

基于网络药理学和分子对接探究芍药汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制

卢爱妮, 王德龙, 赵 芳, 陈瑞杰, 陈薇乔, 郑红斌, 季旭明*

浙江中医药大学基础医学院, 浙江 杭州 310053

摘要: **目的** 利用网络药理学和分子对接技术, 研究芍药汤治疗溃疡性结肠炎(UC)的物质基础及其可能的作用机制。**方法** 利用 TCMIP 和 TCMSP 数据库挖掘芍药汤潜在活性成分及其药物靶点, 通过 GeneCard 和 OMIM 数据库筛选疾病靶点。将药物靶点与疾病靶点匹配所得交集靶点导入 String 构建 PPI 网络, 借助 Cyto NCA 插件筛选关键靶点, 将关键靶点与对应成分联系起来绘制网络图, 筛选关键成分; 对关键靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析。利用 SYBYL-X 2.0 软件对关键成分和关键靶点进行分子对接。体内复制大鼠 UC 模型, 芍药汤干预后, 观察疾病活动指数, 评估结肠病理损伤, ELISA 检测肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 4 (IL-4)、趋化因子受体 4 (CXCR4) 的水平。**结果** 芍药汤的潜在活性成分共有 424 个, 关键成分包括槲皮素、棕榈酸、儿茶素、原花青素等; 其治疗 UC 的关键靶点 41 个, 靶点主要涉及转录的正调控、凋亡过程的负调控、信号转导等生物学过程, 通过 TNF、缺氧诱导因子 1 (HIF-1)、癌症途径、Toll 样受体 (TLR)、PI3K-Akt 等信号通路发挥治疗 UC 的作用。分子对接结果显示关键成分与对应靶点具有较好的结合活性。体内实验验证, 芍药汤可改善结肠病理损伤, 下调 TNF- α 和 CXCR4, 上调 IL-4 表达。**结论** 芍药汤治疗 UC 具有“多组分-多靶点-多通路”的作用特点, 该研究为进一步深入研究其作用机制奠定了基础。

关键词: 芍药汤; 溃疡性结肠炎; 网络药理学; 分子对接; 体内实验; 槲皮素; 棕榈酸; 儿茶素; 原花青素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)23-6035-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.23.016

Mechanism of Shaoyao Decoction in treatment of ulcerative colitis based on network pharmacology and molecular docking technology

LU Ai-ni, WANG De-long, ZHAO Fang, CHEN Rui-jie, CHEN Wei-qiao, ZHENG Hong-bin, JI Xu-ming

School of Basic Medical Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective Network pharmacology and molecular docking technology were used to study the material basis and possible mechanism of Shaoyao Decoction in treatment of ulcerative colitis (UC). **Methods** TCMSP and TCMID were used to obtain the potential active components and drug targets of Shaoyao Decoction. GeneCard and OMIM were used to search disease targets. The common targets obtained by matching drug targets and disease targets were imported into String to construct a PPI network, and Cyto NCA plug-in was used to screen key targets. The network diagram was drawn by connecting the key targets with the corresponding components, so as to screen the key components. GO and KEGG enrichment analyses were performed on key targets. SYBYL-X2.0 software was used to dock the molecules of the key components with the key targets. The rat UC model was replicated *in vivo*. After the intervention of Shaoyao Decoction, the disease activity index was observed, the colonic pathological damage was evaluated, and the levels of TNF- α , IL-4 and CXCR4 were detected by ELISA. **Results** A total of 424 potential active components were found in Shaoyao Decoction. The key components included quercetin, palmitic acid, catechin, and procyanidins, etc. Its 41 key targets for UC were mainly related to the positive regulation of transcription, the negative regulation of apoptosis process, the signal transduction, and other biological processes. The key targets played a role in treating UC through signaling pathways such as TNF, HIF-1, cancer pathway, TLR, PI3K-Akt, et al. Molecular docking results showed that key components had good binding activity with corresponding targets. Shaoyao Decoction improved colon pathological damage, down-regulated the level of TNF- α and CXCR4, and up-regulated the level of IL-4 *in vivo*. **Conclusion** Shaoyao Decoction has the characteristics of “multi-components, multi-targets, multi-pathways” in treatment of UC, which lays a foundation for further study of its mechanism.

Key words: Shaoyao Decoction; ulcerative colitis; network pharmacology; molecular docking; *in vivo* experiment; quercetin; palmitic acid; catechin; procyanidins

收稿日期: 2020-02-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573871); 浙江省中医药科技计划项目 (2020ZB061)

作者简介: 卢爱妮, 女, 硕士, 研究方向为中医药方剂学。Tel: 18272270218 E-mail: 1455901952@qq.com

*通信作者 季旭明, 女, 博士生导师。Tel: 13793171451 E-mail: jixuming724@163.com

溃疡性结肠炎 (Ulcerative colitis, UC) 是一种以腹泻、便血为特征的位于直肠至结肠段黏膜和黏膜下层的慢性炎症性肠病^[1]。其发病机制复杂,与遗传易感性^[2]、环境因素、生活方式^[3]、肠道菌群失调^[4]、免疫紊乱^[5]等密切相关。截至 2017 年,我国 UC 患病率高达 0.011 6%^[6-7],而现代医学尚无特殊治疗药物^[8]。由于其反复发作,迁延不愈,严重影响患者的工作和生活,因此开发有效的防治药物刻不容缓。

传统医学中本无 UC 病名的记载,但根据 UC 的临床症状,可将其归属于“痢疾”“便血”“大肠泄”等范畴。中医认为“大肠湿热”为其主要病因病机,故治疗上多以“清热燥湿”为主^[9-10]。芍药汤为一首主治湿热痢疾的经典名方,由刘完素创于《素问病机气宜保命集》,具有调气和血、清热燥湿的功效^[11],被广泛用于 UC 的治疗^[12-13],且疗效确切。然而,对于芍药汤治疗 UC 的作用机制尚不明确。网络药理学通过数据挖掘,系统的对复杂药物进行研究,能够揭示中药复方与疾病之间的关联性,为深入探究其药效物质基础与分子机制提供科学参考。因此,本研究通过网络药理学初筛,以及实验验证,探讨芍药汤治疗 UC 的物质基础和分子机制,为临床与实验研究提供思路和依据。

