 微量移液器、多道移液器 (德国 Eppendorf 公司); DK-600S 三用恒温水箱 (上海精宏实验设备有限公司); Vortex-Genie[®] 2 涡旋仪 (深圳市安必胜科技有限公司); 离心管 (美国康宁公司); XS-205 电子天平 (美国 MettlerToldeo 公司)。DMSO 购于美国 AMRESCO 公司 (批号 3304C252); 环加氧酶-2 (COX-2) 抑制剂筛选试剂盒 (批号 180227) 购于上海碧云天有限公司; 气滞胃痛颗粒 (批号 20180809) 由华润三九医药股份有限公司提供; 芍药苷 (批号 110736-201842, 质量分数 97.4%, 由中国食品药品检定研究院提供); 盐酸小檗碱 (批号 141128, 质量分数 98.0%)、槲皮素 (批号 150914, 质量分数 98.0%)、黄芩素 (批号 150320, 质量分

数 98.0%)、黄芩苷(批号 151119, 质量分数 98.0%)由成都普菲德生物科技有限公司提供。

1.2 样品制备和 LC/MS 条件

取气滞胃痛颗粒适量, 研细, 取样 2.0 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品。

生物流体的代谢分析在 Agilent 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS 上进行。样品序列是随机的, 每个样品的 4 μL 等分试样注射到 ZORBOX RRHD C₁₈ 分析柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm , Agilent Technologies 公司) 上, 柱温保持在 30 $^{\circ}\text{C}$ 。对于 ESI⁺ 分析, 用 25 min 线性梯度实现分离, 其中流动相为溶剂 A (含 0.1% 甲酸的水) 和溶剂 B (含 0.1% 甲酸的乙腈)。体积流量为 0.30 mL/min。梯度程序: 0~1.0 min, 100% A; 1.0~9.0 min, 100%~60% A; 9.0~19.0 min, 60%~10% A; 19.0~21.0, 10% A, 21.0~25.0 min, 100% B。将洗脱液直接引入质谱仪。

对于质谱, 使用具有正、负离子模式的电喷雾电离源 (ESI) 的 Agilent 6550 Q-TOF/MS。电喷雾源参数: 电喷雾毛细管电压在负电离模式下为 3.5 kV, 在正电离模式下为 4 kV。质量范围设定为 m/z 80~1 000。负电离模式下气体温度为 225 $^{\circ}\text{C}$, 正电离模式下气体温度为 225 $^{\circ}\text{C}$ 。气体体积流量为 13 L/min。雾化器压力为 137.90 kPa (负离子和正离子)。鞘气温度为 275 $^{\circ}\text{C}$, 鞘气体积流量为 12 L/min。在负离子模式和正离子模式下, 喷嘴电压均为 2 000 V。对于 MS 分析期间的内部质量校准, 参考质量 121.050 9 (purine, $[\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4 + \text{H}]^+$) 和 922.009 8 (HP-0921, $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{N}_3\text{P}_3\text{F}_{24} + \text{H}]^+$) 以正离子模式使用; 112.985 6 (TFANH₄, $[\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{NF}_3 - \text{NH}_4]^-$) 和 1 033.988 1 (TFANH₄ + HP-0921, $[\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{N}_4\text{P}_3\text{F}_{27} - \text{NH}_4]^-$) 以负离子模式使用。

1.3 数据库及软件

中药系统药理学分析数据库 TCMSP^[18] (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>), TCM-Database@Taiwan 数据库 (<http://tcm.cmu.edu.tw>), PubChem Compound 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>), 人类孟德尔遗传数据库 OMIM (<http://www.omim.org/>), 蛋白质相互作用信息数据库 DIP^[19] (<http://dip.doe-mbi.ucla.edu/dip/Main.cgi>), 蛋白质数据库 UniProt (<http://www.uniprot.org/>),

DisGeNET 数据库 (<http://www.disgenet.org/web/disGeNET/menu>), 网络可视化及分析软件 Cytoscape (Version 3.5.1)。

1.4 靶点数据集的建立

通过中药系统生物学分析数据库 TCMSP, 并结合文献获得气滞胃痛颗粒中 6 味中药所含化学成分的结构及其作用靶点信息, 并进一步根据口服生物利用度 (OB) 和类药性 (DL) 筛选活性成分, OB 和 DL 是中药成分 ADME 的关键参数。因此利用 TCMSP 数据平台, 计算 ADME/T 值, 对 OB、DL 进行评估, 选取数据库中同时满足 $\text{OB} \geq 30\%$ 和 $\text{DL} \geq 0.18$ 的化学成分以及文献报道的有活性的化合物作为候选活性成分, 建立气滞胃痛颗粒的药物成分靶点数据集, 并对数据集的化学成分进行进一步分析, 借助 LC-MS 技术开展气滞胃痛颗粒的全化学成分细致分析进而用这些成分开展作用靶点的预测; 通过人类孟德尔遗传数据库 (OMIM) 中输入关键词 inflammation、inflammatory 和 pain, 搜索已报道的和炎症疼痛相关的基因, 去除重复基因和假阳性基因, 筛选和炎症疼痛相关的基因和蛋白靶点, 建立炎症疼痛靶点数据集; 蛋白质的相互作用信息来源于蛋白质相互作用数据库 (DIP, <http://dip.doe-mbi.ucla.edu>)。为了便于统一分析, 以上所有靶点均转化成 UniProt ID 格式。

1.5 网络的构建与分析

以蛋白质相互作用信息为纽带, 将气滞胃痛颗粒的活性成分、成分对应的靶点、炎症疼痛对应的靶点和交互蛋白对应的靶点进行关联。将上述预测的结果输入 Excel 表格并导入 Cytoscape (3.5.1) 软件, 采用 Cytoscape 软件的 Merge 功能将活性成分与潜在靶点构建“药物-靶点-疾病”网络。网络中, 节点 (node) 分别代表气滞胃痛颗粒的单味药、活性成分、作用靶点、交互蛋白。若某活性成分属于某单味药时, 则将单味药与活性成分以边 (edge) 相连; 若某一靶点为某单味药或活性成分的潜在靶点时, 则以边相连, 以此来体现气滞胃痛颗粒多成分、多靶点的作用特点。利用软件将以上网络进行可视化分析, 并通过 Network Analyzer 工具对网络中疾病靶标进行拓扑参数分析, 并针对炎症疼痛靶标中度值 (degree) 大于中位数 2 倍的靶标筛选气滞胃痛颗粒的主要抗炎镇痛靶标, 其中选择中介中心性 (betweenness centrality, BC) 和接近中心性 (closeness centrality, CC) 均大于中位数的节点蛋

