

基于胃脑相关探讨厚朴三物汤防治急性胃溃疡大鼠的作用机制

刘芳^{1,2}, 张芮苑¹, 沈才佳¹, 付欣怡¹, 宋姚¹, 雷以理¹, 庞惠文³, 刘洋⁴, 陈晨^{2*}, 李杰^{5*}

1. 成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137

2. 澳大利亚昆士兰大学生物医学学院, 昆士兰州 布里斯班 4072

3. 澳大利亚昆士兰大学生物工程与纳米技术研究所, 昆士兰州 布里斯班 4072

4. 成都中医药大学附属第五人民医院/第二临床医学院 医学研究与转化中心, 四川 成都 611135

5. 成都中医药大学本草基因组学研究院, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 考察厚朴三物汤对乙醇诱导的急性胃溃疡大鼠的改善作用, 并从胃脑相关角度探究厚朴三物汤改善胃溃疡大鼠的作用机制。 **方法** 采用 UPLC-Q-Exactive-MS 分析厚朴三物汤中的化学成分。SD 大鼠随机分为对照组、模型组、奥美拉唑 (30 mg/kg) 组及厚朴三物汤低、中、高剂量 (4.725、9.450、18.900 g/kg) 组, 建立乙醇致胃溃疡模型, 采用苏木素-伊红 (HE) 染色观察大鼠胃黏膜损伤情况; ELISA 测定大鼠胃组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂)、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 和脑组织中 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 含量; 比色法测定大鼠胃组织超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性; 微板法测定大鼠胃组织丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 含量; 运用转录组测序 (transcriptome sequencing, RNA-Seq) 和生物信息学技术筛选厚朴三物汤中剂量组治疗胃溃疡大鼠可能干预的信号通路。 **结果** 初步鉴定出厚朴三物汤共 71 个化学成分, 包括黄酮类 26 个、鞣质类 6 个、蒽醌及蒽酮类 14 个、苯丙素类 15 个等。与模型组比较, 厚朴三物汤能在不同程度上减轻炎症、改善氧化应激和增加胃黏膜因子水平, 进而修复胃溃疡大鼠的胃黏膜损伤, 其中厚朴三物汤高剂量组效果最优, 能显著降低胃溃疡大鼠炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平 ($P < 0.001$), 增加胃黏膜保护因子 PGE₂ 和 EGF 含量 ($P < 0.01$), 升高胃溃疡大鼠胃组织中 CAT 活性和 GSH 水平 ($P < 0.01$), 降低 MDA 水平 ($P < 0.01$)。给予厚朴三物汤干预后, 胃溃疡大鼠脑组织中 5-HT 含量下降趋势均得到不同程度的逆转 ($P < 0.05$)。RNA-Seq 分析结果显示, 模型组相较于厚朴三物汤中剂量组脑组织中上调基因 113 个, 下调基因 59 个。基因本体 (gene ontology, GO) 功能分析发现厚朴三物汤治疗后差异基因主要富集在离子转运、细胞骨架与胞质膜、突触受体传递等方面。京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路分析发现厚朴三物汤治疗后主要富集在 NOD 样受体信号通路、神经活性配体-受体相互作用和人乳头瘤病毒感染等代谢通路, 说明其可能是厚朴三物汤干预胃溃疡脑神经从而改善胃黏膜损伤的重要通路。 **结论** 厚朴三物汤能明显改善胃溃疡大鼠的胃黏膜损伤, 其作用机制与胃、脑的炎症反应与代谢紊乱有关。从胃脑相关角度出发, 探索厚朴三物汤通过调节脑神经系统改善胃溃疡大鼠胃黏膜损伤的作用, 为经典名方厚朴三物汤的抗胃溃疡作用机制研究提供新思路。

关键词: 厚朴三物汤; 急性胃溃疡; 胃脑相关; 转录组学; 胃黏膜保护

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)16-5525-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.16.015