1 材料与方法

1.1 芍药汤活性成分及其靶点

利用 TCMIP (<http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php/Home/Login/login.html>) 和 TCMSP (<http://tcmispw.com/tcmisp.php>) 数据库获取芍药汤中 9 种药物的所有成分。其中,TCMIP 通过限定相似性分数 ≥ 0.8 来筛选化合物,而 TCMSP 通过设定药动学 (ADME) 参数^[14] [口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18]、人结肠腺癌 Caco-2 细胞渗透性 ≥ -0.4]来筛选化合物,所筛选的化合物即为活性成分,应用 Cytoscape 3.7.2 绘制中药-活性成分网络图。通过 TCMIP 和 TCMSP 获取活性成分对应的药物靶点,将结果导入 Unitprot (<http://www.Unitprot.org/>) 转化为统一的基因名,限定基因来源为人源性。

1.2 UC 疾病靶点筛选

通过 GeneCard (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM (<https://www.omim.org/>) 数据库得到与 UC 相关的疾病靶点,并与芍药汤的药物靶点相匹配获取交集靶点。利用 Cytoscape 3.7.2 软件将结果可视化,并构建芍药汤活性成分-交集靶点网络图。

1.3 PPI 网络构建

将交集靶点导入 String (<http://string-db.org/cgi/input.pl>) 数据库,构建蛋白质-蛋白质相互作用网络 (PPI),将结果导入 Cytoscape 3.7.2,借助 Cyto NCA 插件中的 Degree、Betweenness、Closeness、Eigenvector、LAC、Network 等参数筛选节点,将连接度大于等于 2 倍中值的节点确定为关键靶点。将关键靶点对应的化合物联系起来,导入 Cytoscape 3.7.2 作图,根据度值筛选,得到芍药汤治疗 UC 的关键成分。

1.4 GO 和 KEGG 分析

将关键靶点导入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库进行 GO 和 KEGG 富集分析,获取关键靶点的生物学信息,并分析芍药汤治疗 UC 的可能作用机制。

1.5 分子对接

将 PPI 网络中排名前 10 的关键成分分别与对应的关键靶点进行分子对接,以验证成分-靶点之间的可能性。从 RCSB PDB 数据库和 PubChem 数据库获取靶点与成分的三维结构和化学结构,利用 SYBYL-X 2.0 软件中的 Surflex-Dock 对接程序对上述结构进行对接,获得 Total Score 分值。

1.6 体内实验

1.6.1 实验动物 SPF 级 SD 大鼠 60 只,体质量 (200 $\pm$ 20) g,实验动物许可证号: SYXK (浙) 2019-0024,常规饲养于浙江中医药大学动物实验中心。

1.6.2 药物 芍药汤组成: 生白芍 30 g、当归 15 g、黄连 15 g、黄芩 15 g、大黄 9 g、槟榔 6 g、木香 6 g、肉桂 5 g、甘草 6 g (购于浙江中医药大学中医门诊部)。生药煎剂为 2 g/mL 为高剂量组、稀释 1 倍,1 g/mL 为中剂量组、稀释 2 倍,0.5 g/mL 为低剂量组。美沙拉嗪缓释颗粒 (0.5 g/袋,批号 190310,上海爱的发制药有限公司) 于研钵中研成粉末,蒸馏水配制成 0.04 g/mL 的混悬液。

1.6.3 主要试剂和仪器 2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS, 5%水溶液, Sigma, 货号 P2297); 无水乙醇 (双林化工, 货号 200773); 肿瘤坏死因子 α (TNF- α , 酶免, 货号 MM-0180R2)、白细胞介素 4 (IL-4, 酶免, 货号 MM-0191R2)、趋化因子受体 4 (CXCR4, 酶联, 货号 ml038254) ELISA 试剂盒; M200 pro 多功能酶标仪 (Tecan)。

1.6.4 造模及分组 参照文献方法^[15],以 5% TNBS 0.09 mL+无水乙醇 0.06 mL 灌肠复制 UC 大鼠模型。造模成功后,随机分为对照组、模型组及芍药

汤低、中、高剂量组和美沙拉嗪组，10 只/组。各组给药干预，对照组和模型组分别 ig 等剂量的生理盐水。给药量为 10 mL/kg，按人体表面积^[16]计算，芍药汤低、中、高剂量组分别 ig 5、10、20 g/kg 芍药汤。美沙拉嗪组 ig 0.4 g/kg 美沙拉嗪混悬液。干预 1 周。

1.6.5 疾病活动指数 (DAI)^[17] 每日观察并记录大鼠体质量、大便性状和大便隐血情况，见表 1，计算 DAI。

$$DAI = (\text{体质量下降率} + \text{大便性状得分} + \text{大便隐血得分}) / 3$$

表 1 疾病活动指数评分

Table 1 Disease activity index score

分数	大便性状	隐血	体质量下降率/%
0	正常	阴性 (-)	0
1			1~5
2	稀便	阳性 (+)	5~10
3			10~15
4	水样便	肉眼血便	>15

1.6.6 标本采集 末次给药后，麻醉大鼠，腹主动脉取血，析出血清分装，-80 ℃ 保存备用。剪取距肛门 8 cm 处结肠，迅速投于组织固定液中浸泡，24 h 后进行石蜡包埋及 HE 染色。

1.6.7 病理观察 结肠组织石蜡包埋，切片，HE 染色后，光学显微镜下观察各组结肠组织的病理变化。

1.6.8 TNF-α、IL-4、CXCR4 水平测定 严格按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 TNF-α、IL-4、CXCR4 的水平。于酶标仪 450 nm 处测定吸光度 (A) 值，绘制标准曲线，根据 A 值计算各组 TNF-α、IL-

4、CXCR4 含量。

1.6.9 统计学方法 采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 8 软件进行分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间均数差异性比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 芍药汤活性成分及其靶点

通过 TCMIP 和 TCMSP 数据库的挖掘，删除重复项后，共得到 1 180 个化合物。经过筛选，最终得到 424 个活性成分。利用 TCMIP 和 TCMSP 数据库共获得 805 个药物靶点，见表 2。利用 Cytoscape 3.7.2 绘制中药-活性成分网络图，见图 1。

2.2 芍药汤活性成分-交集靶点网络图

通过 GnenCard 和 OMIM 数据库共获得 4 453 个疾病靶点。将这些靶点与药物潜在靶点进行匹配后，共得到 207 个交集靶点。利用 Cytoscape 3.7.2