白作为气滞胃痛颗粒治疗炎症疼痛的关键靶点。针对上述构建的“药物-靶点-疾病”网络进行简化,提取气滞胃痛颗粒中 6 味中药药物与其抗炎镇痛的 42 个主要作用靶点和 20 个直接作用靶点分别构建相互作用关系的网络图。

1.6 生物过程和通路分析

将气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的直接作用靶标导入 DAVID 数据库, Select Identifier 设置为 Official Gene Symbol, List Type 设置为 Gene List, 限定物种为人, 对气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的直接作用靶标进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集。其中 GO 富集包括生物过程 (biological process), 分子功能 (molecular function) 和细胞组分 (cellular component) 3 个部分, 设定阈值 $P < 0.01$ 且 $FDR < 0.01$, 并按照涉及的靶点数目简单排序, 筛选排名靠前的生物过程或通路。

1.7 作用靶点类型归属

DisGeNET 数据库是包含与人类疾病相关的基因和变体的平台之一。在基因和疾病关系中, 该数据库一方面可以输入疾病获取与该疾病相关的基因信息, 另一方面还可以输入基因获取与该基因相关的疾病信息。在 DisGeNET 数据库选用基因进行检索, 将上述气滞胃痛颗粒的主要作用靶标的 UniProt ID 依次导入数据库中, 获取靶点类型信息 (protein class)。

1.8 体外活性验证

精密称取气滞胃痛颗粒和槲皮素、小檗碱、芍药苷单体适量, 加 DMSO 溶解配成 1 mg/mL 的母液, 超声处理 30 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液过膜备用, 使用时将一定量母液加入 DMSO 制成所需浓度溶液, 即得供试品。

采用 COX-2 抑制剂筛选试剂盒对气滞胃痛颗粒的治疗胃炎作用进行体外实验验证, 设置对照孔 (底物、探针和缓存液)、100%酶活性对照孔 (酶、底物、探针和缓存液) 和受试样品孔 (酶、底物、探针、缓存液和样品), 每组不少于 3 个复孔, 受试样品孔分别加入气滞胃痛颗粒样品或单体化合物, 混匀于 37 °C 孵育 10 min 后, 使用酶标仪进行荧光检测, 激发波长 560 nm, 发射波长 590 nm。计算样品孔和对照孔的平均相对荧光值 (relative fluorescence unit, RFU), 并计算每个样品的抑制率。

抑制率 = $(RFU_{100\%酶活性对照} - RFU_{样品}) / (RFU_{100\%酶活性对照} - RFU_{对照})$

2 结果与分析

2.1 气滞胃痛颗粒成分分析及抗炎镇痛的成分-靶点-疾病网络构建

通过 LC/MS 得到气滞胃痛颗粒的总离子流图见图 1, 通过保留时间、质谱裂解规律、文献信息共鉴定了 147 个化合物, 结果见表 1。根据气滞胃痛颗粒所含化学成分与其作用靶标的对应关系以及 DIP 数据库中的蛋白质相互作用信息, 将搜集到化合物成分、药物作用靶标和疾病靶标进行关联, 构建气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的成分-靶点-疾病网络。基于上述网络构建方法, 共筛选出气滞胃痛颗粒中的化学成分 147 个, 其中柴胡 14 个、延胡索 (炙) 42 个、枳壳 6 个、香附 (炙) 17 个、白芍 9 个、炙甘草 75 个, 其中超过 2 个药材共有的成分 6 个。成分作用的靶点蛋白 330 个以及炎症疼痛相关疾病靶点 184 个, 并依托相互作用蛋白质数据库构建生物靶标网络, 利用 Cytoscape 3.5.1 软件将以上网络进行可视化分析, 结果见图 2。其中, 红色三角形代表气滞胃痛颗粒中的化学成分; 蓝色圆点代表气滞胃痛颗粒成分作用靶标; 黄色圆点代表气滞胃痛颗粒间接作用的炎症疼痛靶点; 黄色正方形代表气滞胃痛颗粒直接作用的炎症疼痛靶点; 紫色圆点代表与靶点蛋白存在相互作用的蛋白; 棕色六边形代表单味中药。从图 2 中可以看出同一靶点可对应于不同的活性成分, 也可以对应相同的活性成分, 充分体现了复方多成分、多靶点的作用特点。

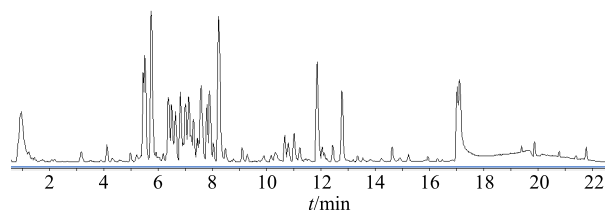


图 1 气滞胃痛颗粒的总离子流图

Fig. 1 Total ion flow chart of Qizhi Weitong Granules

2.2 气滞胃痛颗粒治疗炎症疼痛的网络拓扑参数分析及靶标筛选

利用 Cytoscape 3.5.1 软件将以上网络进行可视化分析, 并通过 Network Analyzer 工具对网络中疾病靶标的 degree、BC 和 CC 3 个拓扑参数进行评估和筛选, 筛选结果作为气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的主

表 1 气滞胃痛颗粒所含化学成分的药材归属及定性分析

Table 1 Attribution and qualitative analysis of chemical constituents in Qizhi Weitong Granules