Mechanism of Houpo Sanwu Decoction on preventing and treating acute gastric ulcer in rats based on stomach-brain correlation

LIU Fang^{1, 2}, ZHANG Ruiyuan¹, SHEN Caijia¹, FU Xinyi¹, SONG Yao¹, LEI Yichen¹, PANG Huiwen³, LIU Yang⁴, CHEN Chen², LI Jie⁵

收稿日期: 2024-04-17

基金项目: 四川省自然科学基金资助项目 (2023NSFSC0661); 国家留学基金委西部地区人才培养特别项目 (202208515025)

作者简介: 刘芳 (1986—), 女, 博士, 高级实验师, 主要从事中药炮制与中药制剂研究。E-mail: bittercafe1@126.com

*通信作者: 陈晨, 男, 博士, 教授, 主要从事内分泌和代谢系统疾病研究。E-mail: chen.chen@uq.edu.au

李杰, 男, 博士, 博士后, 主要从事新型纳米递药系统、中西医药物“分子配伍”抗恶性肿瘤及新药研发、中药新制剂、新剂型与新技术研究。E-mail: kerald2lj@126.com

1. State Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resources with Southwest Characteristics, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. School of Biomedical Sciences, University of Queensland, Brisbane 4072, Australia
3. Institute for Bioengineering and Nanotechnology, University of Queensland, Brisbane 4072, Australia
4. Center for Medical Research and Translation, The Fifth People's Hospital/Second Clinical College of Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611135, China
5. Institute of Herbal Genomics, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To investigate the effect of Houpo Sanwu Decoction (厚朴三物汤) on ethanol-induced acute gastric ulcer in rats, and explore the mechanism of Houpo Sanwu Decoction on improving gastric ulcer in rats from the perspective of gastric-brain.

Methods UPLC-Q-Exactive-MS method was used to analyze the chemical components in Houpo Sanwu Decoction. SD rats were randomly divided into control group, model group, omeprazole (30 mg/kg) group, and Houpo Sanwu Decoction low-, medium-, and high-dose (4.725, 9.450, 18.900 g/kg) groups. After administration, an ethanol-induced gastric ulcer model was prepared, and the damage to the gastric mucosa of rats was observed using hematoxylin eosin (HE) staining; ELISA was used to determine the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), IL-1 β , prostaglandin E₂ (PGE₂), epidermal growth factor (EGF) in gastric tissue and 5-hydroxytryptamine (5-HT) level in brain tissue of rats; Colorimetric method was used to measure the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in gastric tissue of rats; Microplate method was used to determine the contents of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in gastric tissue of rats; Transcriptome sequencing (RNA Seq) and bioinformatics techniques were used to screen for potential intervention signaling pathways in the treatment of gastric ulcer rats with the medium-dose group of Houpo Sanwu Decoction. **Results** A total of 71 chemical components were identified in Houpo Sanwu Decoction, including 26 flavonoids, six ellagitannins, 14 anthraquinones and anthrones and 15 phenylpropanoids. Compared with model group, Houpo Sanwu Decoction could alleviate inflammation, improve oxidative stress and increase gastric mucosal factor levels to varying degrees, thereby repairing gastric mucosal damage in rats with gastric ulcer. Among them, high-dose group of Houpo Sanwu Decoction had the best effect, significantly reducing the levels of inflammatory factors TNF- α , IL-6 and IL-1 β in rats with gastric ulcer ($P < 0.001$), increasing the contents of gastric mucosal protective factors PGE₂ and EGF ($P < 0.01$), increasing CAT activity and GSH level in gastric tissue of rats with gastric ulcer ($P < 0.01$), and reducing MDA level ($P < 0.01$). After intervention with Houpo Sanwu Decoction, the decreasing trend of 5-HT content in brain tissue of rats with gastric ulcer was reversed to varying degrees ($P < 0.05$). RNA-Seq analysis results showed that there were 113 up-regulated genes and 59 down-regulated genes in brain tissue of model group compared to the medium-dose group of Houpo Sanwu Decoction. Gene ontology (GO) functional analysis revealed that after treatment with Houpo Sanwu Decoction, differentially expressed genes were mainly enriched in ion transport, cytoskeleton and cytoplasmic membrane, and synaptic receptor transport. Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis revealed that after treatment with Houpo Sanwu Decoction, it was mainly enriched in metabolic pathways such as NOD like receptor signaling pathway, neuroactive ligand receptor interaction, and human papillomavirus infection, indicating that it may be an important pathway for Houpo Sanwu Decoction to intervene in gastric ulcer brain nerves and improve gastric mucosal damage. **Conclusion** Houpo Sanwu Decoction can significantly improve gastric mucosal damage in rats with gastric ulcers, and its mechanism is related to the inflammatory response and metabolic disorders in the stomach and brain. This study explores the effect of Houpo Sanwu Decoction on improving gastric mucosal damage in rats with gastric ulcer by regulating the brain nervous system from the perspective of stomach brain related factors, providing new ideas for the study of the anti-gastric ulcer mechanism of the classic formula Houpo Sanwu Decoction.