表 2 芍药汤“中药-化合物-活性成分-潜在靶点”信息

Table 2 Information of “Chinese medicine-compound-active component-potential target” for Shaoyao Decoction

中药	化合物/个	活性成分/个	潜在靶点/个
白芍	127	47	424
大黄	157	84	225
黄连	58	17	151
黄芩	178	68	340
槟榔	72	26	282
当归	167	38	333
肉桂	110	11	60
木香	130	31	260
甘草	334	141	311

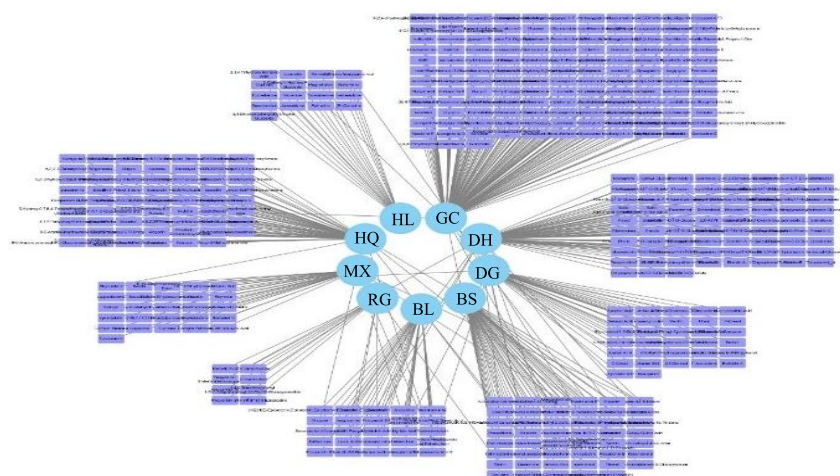


图 1 中药-活性成分网络图

Fig. 1 Chinese medicine-active component network

软件绘制芍药汤活性成分-交集靶点网络图,见图2。从图中可见,芍药汤治疗 UC 是通过“多药物-多成分-多靶点”相互作用实现的。

2.3 PPI 网络构建与分析

将 207 个交集靶点导入 String 数据库,构建 PPI,共得到 207 个节点,2 502 条边,将结果导入 Cytoscape 进行筛选后,共得到 41 个关键靶点,如图 3 所示,这些靶点可视为芍药汤治疗 UC 的关键

靶点。将这 41 个靶点对应化合物进行网络构建,如图 4 所示,根据度值筛选前 10 味成分为槲皮素(querعتin)、棕榈酸(palmitic acid)、儿茶素(catechin)、原花青素 B2(procyanidin B2)、原花青素 B1(procyanidin B1)、山柰酚(kaempferol)、谷甾醇(sitosterol)、原花青素 B3(procyanidin B3)、肉豆蔻酸(myristic Acid)、亚油酸(linoleic acid),这些成分可能为芍药汤治疗 UC 的主要成分。