化合物	相对分子质量	<i>t_R</i> /min	药材归属	化合物	相对分子质量	<i>t_R</i> /min	药材归属
(+)-catechin	290.079 0	4.790	bs	beta-sitosterol	414.386 2	11.653	xf
paeoniflorgenone	318.110 3	5.503	bs	sugeonyl acetate	276.172 5	16.461	xf
paeoniflorin	480.163 2	5.503	bs	(<i>S</i>)-scoulerine	327.147 1	5.768	yhs
lactiflorin	462.152 6	6.862	bs	clarkeanidine	327.147 1	5.768	yhs
benzoyl paeoniflorin	584.189 4	9.283	bs	izoteolin	327.147 1	5.768	yhs
beta-sitosterol	414.386 2	11.653	bs	demethylcorydalmatine	327.147 1	5.768	yhs
petunidin	317.066 1	5.437	ch	capaurine	371.173 3	6.216	yhs
(+)-anomalin	426.167 9	5.602	ch	isocorypalmine	341.162 7	6.365	yhs
sainfuran	286.084 1	8.371	ch	corydalmine	341.162 7	6.365	yhs
troxerutin	346.250 8	9.084	ch	corydine	341.162 7	6.365	yhs
cubebin	356.126 0	9.730	ch	<i>N</i> -methyllaurotetanine	341.162 7	6.365	yhs
longikaurin A	348.193 7	11.968	ch	norglaucing	341.162 7	6.365	yhs
octalupine	264.183 8	12.698	ch	fumarine	353.126 3	6.813	yhs
areapillin	360.084 5	17.008	ch	cavidine	353.162 7	6.846	yhs
linoleyl acetate	308.271 5	17.953	ch	tetrahydrocorysamine	337.1314	7.111	yhs
saikosaponin c _{qt}	472.355 3	18.251	ch	cryptopin	369.157 6	7.111	yhs
baicalin	446.084 9	19.047	ch	hyndarin	355.178 4	7.128	yhs
glycyrol	366.110 3	0.977	gc	marmin	332.162 4	10.145	zq
isoglycyrol	366.110 3	0.977	gc	sitosterol	414.3862	11.653	xf、bs、gc、yhs
licoricone	382.141 6	2.187	gc	(2 <i>R</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxy-phenyl)chroman-4-one	256.073 6	6.315	gc
glycyrin	382.141 6	2.187	gc	xambioona	388.167 5	3.779	gc
luteolin	286.047 7	8.586	xf	licopyranocoumarin	384.120 9	3.895	gc
isodallbergin	268.073 6	10.725	xf	(2 <i>S</i>)-7-hydroxy-2-(4-hydroxy-phenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chroman-4-one	324.136 2	6.995	gc
gancaonin H	420.157 3	5.370	gc	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	300.063 4	7.161	gc
kanzonol F	420.193 7	5.370	gc	licoagroisoflavone	336.099 8	8.039	gc
euchrenone	406.178 0	6.315	gc	kazonols W	336.099 8	8.039	gc
quercetin	330.074 0	6.531	gc	licochalcone B	286.084 1	8.371	gc
odoratin	266.151 8	6.796	gc	calycosin	284.068 5	8.620	gc
vestitol	272.104 9	6.813	gc	inermine	284.068 5	8.620	gc
jaranol	314.079 0	6.813	gc	medicarpin	270.089 2	9.498	gc
liquiritin	418.126 4	6.813	gc	sigmoidin-B	356.126 0	9.730	gc
glycyroside	562.168 6	6.813	gc	6-prenylated eriodictyol	356.126 0	9.730	gc
phaseolinisoflavan	324.136 2	6.995	gc	8-prenylated eriodictyol	356.126 0	9.730	gc
glabridin	324.136 2	6.995	gc	glypallichalcone	284.104 9	10.078	gc
glyasperin C	356.162 4	7.111	gc	licochalcone G	354.146 7	10.095	gc
glyasperin B	370.141 6	7.128	gc	1-methoxyphaseollidin	354.146 7	10.095	gc
glepidotin B	340.131 1	7.492	gc	3'-methoxyglabridin	354.146 7	10.095	gc
licocoumarone	340.131 1	7.492	gc	formononetin	268.073 6	10.725	gc
dehydroglyasperins C	340.131 1	7.492	gc	shinpterocarpin	322.120 5	11.703	gc
gancaonin A	352.131 1	7.890	gc	glabrene	322.120 5	11.703	gc
gancaonin G	352.131 1	7.890	gc				
glabrone	336.099 8	8.039	gc				
hesperetin	302.079 0	7.128	zq				
kaempferol	286.047 7	8.586	xf、bs、ch、gc				

续表 1

化合物	相对分子质量	<i>t_R</i> /min	药材归属	化合物	相对分子质量	<i>t_R</i> /min	药材归属
8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	308.104 9	7.509	gc	dehydrocorydalmine	338.139 2	13.145	yhs
7-methoxy-2-methyl isoflavone	266.094 3	9.084	gc	beta-sitosterol	414.386 2	11.653	zq
3,22-dihydroxy-11-oxo-delta(12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid	512.313 8	11.521	gc	nobiletin	402.131 5	11.852	zq
3'-hydroxy-4'- <i>O</i> -methylglabridin	354.146 7	10.095	gc	naringenin	272.068 5	6.813	gc、zq
18α-hydroxyglycyrrhetic acid	486.334 5	13.809	gc	mairi	456.360 3	10.791	bs、gc
gancanin B	368.126 0	12.234	gc	isocorybulbine	355.178 4	7.128	yhs
glyasperin M	368.126 0	12.234	gc	leonticine	327.183 4	7.194	yhs
(-)-medicocarpin	432.142 0	12.433	gc	stylopine	323.115 8	7.260	yhs
isotrifoliol	298.047 7	13.096	gc	coptisine	320.092 3	7.293	yhs
glyzaglabrin	298.047 7	13.096	gc	pseudocoptisine	320.092 3	7.293	yhs
glyasperin F	354.110 3	13.096	gc	(<i>R</i>)-canadine	339.147 1	7.492	yhs
licoisoflavone	354.110 3	13.096	gc	corydaline	369.194 0	7.575	yhs
licoisoflavanone	354.110 3	13.096	gc	dihydrosanguinarine	333.100 1	7.741	yhs
isolicoflavanol	354.110 3	13.096	gc	dehydrocavidine	351.147 1	7.890	yhs
licochalcone A	338.151 8	13.179	gc	palmatine	352.154 9	7.957	yhs
licoagrocarpin	338.151 8	13.179	gc	dehydrocorybulbine	352.154 9	7.957	yhs
semilicoisoflavone B	352.094 7	14.455	gc	13-methylpalmatrubine	352.154 9	7.957	yhs
licoisoflavone B	352.094 7	14.455	gc	berberine	336.123 6	8.023	yhs
7-acetoxy-2-methylisoflavone	294.089 2	6.995	gc	corynoxine	365.126 3	8.222	yhs
tetrahydroprotopavine	329.162 7	5.437	yhs	dehydrocorydaline	366.170 5	8.222	yhs
phaseol	336.099 8	8.039	gc	bicuculline	367.105 6	8.222	yhs
icos-5-enoic acid	310.287 2	19.329	gc	licorice glycoside E	693.205 8	14.919	gc
khellol glucoside	408.105 6	4.624	xf	glycyrrhiza flavonol A	370.105 3	19.163	gc
resivit	306.074 0	4.989	xf	gadelaidic acid	310.287 2	19.329	gc
rosenonolactone	316.203 8	5.437	xf	isorhamnetin	316.058 3	7.774	xf、ch、gc
hyndarin	355.178 4	7.128	xf	quercetin	302.042 7	8.686	xf、ch、gc、yhs
chryseriol	300.063 4	7.161	xf	1,4-epoxy-16-hydroxyheneicos-1,3,12,14,18-pentaene	316.240 2	5.437	xf
khell	260.068 5	7.774	xf	(-)-alpha- <i>N</i> -methylcanadine	354.170 5	6.879	yhs
saulatine	397.152 5	8.868	yhs	(2 <i>S</i>)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano[2,3- <i>f</i>]chromen-4-one	390.183 1	14.737	gc
pontevedrine	381.121 2	9.216	yhs	13-methyldehydrocorydalmine	352.154 9	7.957	yhs
dihydrochelerythrine	349.131 4	16.328	yhs	8-isopentenyl-kaempferol	354.110 3	13.096	xf
sanguinarine	332.092 3	16.776	yhs				