Key words: Houpo Sanwu Decoction; acute gastric ulcer; stomach-brain correlation; transcriptomics; gastric mucosal protection

胃肠与脑之间通过神经、内分泌、免疫等多方面相互联系并进行双向反馈调节, 神经系统功能障碍可增加胃肠系统的患病率^[1], 因而改善脑神经系统功能可以防治胃肠系统疾病。胃溃疡作为一种常见的消化系统疾病, 胃黏膜破裂达黏膜肌层^[2], 影响着世界上数以百万计的人口^[3], 其主要临床表现

为周期性腹部疼痛、恶心、呕吐等, 严重时会导致胃穿孔和呕血^[4-5]。胃黏膜因子失衡导致胃黏膜防御屏障被破坏^[6], 进而引发的系列炎症和氧化应激^[7], 被认为是目前导致胃溃疡的最常见原因, 但包括脑神经行为失调在内的许多其他因素也会影响胃溃疡的严重程度^[8-9]。

中医治疗胃溃疡由来已久,将其划归于“胃脘痛”“胃痞”“嘈杂”范畴^[10],分析其与饮食不洁、情志不遂等因素相关^[11]。厚朴三物汤首载于医圣张仲景的中药典籍《金匮要略》:“痛而闭者,厚朴三物汤主之^[12],厚朴 8 两,大黄 4 两,枳实 5 枚。”方中重用厚朴,归脾、胃、大肠经,具有“燥湿消痰、下气破闭”的功效,配大黄、枳实则消气闭而痛之证,是治疗“痞满证”的经典方^[13]。现代药理学研究表明,厚朴三物汤可通过自主神经系统和迷走神经回路改善胃炎、肠梗阻、胃肠动力障碍等消化系统疾病^[14-15],提示厚朴三物汤治疗胃肠道疾病可能与脑神经系统有关,但是厚朴三物汤抗胃溃疡的作用及机制尚未明确。基于此,本研究利用乙醇诱导建立胃溃疡大鼠模型,观察厚朴三物汤干预胃溃疡大鼠后胃组织中黏膜保护因子、炎症因子和氧化应激指标水平变化,并对脑组织进行高通量 mRNA 测序,从胃脑相关角度研究厚朴三物汤治疗胃溃疡大鼠的作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 200~220 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证号 SCXK(京)2019-0010,于成都中医药大学动物实验中心动物房饲养,自由进食饮水,适应性喂养 7 d 后进行实验。动物实验经成都中医药大学实验动物福利伦理委员会审批(批准号 2023013),均符合 3R 原则。

1.2 药材

厚朴(批号 2307006)、大黄(批号 2305128)、枳实(批号 2301156)饮片购自四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学裴瑾教授鉴定符合《中国药典》2020 年版规定。