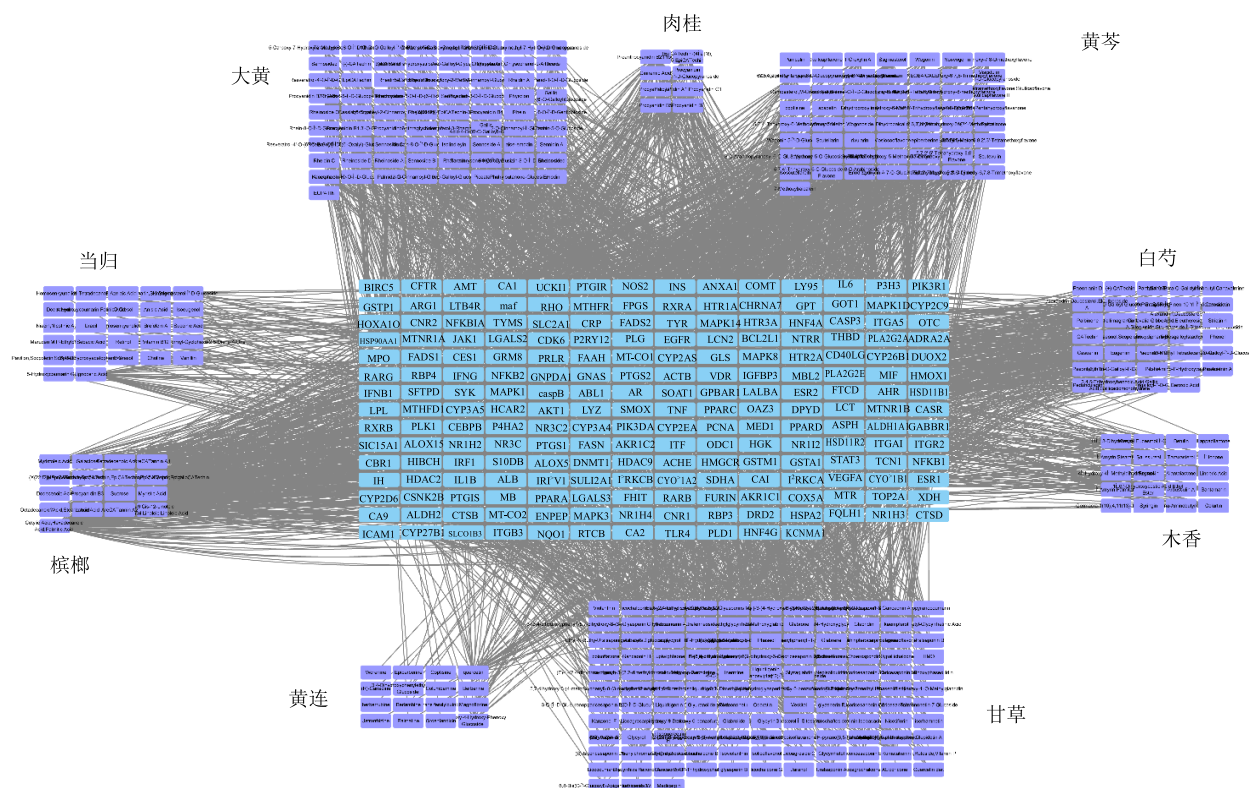


图 2 芍药汤活性成分-交集靶点网络图

Fig. 2 Active component-common target network of Shaoyao Decoction

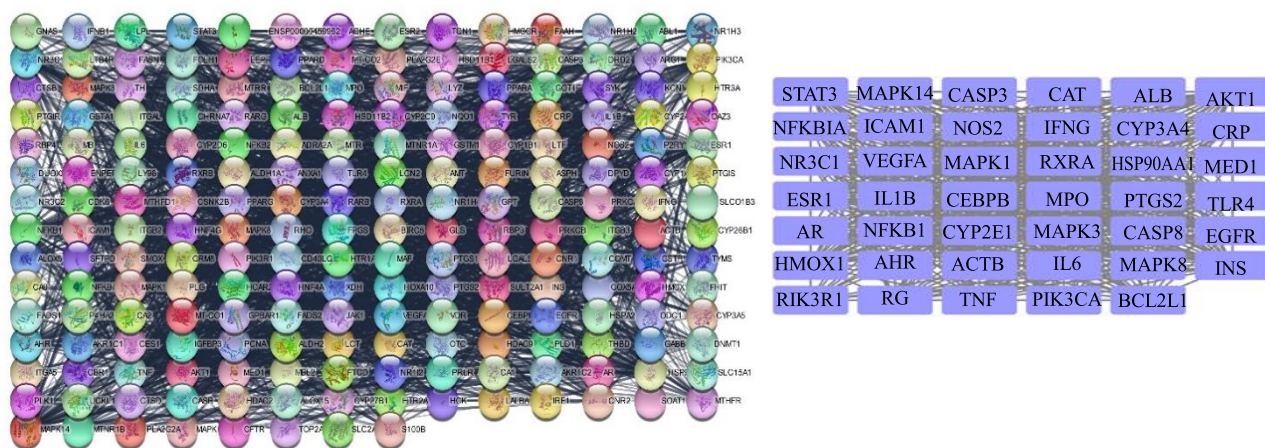


图 3 PPI 网络及网络筛选

Fig. 3 PPI network and PPI network screening chart

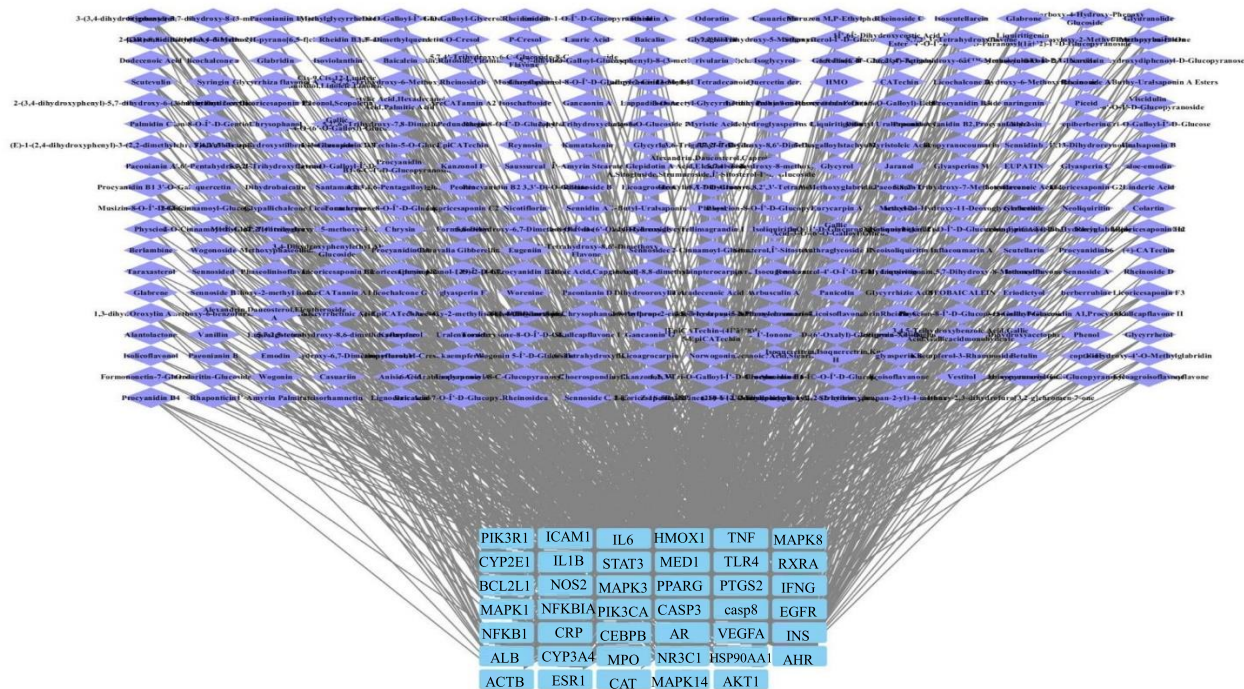


图 4 筛选靶点-成分网络图

Fig. 4 Screening target-component network chart

2.4 GO 分析

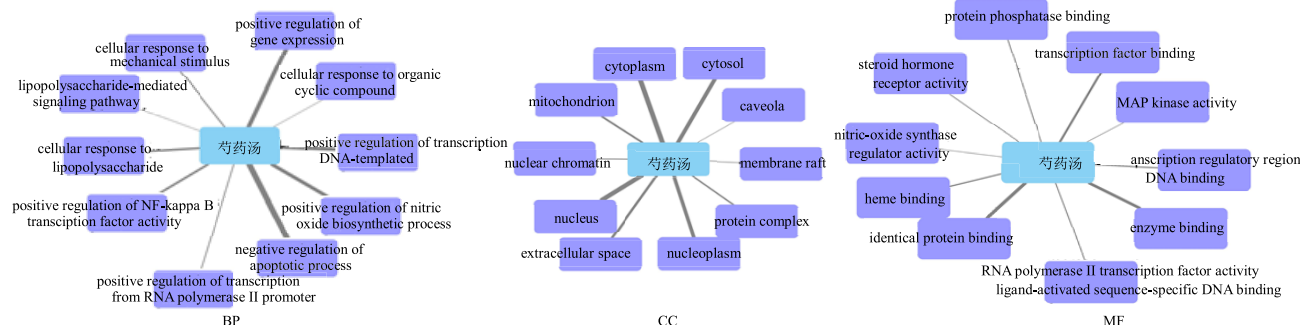
利用 DAVID 对芍药汤治疗 UC 的 41 个关键靶点进行 GO 分析, 通过设定 $P < 0.05$ 的指标, 选取排名前 10 项, 见图 5。芍药汤主要通过细胞质、细胞核、胞质溶胶、胞外间隙、线粒体等细胞组分参与 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、凋亡过程的负调控、基因表达的正调控、一氧化氮生物合成过程的正调控、转录的正调控 (DNA 模板)、细胞对内毒素的反应、NF- κ B 转录因子活性的正调控等生物学过程, 发挥酶结合、相同蛋白质结合、转录因子结合等分子功能, 从而起到治疗 UC 的作用。