bs-白芍 ch-柴胡 gc-甘草 xf-香附 yhs-延胡索 zq-枳壳

bs-*Paeoniae Radix Aitba* ch-*Bupleuri Radix* gc-*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* xf-*Cyperis Rhizoma* yhs-*Corydalis Rhizoma* zq-*Aurantii Fructus*

要作用靶点。根据网络分析结果，筛选参数确定为 $CC \geq 0.222$ 1, $degree \geq 3$, $BC \geq 0.001$ 5, 最终筛选出满足条件的靶点 44 个，见表 2。其中，药物的直接作用靶点 20 个 ($directed=1$)，药物间接作用靶点 24 个 ($directed=0$)。

2.3 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的药物-靶点网络构建

针对上述构建的“药物-靶点-疾病”网络进行

简化，提取气滞胃痛颗粒中 6 味中药药物与其抗炎镇痛 20 个直接作用靶点分别构建相互作用关系的网络图，结果见图 3，这 20 个炎症疼痛相关靶点在每味中药中分布如下：柴胡中炎症作用相关靶点 17 个；香附中炎症作用相关靶点 18 个；白芍中炎症作用相关靶点 13 个；延胡索中炎症作用相关靶点 19 个；枳壳中炎症作用相关靶点 10 个；甘草中炎症

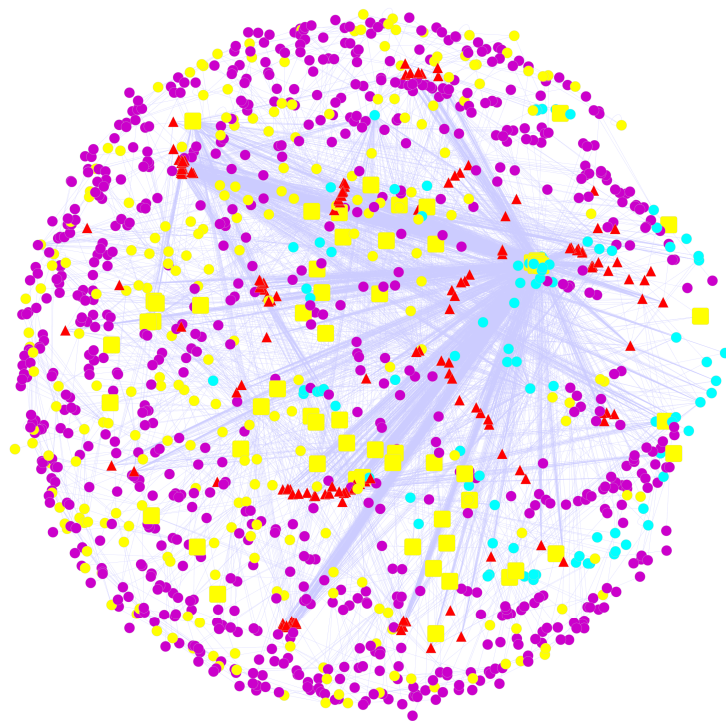


图 2 气滞胃痛颗粒治疗炎症疼痛的化合物-靶点-疾病交互网络

Fig. 2 Compound-target-disease interactive network for treating inflammatory pain with Qizhi Weitong Granules

作用相关靶点 19 个。气滞胃痛颗粒中 6 味药材均可作用于 P35354 (COX-2), P37231 (PPARG), P23219 (COX-1), Q16539 (MAPK14), P00734 (F2), P04150 (KDR), P05412 (JUN), P07477 (PRSS1) 等 8 个炎症疼痛靶点。

2.4 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛直接作用靶标的 GO 富集分析

采用 DAVID 软件对气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的直接作用靶标进行 GO 富集分析, 包括生物过程 (biological process)、分子功能 (Molecular Function) 和细胞组分 (cellular component) 3 个部分, 其中, 筛选 $P < 0.01$ 、 $FDR < 0.01$ 的结果见表 3。结果表明, 从生物过程的富集结果来讲, 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的靶标主要参与 RNA 聚合酶 II 启动子的转录、细胞对脂多糖的响应、ERK1 和 ERK2 级联反应、NO 生物合成、炎症疼痛反应、凋亡、平滑肌增殖、DNA 转录、血管增生、氧化应激等过程的调节; 从分子功能富集结果来说, 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛作用主要体现为与酶、相同蛋白、转录调控区 DNA 结合和受体信号蛋白酶活性激活等方面; 从细胞组分的富集结果来说, 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的靶标

主要集中于膜筏。

2.5 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛直接作用靶标的通路富集分析

采用 DAVID 软件对气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的直接作用靶标进行通路富集分析, 选择 KEGG 数据库作为分类依据, 筛选 $P < 0.01$ 、 $FDR < 0.01$ 的结果见表 4。从表中可以看出气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的主要作用过程包括对 TNF 信号通路、NOD 样受体信号通路、VEGF 信号通路等与炎症疼痛密切相关的信号通路。