1.3 药品与试剂

奥美拉唑(批号 C15154270)购自上海麦克林生化科技有限公司;乙腈、甲醇均为色谱纯,购自成都科隆化学品有限公司;水为超纯水;其他制剂均为分析纯;对照品厚朴酚(批号 wkq20022502)、和厚朴酚(批号 wkq20022702)、大黄酸(批号 wkq21051009)、大黄素(批号 wkq22021507)、大黄酚(批号 21072011)、柚皮苷(批号 22012906)、橙皮苷(批号 22010509)、新橙皮苷(批号 22012608)购自四川省维克奇生物科技有限公司,质量分数均≥98%;大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,

TNF- α) ELISA 测定试剂盒(批号 E-EL-R2856)、大鼠白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6) ELISA 测定试剂盒(批号 E-EL-R0015)、大鼠 IL-1 β ELISA 测定试剂盒(批号 E-EL-R0012)、前列腺素 E₂(prostaglandin E₂, PGE₂) ELISA 测定试剂盒(批号 E-EL-0034)、大鼠表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF) ELISA 测定试剂盒(批号 E-EL-R0369)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT) ELISA 测定试剂盒(批号 E-EL-0033)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)比色法测试盒(批号 A001-3-2)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒(批号 A003-1-2)、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)微板法测试盒(批号 A006-2-1)、过氧化氢酶(catalase, CAT)比色法测试盒(批号 A007-1-1)购自南京建成科技有限公司。

1.4 仪器

HTP-312 型万分之一电子天平(上海花潮电器有限公司);CPA225D 型十万分之一天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司);UPK-I-107 型优普系列超纯水器(四川优普超纯科技有限公司);HB120-S 金属浴(西格玛奥德里奇上海贸易有限公司);Ministar 低温离心机(湖南恒诺仪器制造有限公司);IMS-25 型制冰机(苏州麦艾仕电器有限公司);Varioska 多功能酶标仪(美国 Thermo 公司);Tissue Iyser-48 型多样品组织研磨机(上海净信实业发展有限公司)。

2 方法

2.1 厚朴三物汤的制备与成分分析

2.1.1 厚朴三物汤的制备 根据《金匮要略》记载,将厚朴、大黄、枳实按 8:4:3 的比例混合,于 10 倍体积超纯水中浸泡 0.5 h,再煮沸 1 h,滤过;残渣再加入 10 倍体积的超纯水,煮沸 1 h,滤过。将 2 次滤液合并,浓缩。

2.1.2 厚朴三物汤的成分分析 采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Exactive-MS)对厚朴三物汤中的化学成分进行快速识别和定性鉴别。

(1) 供试品溶液的制备:精密吸取 1 mg/mL 厚朴三物汤浓缩液 1 mL,加入 75%甲醇溶液,定容至 50 mL 量瓶中,称定质量。80 °C 水浴热浸 30 min,每隔 15 min 摇匀 1 次,冷却至室温后用纯甲醇补足所失质量。所得供试品溶液经 0.22 μ m 滤膜滤过,

备用^[16]。

(2) 对照品溶液的制备: 分别取厚朴酚、和厚朴酚、大黄酸、大黄素、大黄酚、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷对照品适量, 精密称定, 加入 75% 甲醇使其溶解, 经 0.22 μm 滤膜滤过, 制成质量浓度为 1.25 mg/mL 的混合对照品溶液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏备用。

(3) 色谱条件: Acclaim RSLC 120 C_{18} 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 2.2 μm); 流动相为甲醇 (A) - 0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~5 min, 3%~21% A; 5~20 min, 21%~36% A; 20~32 min, 36%~50% A; 32~42 min, 50%~62% A; 42~50 min, 62%~85% A; 50~60 min, 85%~95% A; 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 1 μL 。

(4) 质谱条件: 采用电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子模式检测扫描模式, 电喷雾电压为 3.0 kV, 鞘气体积流量为 35 arb; 辅助气体积流量为 10 arb; 毛细管温度为 320 $^{\circ}\text{C}$; 二级质谱采用的扫描模式为 Full MS/dd-MS², Full MS 分辨率为 70 000, dd-MS² 分辨率为 17 500, 扫描范围 m/z 50~1 500。