2.5 KEGG 通路分析

将 41 个关键靶点导入 DAVID 数据库进行 KEGG 通路分析, 共得到 103 条通路, 通过设定 $P < 0.05$ 的指标, 选取前 40 条通路, 见图 6。如图显示, 这些关键靶点主要富集在 TNF、HIF-1、癌症途径、TLR、NOD、FoxO、T 细胞受体、PI3K-Akt、VEGF、Fc ϵ RI、鞘脂、Ras、NF- κ B 等信号通路。

2.6 分子对接结果

利用 Surflex-Dock 对接程序对 PPI 网络中排名前 10 的关键成分与相应关键靶点进行分子对接后, 得到 Total Score 分值, 如表 3 所示。通常 Total Score



BP 代表生物学过程 CC 代表细胞组分 MF 代表分子功能

BP- stands for biological process CC- stands for cellular component MF- stands for molecular function

图 5 芍药汤的生物学过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF) 分析

Fig. 5 Analysis of biological process (BP), cellular component (CC) and molecular function (MF) of Shaoyao Decoction

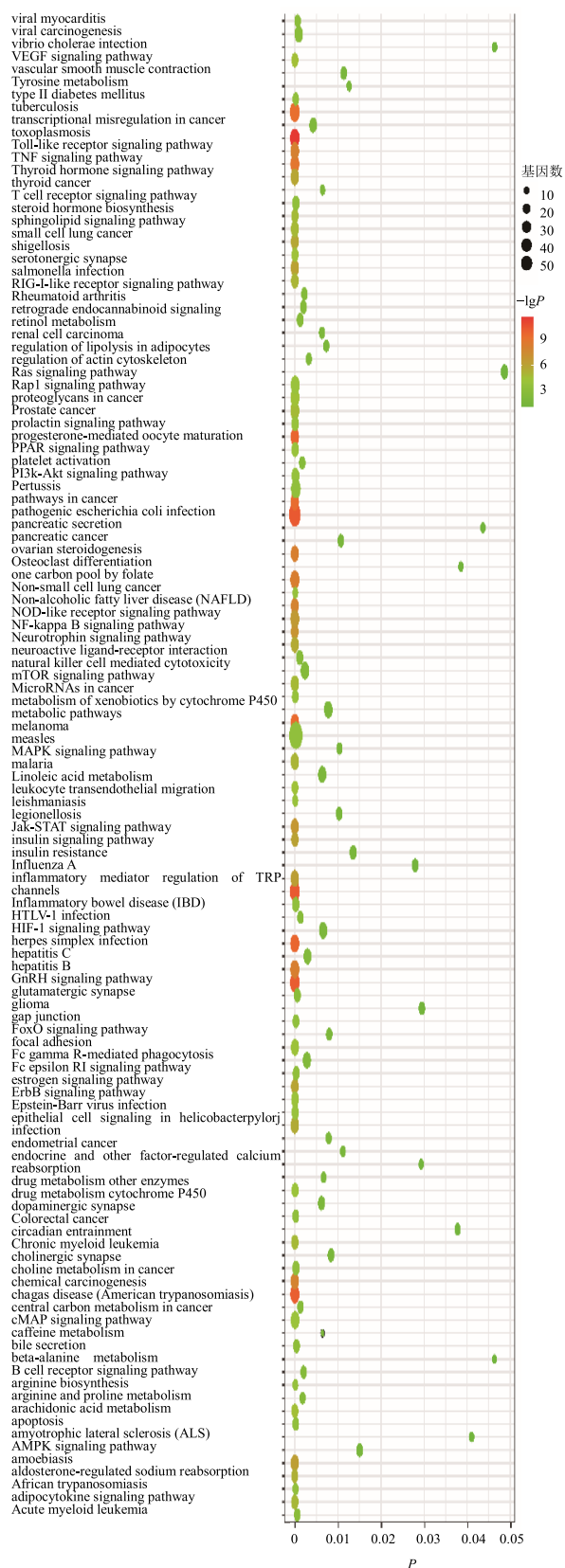


图 6 芍药汤作用靶点的 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of targets of Shaoyao Decoction

表 3 关键成分与相应关键靶点分子对接结果

Table 3 Molecular docking result of key components and corresponding key targets

成分	靶点	PDB ID	Total Score
槲皮素	MPO	5MFA	7.11
	IFNG	1FG9	5.49
	CRP	3PVN	5.64
	PPARG	3E00	5.40
	ICAM1	5MZA	9.91
	VEGFA	4ZFF	5.17
	AR	1R4I	6.32
棕榈酸	TNF	2AZ5	5.60
	INS	1JK8	8.13
	PPARG	3E00	6.63
	PTGS2	5F19	6.05
	RXRA	2NLL	6.91
儿茶素	TLR4	2Z65	7.75
	AHR	5NJ8	5.99
	AKT1	1UNQ	4.59
	ESR1	1HCQ	6.41
原花青素 B2	HSP90AA1	3Q6N	5.26
	AHR	5NJ8	9.11
原花青素 B1	HSP90AA1	3Q6N	4.72
	AHR	5NJ8	7.46
山柰酚	HSP90AA1	3Q6N	3.44
	AKT1	1UNQ	6.09
谷甾醇	ESR1	1HCQ	5.35
	AR	1R4I	5.50
原花青素 B3	ESR1	1HCQ	5.68
	AHR	5NJ8	8.61
肉豆蔻酸	HSP90AA1	3Q6N	6.16
	INS	1JK8	5.89
亚油酸	PPARG	3E00	5.17
	PTGS2	5F19	5.35
	RXRA	2NLL	6.56
	TLR4	2Z65	7.53
	INS	1JK8	7.51
	PPARG	3E00	7.38
	PTGS2	5F19	7.40
	RXRA	2NLL	6.76
	TLR4	2Z65	8.05

分值越大,表示配体与靶蛋白受体结合越稳定,当分值大于 5 时说明分子与靶点有较好的结合活性,分值大于 7 则说明分子与靶点的结合构型具有强烈的活性^[18-19]。表中 91.9% 的对接分值大于 5,表明这