2.6 作用靶点类型归属

将气滞胃痛颗粒的 44 个作用靶点依次导入 DisGeNET 数据库, 获取靶点对应的蛋白质类型, 见表 5。结果表明气滞胃痛颗粒升高白细胞过程中有信号分子、酶调节剂、转录因子、受体、蛋白 (连接蛋白、防御/免疫蛋白、贮藏蛋白、转运蛋白、载体蛋白等)、酶 (氧化还原酶、丙酮酸激酶、水解酶、异构酶等) 等物质的参与。

2.7 体外验证试验

为了验证气滞胃痛颗粒对上述靶标的作用, 本研究选取 COX-2 为研究示例, 研究气滞胃痛颗粒对

表 2 气滞胃痛颗粒治疗炎症疼痛的直接作用靶点相关拓扑参数

Table 2 Directly related topological parameters of Qizhi Weitong Granules in treatment of inflammatory pain

Uniprot ID	蛋白名称	directed	degree	betweenness	closeness
P35354	COX-2	1	132	0.007 156 50	0.322 175 66
P35228	iNOS	1	124	0.064 387 90	0.313 456 72
P37231	PPARG	1	119	0.023 007 60	0.317 942 43
P07477	PRSS1	1	116	0.015 361 69	0.297 536 63
P00734	F2	1	107	0.017 507 53	0.290 346 67
Q16539	MAPK 14	1	104	0.018 342 87	0.293 614 74
P23219	COX-1	1	95	0.009 337 66	0.291 434 63
P04637	TP53	1	63	0.140 760 69	0.303 472 64
P06400	RB1	1	41	0.064 383 49	0.274 270 03
P35968	VEGFR-2	1	33	0.010 346 81	0.247 466 79
P06213	INSR	1	18	0.029 443 22	0.301 840 15
P04150	KDR	1	18	0.016 411 87	0.248 249 38
P15692	VEGFA	1	14	0.015 096 52	0.266 230 62
P00533	EGFR	1	11	0.046 552 25	0.282 955 72
P05412	JUN	1	9	0.017 761 46	0.296 386 19
P05067	APP	1	7	0.024 547 55	0.258 831 84
P01375	TNF	1	7	0.040 754 09	0.270 889 82
P05231	IL6	1	7	0.009 725 60	0.261 231 28
P13500	CCL2	1	6	0.073 657 07	0.263 442 31
P16581	SELE	1	6	0.012 739 80	0.263 107 44
Q9Y6K9	IKBKG	0	24	0.025 857 73	0.245 416 31
Q9Y4K3	TRAF6	0	22	0.028 297 95	0.234 228 47
P35222	CTNNA1	0	22	0.032 653 01	0.235 786 31
P19838	NFKB1	0	21	0.012 886 87	0.216 808 05
Q04206	RELA	0	19	0.013 986 09	0.218 142 12
P25963	NFKBIA	0	18	0.017 827 52	0.239 694 66
O15111	CHUK	0	17	0.015 775 27	0.237 416 29
O14920	IKBKB	0	16	0.013 655 51	0.261 045 13
P31749	AKT1	0	15	0.017 158 07	0.275 025 03
Q99558	MAP3K14	0	13	0.012 757 65	0.233 342 44
Q16665	HIF1A	0	12	0.012 725 53	0.220 460 13
P09874	PARP1	0	11	0.020 830 55	0.243 626 69
P25445	FAS	0	11	0.071 557 13	0.277 571 66
P19438	TNFRSF1A	0	10	0.007 757 38	0.232 053 14
P24385	CCND1	0	10	0.019 757 18	0.285 825 75
Q99759	MAP3K3	0	9	0.015 595 29	0.224 876 77
O15350	CCL2	0	9	0.003 872 72	0.224 057 08
P41182	BCL6	0	8	0.012 787 17	0.235 634 65
Q86WV6	TMEM173	0	8	0.004 972 70	0.233 187 81
Q13936	CACNA1C	0	7	0.012 704 04	0.221 307 87
Q5S007	LRRK2	0	6	0.003 893 21	0.230 833 86
P17947	SPI1	0	6	0.007 349 21	0.218 315 45
Q13546	RIPK1	0	6	0.022 294 11	0.238 498 26
P46531	NOTCH1	0	5	0.010 021 73	0.232 937 69

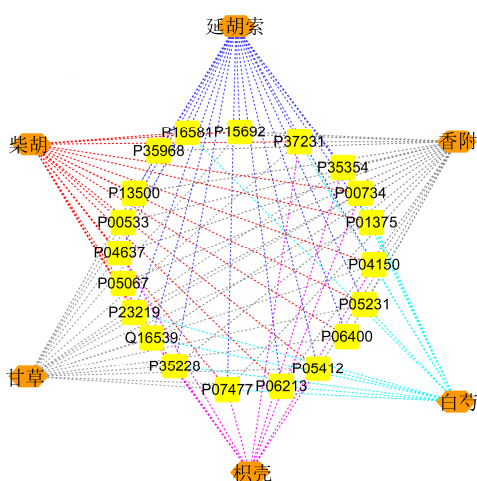


图 3 气滞胃痛颗粒中药物与其抗炎镇痛直接作用靶点的关系
Fig. 3 Relationship between drugs in Qizhi Weitong Granules and their direct anti-inflammatory and analgesic targets

COX-2 抑制效果。并选取单体化合物槲皮素、小檗碱和芍药苷为例研究单体对 COX-2 的抑制效果。结果如图 4 所示, 该结果显示, 气滞胃痛颗粒和 3 个单体化合物对 COX-2 酶活力都具有显著的抑制作用, 且在不同浓度范围之内具有明显剂量依赖关系, 但半数抑制浓度 (IC_{50}) 不同, 气滞胃痛颗粒 IC_{50} 为 $7 \mu\text{g/mL}$, 槲皮素 IC_{50} 为 $1 \mu\text{g/mL}$, 小檗碱 IC_{50} 为 $6 \mu\text{g/mL}$, 芍药苷 IC_{50} 为 $50 \mu\text{g/mL}$ 。

3 讨论

气滞胃痛颗粒临床广泛用于治疗中医学和西医学胃痛。胃病是我国常见的胃肠道疾病, 由于社会竞争及饮食结构的变化和影响, 当今社会胃病在人群中发病率高达 80%。胃痛又称之为胃脘痛, 是以胃脘部或近心窝处出现疼痛为主症的病证。由于肝郁气滞引起的胸痞胀满、胃脘疼痛属于中医学胃痛范畴; 急性胃炎、慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠

表 3 生物过程富集分析结果

Table 3 Bioprocess enrichment analysis results

	GO 富集	数量	P	FDR
生物过程	positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	13	2.92×10^{-5}	2.67×10^{-4}
	positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade	8	2.59×10^{-5}	1.10×10^{-5}
	positive regulation of nitric oxide biosynthetic process	7	1.40×10^{-7}	3.60×10^{-5}
	angiogenesis	5	3.95×10^{-6}	5.06×10^{-4}
	positive regulation of protein phosphorylation	6	2.44×10^{-7}	4.69×10^{-4}
	positive regulation of smooth muscle cell proliferation	5	4.44×10^{-7}	4.43×10^{-4}
	cellular response to lipopolysaccharide	5	6.97×10^{-6}	7.64×10^{-4}
	positive regulation of DNA replication	4	1.37×10^{-4}	1.32×10^{-3}
	positive regulation of transcription, DNA-templated	7	1.46×10^{-4}	1.33×10^{-3}
	regulation of cellshape	5	1.63×10^{-5}	1.25×10^{-3}
	inflammatory response	6	5.11×10^{-5}	3.57×10^{-3}
	positive regulation of endothelial cell proliferation	4	6.14×10^{-5}	3.93×10^{-3}
	cellular response to drug	4	6.14×10^{-5}	3.93×10^{-3}
	ras protein signal transduction	4	6.41×10^{-5}	3.78×10^{-3}
	vascular endothelial growth factor receptor signaling pathway	4	6.97×10^{-5}	3.82×10^{-3}
	positive regulation of protein kinase b signaling	4	1.10×10^{-4}	5.65×10^{-3}
	positive regulation of cell proliferation	6	1.36×10^{-4}	6.50×10^{-3}
	monocyte differentiation	3	1.63×10^{-4}	7.36×10^{-3}
	positive regulation of gene expression	5	1.87×10^{-4}	7.94×10^{-3}
	response to oxidative stress	4	2.46×10^{-4}	9.89×10^{-3}
分子功能	enzyme binding	8	1.23×10^{-6}	1.73×10^{-3}
	identical protein binding	6	1.03×10^{-3}	3.57×10^{-9}
	protein phosphatase binding	5	3.60×10^{-3}	1.76×10^{-3}
	receptor signaling protein tyrosine kinase activity	2	4.37×10^{-4}	3.90×10^{-3}
细胞组成	membrane raft	5	4.27×10^{-5}	9.42×10^{-3}

表 4 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛主要作用靶标的 Pathway 富集分析

Table 4 Pathway enrichment analysis of main targets of anti-inflammatory and analgesic effects of Qizhi Weitong Granules

KEGG_Pathway	数量	P	FDR
TNF signaling pathway	11	2.61×10^{-7}	4.57×10^{-5}
pathways in cancer	9	3.33×10^{-6}	1.65×10^{-5}
Chagas disease (American trypanosomiasis)	6	6.90×10^{-6}	3.01×10^{-7}
HIF-1 signaling pathway	7	1.25×10^{-3}	1.06×10^{-3}
proteoglycans in cancer	6	1.61×10^{-3}	1.24×10^{-3}
influenza A	6	8.34×10^{-5}	1.56×10^{-3}
hepatitis B	5	5.64×10^{-4}	5.27×10^{-3}
VEGF signaling pathway	6	5.74×10^{-4}	4.99×10^{-3}
pancreatic cancer	4	6.91×10^{-4}	5.65×10^{-3}
bladder cancer	4	1.76×10^{-3}	1.20×10^{-3}
malaria	4	3.00×10^{-4}	2.46×10^{-3}
cytokine-cytokine receptor interaction	6	3.10×10^{-4}	2.28×10^{-3}
NOD-like receptor signaling pathway	5	4.23×10^{-4}	5.16×10^{-3}
leishmaniasis	6	3.53×10^{-5}	1.34×10^{-3}
pertussis	5	4.39×10^{-5}	0.15×10^{-3}
rheumatoid arthritis	5	8.23×10^{-5}	1.79×10^{-3}

表 5 气滞胃痛颗粒抗炎镇痛靶点的蛋白质类型

Table 5 Protein types of anti-inflammatory and analgesic targets of Qizhi Weitong Granules

Uniprot ID	蛋白质类型	Uniprot ID	蛋白质类型
P35354	oxidoreductase	Q9Y4K3	signaling molecule
P35228	null	P19838	transcription factor、nucleic acid binding
P00734	protease、hydrolase	Q04206	transcription factor、nucleic acid binding
P07477	protease、hydrolase	P25963	enzyme modulator、hydrolase
Q16539	transferase、kinase	O15111	transferase、kinase
P23219	oxidoreductase	O14920	transferase、kinase
P04637	transcription factor	Q99558	null
P06400	transcription factor、nucleic acid binding	Q16665	transcription factor、nucleic acid binding
P35968	null	P09874	ligase、nucleic acid binding
P00533	null	P25445	receptor
P05412	transcription factor、nucleic acid binding	P19438	receptor
P06213	null	P24385	enzyme modulator
P15692	signaling molecule	Q99759	null
P05067	signaling molecule	O15350	transcription factor
P01375	signaling molecule	P41182	transcription factor、nucleic acid binding
P05231	signaling molecule	Q86WV6	null
P13500	signaling molecule	Q13936	transporter
P16581	null	Q13546	transferase、kinase
Q9Y6K9	null	Q5S007	transferase、kinase
P35222	cell adhesion molecule、storage protein、cytoskeletal protein、signaling molecule	P17947	transcription factor、signaling molecule、nucleic acid binding
P37231	transcription factor、receptor、nucleic acid binding	P04150	transcription factor、receptor、nucleic acid binding
P31749	transfer/carrier protein、transferase、calcium-binding protein、kinase	P46531	defense/immunity protein、signaling molecule、receptor