(5) 数据处理与质谱解析: 采用 UPLC-Q-Orbitrap-MS 对供试品溶液和对照品溶液进行定性分析, 得到正、负离子模式下的总离子流图。根据一级质谱提供的精确相对分子质量, 采用 Xcalibur 2.0 软件计算可能的分子式 (误差 5.0×10^{-6}), 将未知化合物的二级碎片离子与对照品、mzVault 2.0 质谱数据库、中药成分高分辨质谱数据库 (OTCML), Compound Discoverer 3.0 软件及文献报道提供的裂解碎片信息进行比较, 进一步确定未知化合物的分子式及结构。

2.2 动物分组、给药、造模及取材

SD 大鼠在适应性喂养 7 d 后, 随机分为对照组、模型组、奥美拉唑 (30 mg/kg) 组和厚朴三物汤低、中、高剂量 (4.725、9.450、18.900 g/kg, 以生药量计分别相当于临床等效剂量的 1、2、4 倍) 组, 每组 8 只。各给药组 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水, 1 次/d, 连续 10 d。造模前禁食不禁水 24 h, 于末次给药 2 h 后, 除对照组外, 其余大鼠 ig 无水乙醇 (7.5 mL/kg) 诱导急性胃溃疡模型, 于造模 1 h 后麻醉大鼠, 腹主动脉采血后, 立即取胃组织, 沿胃大弯剪开, 用冰生理盐水清洗干净胃黏膜表面的污物, 一部分浸泡在 4% 多聚甲醛中进行组织学观察, 另一部分保存在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中待测。在冰上迅速剥离出完整的大脑, 立即

保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中。

2.3 胃周形态观察及胃溃疡抑制率测定

采用 Image J 软件根据参考文献中的 “Guth” 标准^[17]计算溃疡指数 (溃疡面积): 点状溃疡计 1 分, 条状溃疡长度 <1 mm 计 2 分, 1~2 mm 计 3 分, 2~4 mm 计 4 分, 损伤长度 >4 mm 计 5 分, 侵蚀宽度 >2 mm 则计分翻倍。将全部计分相加, 得到总病变评分, 计算各组的评分平均值作为该组的溃疡指数。

胃溃疡抑制率 = (模型组溃疡指数 - 给药组溃疡指数) / 模型组溃疡指数^[18]

胃溃疡面积比 = 胃溃疡面积 / 胃总面积^[19]

2.4 胃组织病理学观察

取部分胃组织, 置于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 经脱水、透明、浸蜡、包埋后切片, 石蜡切片经脱蜡至水、苏木素-伊红 (HE) 染色后脱水封片, 于显微镜下观察, 采集图像分析。

2.5 胃组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量测定

取 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存的胃组织适量, 加入预冷的 PBS (0.01 mol/L, pH 7.4) 冲洗组织。称定质量, 将剪碎的组织与 9 倍体积的 PBS 充分匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测各组大鼠胃组织中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平。

2.6 胃组织 SOD、CAT 活性及 MDA、GSH 含量测定

取 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存的胃组织适量, 加入适量预冷的生理盐水充分匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、2 500 r/min 离心 10 min, 取上清, 按照试剂盒说明书检测各组大鼠胃组织中 SOD、CAT 活性及 MDA、GSH 水平。

2.7 胃组织 EGF、PGE₂ 含量测定

取 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存的胃组织适量, 加入预冷的 PBS (0.01 mol/L, pH 7.4) 冲洗组织。称定质量, 将剪碎的组织与 9 倍体积的 PBS 充分匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清, 按照试剂盒说明书检测各组大鼠胃组织中 EGF 和 PGE₂ 水平。

2.8 脑组织中 5-HT 含量测定

取 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存的脑组织适量, 加入预冷的 PBS (0.01 mol/L, pH 7.4) 冲洗组织。称定质量, 将剪碎的组织与 9 倍体积的 PBS 充分匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测各组大鼠脑组织中 5-HT 水平。