10 种成分与靶点结合性能好,能在一定程度上验证成分-靶点之间的结合活性。其中槲皮素(quercetin)与 ICAM1 结合性最好(图 7),从图中可看出槲皮素与 ICAM1 相互作用,结合后呈现稳定状态。

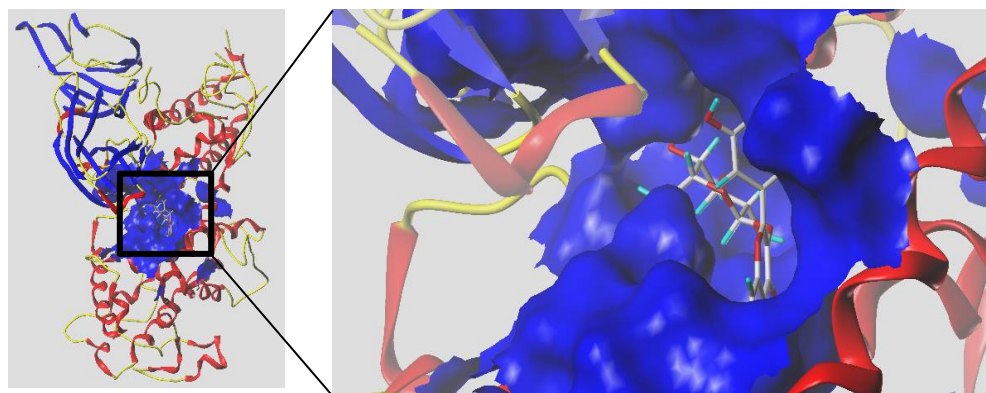


图 7 槲皮素与 ICAM1 的分子对接图

Fig. 7 Molecular docking of quercetin and ICAM1

2.7 芍药汤对 DAI 的影响

与对照组相比,模型组中 DAI 显著升高 ($P < 0.001$),症状表现明显;与模型组相比,芍药汤能够显著降低 DAI ($P < 0.001$),改善症状,结果见图 8。

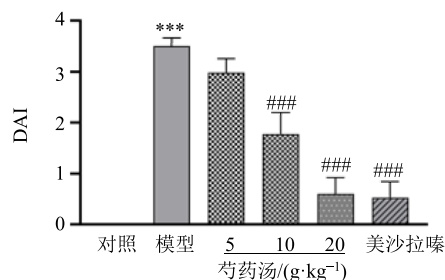
2.8 芍药汤对结肠病理损伤的影响

光学显微镜下观察发现,对照组中结肠黏膜完整,无增生水肿,无杯状细胞破坏,无炎性细胞浸润。与对照组相比,模型组见大量腺体破坏,明显的炎性细胞浸润。对模型组相比,芍药汤低、中、高剂量和美沙拉嗪干预后,可显著减少炎性浸润及腺体破坏,其中,芍药汤高剂量组效果优于其他组,表明芍药汤能明显改善 UC 病理损伤,见图 9。

2.9 芍药汤对血清细胞因子表达水平的影响

与对照组相比,模型组中 TNF- α 、CXCR4 表达显著升高 ($P < 0.001$),而 IL-4 表达显著降低 ($P <$

0.001)。与模型组相比,芍药汤可显著降低 TNF- α 、CXCR4 表达 ($P < 0.01$ 、0.001),显著上调 IL-4 表达 ($P < 0.001$),其中以芍药汤高剂量组作用最明显,见图 10。



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$
*** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ vs model group

图 8 芍药汤对 DAI 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 8 Effects of Shaoyao Decoction on DAI ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

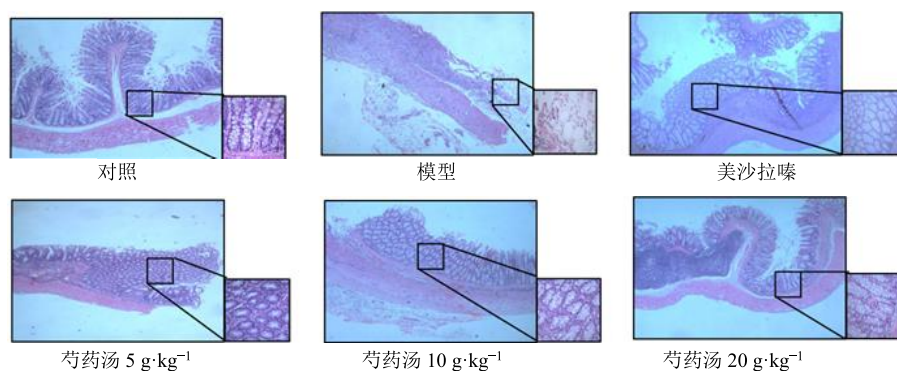
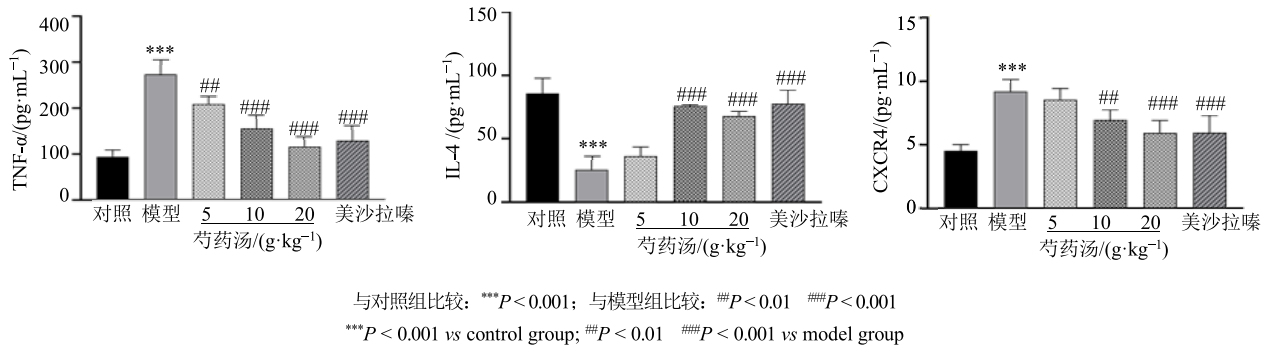


图 9 芍药汤对结肠病理损伤的影响 ($\times 40$)

Fig. 9 Effects of Shaoyao Decoction on colonic pathological damage ($\times 40$)