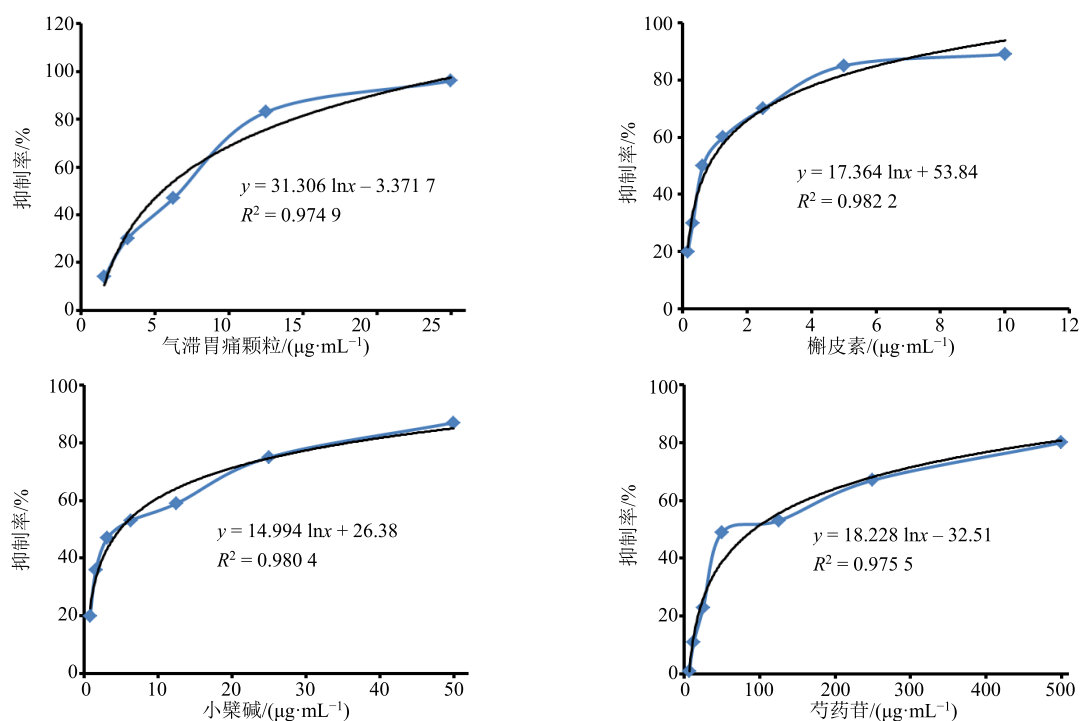


图 4 气滞胃痛颗粒成药和单体化合物抑制 COX-2 活性的剂量-效应曲线

Fig. 4 Dose-effect curve of Qizhi Weitong Granules and monomeric compounds inhibiting COX-2 activity

溃疡、功能性消化不良、胃黏膜脱垂等病以上腹部疼痛为主要症状者，属于西医学胃痛范畴。对于慢性胃炎和胃神经官能症方面西医没有特别行之有效的方法，而中医在治疗胃痛方面具有临床症状改善明显，疗效肯定的优势。炎症疼痛^[20]是具有血管系统的活体组织对损伤因子所发生的复杂防御反应，机体许多成分参与炎症疼痛反应过程，主要包括白细胞、血浆蛋白、血管壁细胞、结缔组织细胞、细胞外基质和炎症疼痛介质等。气滞胃痛颗粒临床上主要用于治疗慢性胃炎和胃溃疡的病理性炎症疼痛，说明其既能抑制外周神经末梢传导而减轻疼痛，又能抑制继发的炎症反应所导致的炎症疼痛，临床应用非常广泛。

气滞胃痛颗粒以疏肝为正法，通过君臣佐使配伍关系达到疗效。本方在四逆散的基础上加延胡索、香附和血理气，治疗胁痛，寒热往来，专以疏肝为目的。用柴胡、枳壳、香附理气为主，白芍、延胡索和血为佐，再用甘草以缓之，系疏肝的正法。方中柴胡入肝胆经，升发阳气，疏肝解郁，透邪外出，为君药。白芍敛阴，养血柔肝，为臣药，与柴胡合用，以补养肝血，条达肝气，可使柴胡升散而无耗伤阴血之弊。香附，疏肝解郁，行气止痛，与柴胡

配伍，增强其理气之效。佐以枳壳理气解郁，泄热破结，与柴胡为伍，一升一降，增舒畅气之功，并奏升降降浊之效；与白芍相配，又能理气和血，使气血调和。延胡索活血行气止痛，与香附配伍，增加其行气止痛功效。甘草调和诸药，益脾和中；与白芍配伍，则酸甘化阴，缓急止痛，为佐使药。四药配伍，共奏透邪解郁、疏肝理脾之效，调和肝脾。

利用网络药理学方法从整体上构建气滞胃痛颗粒抗炎镇痛的药物-疾病-靶点网络，结合中药配伍理论分析的结果，可以发现气滞胃痛颗粒的抗炎镇痛作用机制并非单一针对某条通路或某个作用靶点进行调控，而是可能通过多靶点复杂通路的共同干预起效，体现了诸药配伍，协同增效的理论。气滞胃痛颗粒 147 个化学成分，交互作用于疼痛相关的靶点 184 个、直接靶点 20 个，作用机制主要与 TNF 信号通路、NOD 样受体信号通路、VEGF 信号通路等 16 个通路有关。根据作用的靶点进一步分析气滞胃痛颗粒全方药物组成，发现方中 iNOS、PPARG、F2、PRSS1、MAPK14、PTGS1、JUN、KDR、COX-1、PPARG 等靶点与促进血小板的活化和聚集，血管收缩和平滑肌细胞的增殖有关，体现在柴胡、香附和枳壳解痉止痛的作用，也与白芍和延胡索的活血作

用相呼应。MAPK14、F2 等靶点在机体免疫过程中发挥保护作用,体现在白芍和甘草增强免疫调和诸药的作用。因此,通过网络药理学的分析,可以进一步分析气滞胃痛颗粒的现代医学内涵,并能够进一步解析中医配伍理论的精髓。

环加氧酶(COX)是花生四烯酸代谢途径的重要作用酶,其可以催化花生四烯酸转化为前列腺素类物质。目前发现 COX 有 2 种 COX-1 和 COX-2 同工酶。COX-2 是一种膜结合蛋白^[21]。研究证实,COX-2 一般在正常组织较少表达,它主要在单核细胞、血管内皮细胞、滑膜成纤维细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞等一些与炎症有密切关系的细胞或组织上表达^[22]。生理状态下绝大部分组织细胞不表达 COX-2;而在一些疾病状态下,如炎症、肿瘤等受外来病原体刺激、破坏诱导后,COX-2 参与和加重炎症反应,且其表达水平与炎症的严重程度相关,参与多种病理生理过程^[23-24]。临床及实验研究已证明 COX-2 及相关信号通路在胃部疾病的发生、发展过程中扮演重要角色^[25]。而且胃黏膜 COX-2 的表达水平影响胃炎和胃癌变化^[26]。因此,COX-2 可能是气滞胃痛颗粒治疗炎症/疼痛的重要靶标之一。