2.9 脑组织高通量 mRNA 测序

2.9.1 RNA 提取及 cDNA 文库构建 提取模型组

和厚朴三物汤中剂量组大鼠脑组织的总 RNA 后, 利用 mRNA 都带有 polyA 尾的结构特征, 通过 Oligo (dT) 磁珠富集带有 polyA 尾的 mRNA。随后在 NEB Fragmentation Buffer 中用二价阳离子将得到的 mRNA 随机打断, 以片段化的 mRNA 为模版, 随机寡核苷酸为引物, 进行一链和二链 cDNA 的合成并使用 AMPure XP beads 纯化, 纯化后的双链 cDNA 经过末端修复、加 A 尾并连接测序接头, 最后进行 PCR 扩增并再次使用 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物, 最终获得测序文库。

2.9.2 高通量测序和数据处理 库检合格后, 把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求 pooling 后进行 Illumina 测序, 通过计算机软件将光信号转化为测序峰, 获得待测片段的序列信息。测序片段被高通量测序仪测得的图像数据经 CASAVA 碱基识别转化为序列数据, 经过原始数据滤过、测序错误率检查、GC 含量分布检查, 获得后续分析使用的 clean reads; 进一步使用 HISAT2 软件将 clean reads 与参考基因组进行快速精确的比对, 获取 reads 在参考基因组上的定位信息。使用 feature counts 计算映射到每个基因的读数, 根据基因的长度计算每个基因的 FPKM, 并计算映射到该基因的读数。

2.9.3 功能注释 采用 StringTie 软件将测序的碱基集组装成转录本, 新转录本组装后在 Pfam、SUPERFAMILY、基因本体 (gene ontology, GO, <http://www.geneontology.org>)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>) 等数据库对新转录本进行比对注释。

2.9.4 差异表达基因水平分析 基因表达定量完成后, 需要对其表达数据进行统计学分析, 筛选样本在不同状态下表达水平显著差异的基因。再用 DEGseq 进行差异表达分析, 筛选阈值为 $P \leq 0.05$ 且 $|\log_2[\text{差异倍数 (fold change, FC)}]| \geq 1$ 。获得所有差异基因后, 通过 clusterProfiler 3.8.1 软件实现差异表达基因的 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。

2.10 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 IBM SPSS Statistics 25.0 软件进行数据分析。各组间差异比较采用单因素方差分析检验 (One-Way ANOVA), 两两比较, 如满足方差齐性检验, 则使用 LSD 进行结果分析。如不满足, 则使用非参数齐性检验。

3 结果

3.1 厚朴三物汤成分分析

厚朴三物汤在正、负离子模式下的总离子流图如图 1 所示。结合文献报道^[20-21], 共鉴定出 71 种化学成分, 其中有 8 种成分经对照品比对, 见表 1。包括黄酮类化合物 26 个、鞣质类化合物 6 个、蒽醌及蒽酮类化合物 14 个、含氮化合物类化合物 4 个、苯丙素类化合物 15 个、其他类化合物 6 个。

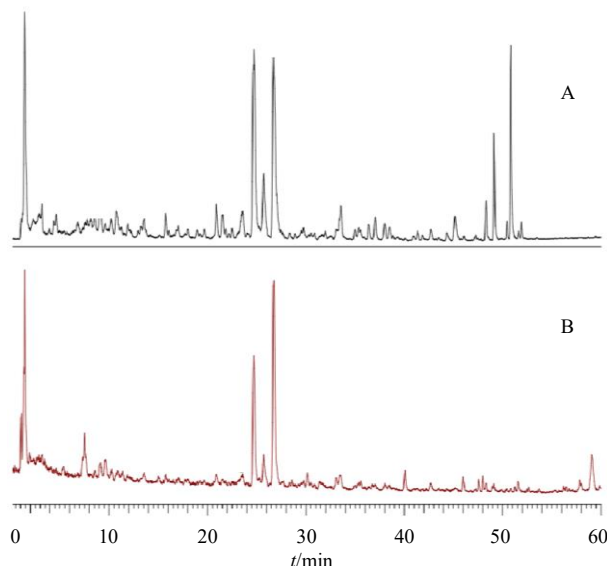


图 1 厚朴三物汤在负 (A)、正 (B) 离子模式下的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of Houpo Sanwu Decoction in negative (A) and positive (B) ion modes