图 10 芍药汤对 TNF- α 、IL-4、CXCR4 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 10 Effects of Shaoyao Decoction on expression levels of TNF- α , IL-4 and CXCR4 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

3 讨论

目前,药物治疗仍是 UC 治疗的主要措施,其目的在于控制肠道炎症和改善免疫紊乱^[20-21]。然而,随着抗炎药物和免疫抑制剂如皮质类固醇、氨基水杨酸和抗 TNF- α 抗体等在临床中的大量应用,其不良反应日渐突出^[22]。中医药在肠病的治疗中积累了不少行之有效的方药^[23-26]。其中,芍药汤作为治疗湿热痢疾的经典名方被广泛用于 UC 的治疗^[27-29]。然而,中药的复杂性对其作用机制的研究造成一定困难。系统药理学是由 Hopkins^[30]提出的一个新概念,最初应用于复杂化合物药物的研发,它使人们对药物的内在机制有了更好的理解。近年来,系统药理学被广泛用于研究传统中药方剂,为作用机制的研究提供了新方法和思路^[31]。

本研究通过网络数据库筛选,最终获得 424 个活性成分和 805 个药物靶点。药物靶点与疾病靶点匹配后得到 207 个交集靶点,通过构建 PPI 网络并借助 Cyto NCA 插件中的参数筛选出 41 个关键靶点,包括 IL6、TNF、ICAM1、TLR4、STAT3、MAPK 等。对 41 个关键靶点对应的化合物构建网络,根据度值筛选前 10 味成分为槲皮素、棕榈酸、儿茶素、原花青素 B2、原花青素 B1、山柰酚、谷甾醇、原花青素 B3、肉豆蔻酸、亚油酸。其中槲皮素具有良好的抗氧化能力,可有效抑制结肠炎性损伤^[32-33];原花青素对 UC 大鼠具有治疗作用,其机制可能是通过抑制丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 与 NF- κ B 信号转导通路来影响炎症因子^[34-35]。ICAM1 为目前研究较多的细胞间黏附分子之一,有实验表明 ICAM1 缺陷小鼠可避免 DSS 诱导的严重的结肠炎症,说明 ICAM1 可调节炎症反应^[36];MAPK 是细胞内外信号传导的重要传递者,参与了 UC 发病过程^[37-38]。以上表明芍药汤可能通过本次筛选的槲皮

素、棕榈酸、原花青素等成分作用于 ICAM1、MAPK 等靶点发挥治疗 UC 的作用,分子对接也验证了以上筛选的化合物和靶点之间确有结合活性。

GO 分析表明芍药汤中活性成分可能通过细胞质、细胞核、胞质溶胶、胞外间隙、线粒体等细胞组分参与 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、凋亡过程的负调控、基因表达的正调控、一氧化氮生物合成过程的正调控、转录的正调控、细胞对内毒素的反应、NF- κ B 转录因子活性的正调控等生物学过程。这些结果提示芍药汤可能作用于多细胞组分产生不同生物学功能,从而发挥治疗 UC 的功效。

KEGG 富集分析表明芍药汤治疗 UC 的 41 个关键靶点主要参与 TNF、HIF-1、癌症途径、TLR、NOD、FoxO、T 细胞受体、PI3K-Akt、VEGF、鞘脂、Ras、NF- κ B 等信号通路。TNF- α 为重要的促炎因子,本研究通过体内实验发现,芍药汤干预后,大鼠结肠组织病理损伤减轻,TNF- α 水平显著降低,而 IL-4 水平显著升高,说明芍药汤可能通过 TNF 信号通路抑制 TNF- α 的生成,从而减轻结肠炎症。此外,CXCR4 为重要的趋化因子受体,其下游包含 MAPK、PI3K/Akt、NF- κ B 和 JAK/STAT 信号通路^[39],芍药汤可显著降低 CXCR4 表达水平,从而推测其可能通过抑制 CXCR4 介导的一系列信号通路,发挥调控炎症的作用。NF- κ B 是一种经典的转录因子,它调节控制细胞凋亡、增殖、细胞应激反应、免疫和炎症反应的基因转录^[40],而 PI3K/Akt 为 NF- κ B 的上游通路,通过靶向 PI3K/Akt 信号通路,能够调控免疫和炎症反应,在葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的结肠炎模型中发挥关键作用^[41-42],如氧化苦参碱通过抑制 PI3K/Akt 信号通路,减少 Th1 和 Th17 细胞分化,促进炎症细胞和免疫细胞凋亡,发挥免疫调节、促凋亡、抗炎等作用,以改善 UC 肠道病理

表现^[43]。此外, JAK 抑制剂被证明能有效治疗 UC, JAK/STAT 通路参与了 UC 的疾病过程^[44]。以上结果表明, 芍药汤可能通过活性成分作用于 IL6、TNF、TLR4、AKT1、STAT 等关键靶点, 激活或抑制 TNF、TLR、PI3K/Akt、NF- κ B 等相关通路, 产生抑制炎症、调节免疫、改善黏膜屏障等功效, 从而发挥治疗作用。

综上所述, 本研究利用网络药理学对芍药汤治疗 UC 的活性成分、关键靶点及可能的作用机制进行分析, 揭示了芍药汤是以“多组分-多靶点-多通路”的方式发挥治疗作用; 并通过分子对接验证了化合物与靶点之间的结合活性; 体内实验证实了芍药汤治疗 UC 的有效性, 并分析了可能作用机制。

参考文献

- [1] Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(18): 1713-25.
- [2] De Lange K M, Moutsianas L, Lee J C, *et al*. Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(2): 256-261.
- [3] Piovani D, Danese S, Peyrin-Biroulet L, *et al*. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: An umbrella review of meta-analyses [J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(3): 647-659.
- [4] Franzosa E A, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, *et al*. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(2): 293-305.
- [5] Neurath M F. Cytokines in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(5): 329-342.
- [6] Mak W Y, Zhao M, Ng S C, *et al*. The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets West [J]. *J Gastroen Hepatol*, 2019, 35(3): 380-389.
- [7] 吕兰婷, 王丽娟. 中国溃疡性结肠炎干预的卫生经济学评价研究进展 [J]. *中国药物经济学*, 2019, 14(1): 113-120.
- [8] Beaugerie L, Kirchgesner J. Balancing benefit vs risk of immunosuppressive therapy for individual patients with inflammatory bowel diseases [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2019, 17(3): 370-379.
- [9] 刘启鸿, 黄文彬, 骆云丰, 等. 溃疡性结肠炎当重湿热 [J]. *陕西中医药大学学报*, 2018, 41(6): 13-16.
- [10] 张越, 李廷荃. 李廷荃教授从“湿热”论治溃疡性结肠炎经验总结 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(26): 208.
- [11] 宋乃光. 刘完素医学全书 [M]. 北京: 中国中医药出版

社, 2006.