本研究针对上述分析中部分单体成分以及成药对 COX-2 的抑制活性开展了进一步分析,根据文献报道槲皮素、小檗碱、芍药苷 3 种化合物对 COX-2 的表达均有显著影响^[27-29],而单体化合物的体外试验亦证实 3 种单体确实对 COX-2 有抑制作用,且具有较为明显的剂量依赖关系,且从 IC₅₀ 来看,上述单体成分及成药抑制 COX-2 效果表现为槲皮素>小檗碱>气滞胃痛颗粒>芍药苷,其中,《中国药典》检测成分芍药苷活性显著低于其他 2 个成分及全方,提示目前药典检测的指标性成分对于表征成药的整体生物活性代表性不足,建议应适当增加其他高活性成分作为检测指标,或采用指纹图谱、化学特征图谱的方式进行整体控制。

本研究本研究从网络药理学角度说明气滞胃痛颗粒前期相关研究的结果具有可靠性,但由于单纯从数据角度分析,也存在一定的不足,对于气滞胃痛颗粒的抗炎镇痛作用机制还需后期实验研究的进一步验证,从而更加系统科学地阐述气滞胃痛颗粒的抗炎镇痛作用机制。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 孙方圆. 气滞胃痛颗粒治疗功能性消化不良的脑肠轴

机制研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2017.

- [3] 于婷, 王帅, 孟宪生, 包永睿, 等. 气滞胃痛颗粒防治反流性胃炎的药效及作用机制初步研究 [J]. 中药材, 2015, 38(9): 1933-1936.
- [4] 姚东, 孟宪生, 潘英, 等. 气滞胃痛颗粒镇痛作用研究及机制初探 [J]. 中成药, 2012, 34(3): 556-558.
- [5] 陈亚双, 孙世伟. 柴胡的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 黑龙江医药, 2014, 27(3): 630-633.
- [6] 李岩. 白芍及其化学成分的药理研究进展 [J]. 职业与健康, 2015, 31(15): 2153-2156.
- [7] 曹玫, 张洪, 张晓燕, 等. 香附的药理活性作用研究进展 [J]. 药物流行病学杂志, 2010, 19(2): 111-113.
- [8] 王红, 田明, 王淼, 等. 延胡索现代药理及临床研究进展 [J]. 中医药学报, 2010, 38(6): 108-111.
- [9] 章斌, 金剑, 金芝贵, 等. 枳壳的药理作用与临床应用进展 [J]. 医药导报, 2013, 32(11): 1462-1464.
- [10] 高雪岩, 王文全, 魏胜利, 等. 甘草及其活性成分的药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2695-2700.
- [11] 欧阳罗丹, 胡小松, 牛明, 等. 基于网络药理学的水蛭活血化瘀的作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(9): 1901-1906.
- [12] 柴煊, 孟雅坤, 柏兆方, 等. 基于生物靶标网络分析的山豆根抗乙肝病毒的作用机制初步研究 [J]. 药学报, 2018, 53(3): 396-402.
- [13] Sheng S, Wang J, Wang L, et al. Network pharmacology analyses of the antithrombotic pharmacological mechanism of Fufang Xueshuantong Capsule with experimental support using disseminated intravascular coagulation rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 154(3): 735-744.
- [14] Li H Y, Zhao L H, Zhang B, et al. A network pharmacology approach to determine active compounds and action mechanisms of ge-gen-qinlian decoction for treatment of type 2 diabetes [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2014, 2014(1): 495840.
- [15] 严诗楷, 赵静, 窦圣姍, 等. 基于系统生物学与网络生物学的现代中药复方研究体系 [J]. 中国天然药物, 2009, 7(4): 249-259.
- [16] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学-中医药现代化的新机遇 [J]. 药学报, 2012, 26(1): 4-9.
- [17] 李梢. 网络靶标: 中药方剂网络药理学研究的一个切入点 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2017-2020.
- [18] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6(1): 13.
- [19] Xenarios I, Rice D W, Salwinski L, et al. DIP: The database of interacting proteins [J]. *Nucleic Acids Res*,

- 2000, 32(1): 289-291.
- [20] 李 毅, 王 忠, 周思凤. 中医辨证治疗脾胃气虚型胃痛的疗效观察 [J]. 中医临床研究, 2017, 9(3): 135-136.
- [21] 毛近隆, 李晓宇, 孙 蓉. 环氧合酶 (COX-2) 抑制剂提高心血管安全性的抗炎机制探讨 [J]. 中国中药杂志, 2014, (20): 4054-4059.
- [22] 吴 检, 黄 键. 环氧合酶-2 及其在炎症痛中表达的调节 [J]. 海峡药学, 2010, 22(9): 205-208.
- [23] Kunsch C, Medford R M. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature [J]. *Circ Res*, 1999, 85(8): 753-766.
- [24] Grendling K K, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD (P) H oxidase: Role in cardiovascular biology and diseases [J]. *Circ Res*, 2000, 86(5): 494-501.
- [25] 夏琳生, 查安生. 中医药对慢性萎缩性胃炎 COX-2 及相关信号通路的干预研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2015, 23(11): 828-830.
- [26] 沈 洁, 马娅梅. COX-2 及 c-met 蛋白在疣状胃炎与胃癌中的表达及其意义 [J]. 广州医科大学学报, 2014, 30(5): 102-104.
- [27] 吴 柯, 杨俊霞, 周岐新. 小檗碱对实验性大鼠结肠癌的防治作用与环氧化酶 2 关系的研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2768-2773.
- [28] 孟德胜, 汪仕良. 槲皮素对烫伤大鼠肠黏膜 PGE2 代谢的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(10): 1202-1204.
- [29] 冯仲锴, 孙永强, 刘汝银. 芍药苷对大鼠脊髓损伤的神经保护机制 [J]. 免疫学杂志, 2016, 32(5): 376-381.