- [12] 李荣. 芍药汤加味保留灌肠治疗慢性溃疡性结肠炎的疗效及预后的影响分析 [J]. *四川中医*, 2019, 37(9): 95-98.
- [13] 丁洪汇. 芍药汤变方配合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎湿热内蕴型的疗效分析 [J]. *中国中医药科技*, 2019, 26(5): 744-745.
- [14] Shi X Q, Yue S J, Tang Y P, *et al*. A network pharmacology approach to investigate the blood enriching mechanism of Danggui buxue Decoction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 235: 227-242.
- [15] 贾雪燕, 李舒, 张红, 等. 5% TNBS 与乙醇不同剂量配伍优化大鼠 UC 模型的探索 [J]. *陕西中医*, 2016, 37(7): 926-928.
- [16] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [17] Murthy S N, Cooper H S, Shim H, *et al*. Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin [J]. *Dig Dis Sci*, 1993, 38(9): 1722-1734.
- [18] 邓桂珠, 林捷欣, 吴纯伟, 等. 复方脑脉通治疗缺血性脑中风多靶点作用的分子对接 [J]. *中成药*, 2016, 38(8): 1673-1678.
- [19] 樊启猛, 杨岩涛, 肖美凤, 等. 基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(17): 4200-4208.
- [20] van Gennep S, Konté K, Meijer B, *et al*. Systematic review with meta-analysis: Risk factors for thiopurine-induced leukopenia in IBD [J]. *Aliment Pharm Ther*, 2019, 50(5): 484-506.
- [21] Neurath M F. Current and emerging therapeutic targets for IBD [J]. *Nat Rev Gastro Hepat*, 2017, 14(5): 269-78.
- [22] Pazmandi J, Kalinichenko A, Ardy R C, *et al*. Early-onset inflammatory bowel disease as a model disease to identify key regulators of immune homeostasis mechanisms [J]. *Immunol Rev*, 2019, 287(1): 162-185.
- [23] Zhang Z, Shen P, Xie W, *et al*. Pingwei San ameliorates dextran sulfate sodium-induced chronic colitis in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 236: 91-99.
- [24] Chen M, Tang T C, Wang Y, *et al*. Randomised clinical trial: Tong-Xie-Yao-Fang granules versus placebo for patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Aliment Pharm Ther*, 2018, 48(2): 160-168.
- [25] Gong S S, Fan Y H, Wang S Y, *et al*. Mucosa repair mechanisms of Tong-Xie-Yao-Fang mediated by CRH-R2 in murine, dextran sulfate sodium-induced colitis [J]. *World J Gastroentero*, 2018, 24(16): 1766-1778.

- [26] Jeon Y J, Lee J S, Cho Y R, *et al.* Banha-sasim-tang improves gastrointestinal function in loperamide-induced functional dyspepsia mouse model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 238: 111834.
- [27] 瓦会芬, 漆成军. 芍药汤加减联合常规西药治疗溃疡性结肠炎患者的临床效果 [J]. 中国肛肠病杂志, 2019, 39(5): 77.
- [28] 陈建林, 陈锦锋, 韩宇斌, 等. 芍药汤保留灌肠对湿热型溃疡性结肠炎患者炎症因子的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2018, 26(11): 938-940.
- [29] 刘颖. 加味芍药汤联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的疗效及对患者镜下黏膜病变的影响 [J]. 临床医学工程, 2015, 22(1): 61-62.
- [30] Hopkins A L. Network pharmacology [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10): 1110-1111.
- [31] 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.
- [32] Sotnikova R, Nosalova V, Navarova J. Efficacy of quercetin derivatives in prevention of ulcerative colitis in rats [J]. *Interdiscip Toxicol*, 2013, 6(1): 9-12.
- [33] 董丽华. 叉分蓼抗溃疡性结肠炎的物质基础与作用机制研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2019.
- [34] 王艳红, 葛斌, 杨社华, 等. 葡萄籽原花青素对复发性结肠炎大鼠结肠组织中细胞因子的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(16): 1453-1456.
- [35] 王艳红. 葡萄籽原花青素治疗大鼠复发性溃疡性结肠炎的作用及其机理研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2010.
- [36] Bendjelloul F, Rossmann P, Malý P, *et al.* Detection of ICAM-1 in experimentally induced colitis of ICAM-1-deficient and wild-type mice: an immunohistochemical study [J]. *Histochem J*, 2000, 32(12): 703-9.
- [37] 许雅清, 李海龙, 邱家权, 等. 痛泻二草方对肝郁脾虚型溃疡性结肠炎大鼠相关基因的影响 [J]. 中医临床研究, 2016, 8(8): 3-7.
- [38] 杨强, 钦丹萍, 杨新艳, 等. Fas/FasL、p38 MAPK 通路在溃疡性结肠炎大鼠中的表达及雷公藤多苷的作用 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(2): 218-223.
- [39] 何映红, 李彦林, 向耀宇, 等. SDF-1/CXCR4 及下游信号通路在骨性关节炎病程中的作用 [J]. 实用医学杂志, 2019, 35(22): 3563-3567.
- [40] Perkins N D. Integrating cell-signalling pathways with NF- κ B and IKK function [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1): 49-62.
- [41] Wu X F, Xu R, Ouyang Z J, *et al.* Beauvericin ameliorates experimental colitis by inhibiting activated T cells via downregulation of the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83013.
- [42] Kim H, Banerjee N, Barnes R C, *et al.* Mango polyphenolics reduce inflammation in intestinal colitis-involvement of the miR-126/PI3K/AKT/mTOR axis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mol Carcinogen*, 2017, 56(1): 197-207.
- [43] Chen Q, Duan X, Fan H, *et al.* Oxymatrine protects against DSS-induced colitis via inhibiting the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 53: 149-157.
- [44] Coskun M, Salem M, Pedersen J, *et al.* Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *Pharmacol Res*, 2013, 76: 1-8.