3.2 厚朴三物汤治疗胃溃疡的药效作用研究

3.2.1 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织形态学的影响 实验结束后, 对各组大鼠的胃组织进行形态学观察, 如图 2 所示, 对照组大鼠胃黏膜表面完整光滑, 胃组织呈淡粉色, 有黏膜皱襞, 无充血、出血现象; 模型组大鼠胃黏膜表面存在多处不规则的长条状出血条带, 并伴有大量出血点, 呈深红色, 黏膜溃疡糜烂、损伤严重, 说明成功建立了乙醇诱导的急性胃溃疡大鼠模型; 与模型组比较, 奥美拉唑组大鼠胃黏膜表面呈少量出血性坏死与溃疡性血斑, 黏膜溃疡糜烂损伤情况有所减轻, 说明奥美拉唑作为阳性对照药物可减轻胃溃疡程度; 与模型组比较, 厚朴三物汤各剂量组大鼠胃溃疡面积有所减小, 胃黏膜损伤程度均有所降低, 且存在剂量相关性, 初步说明厚朴三物汤可缓解胃黏膜损伤与糜烂, 具有抗急性胃溃疡的作用。

表 1 厚朴三物汤 71 个化学成分质谱信息
Table 1 Mass spectrum information of 71 chemical components in Houpo Sanwu Decoction

编号	成分	分子式	<i>t</i> _R /min	离子模式	<i>m/z</i>		误差 (×10 ⁻⁶)	二级离子碎片 (<i>m/z</i>)	来源	类型
					理论值	实测值				
1	大黄素甲醚或异构体	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	42.75	[M+H] ⁺	285.075 8	285.075 2	-1.93	168.056 4, 211.075 0, 242.056 9	大黄	蒽醌/蒽酮类
2	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	6.97	[M-H] ⁻	169.014 2	169.013 6	-3.64	95.013 0, 125.023 5	大黄	鞣质类
3	橙皮苷*	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	28.15	[M+H] ⁺	611.197 1	611.196 2	-1.38	153.018 0, 195.028 6, 303.085 7, 449.142 7	枳实	黄酮类
4	橙皮素或异构体	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	26.72	[M+H] ⁺	303.086 3	303.085 6	-2.46	153.018 0, 177.054 4	枳实	黄酮类
5	柚皮素或异构体	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	24.61	[M+H] ⁺	273.075 8	273.075 4	-1.14	91.054 7, 119.049 3, 153.018 1	枳实	黄酮类
6	川陈皮素	C ₂₁ H ₂₂ O ₈	46.03	[M+H] ⁺	403.138 7	403.137 9	-2.28	327.085 9, 358.066 3, 373.091 2, 388.114 2	枳实	黄酮类
7	新橙皮苷*	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	26.62	[M-H] ⁻	609.182 5	609.182 4	-0.97	301.071 7, 403.101 0	枳实	黄酮类
8	大黄素-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷或异构体	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	38.51	[M-H] ⁻	431.098 4	431.098 2	-0.37	225.055 3, 265.051 1, 269.045 6, 293.045 8	大黄	蒽醌/蒽酮类
9	异橙黄酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	42.05	[M+H] ⁺	373.128 2	373.127 3	-2.30	153.017 9, 181.013 1, 315.085 5, 358.103 7	枳实	黄酮类
10	甜橙黄酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	42.25	[M+H] ⁺	373.128 2	373.127 4	-2.22	153.018 1, 181.013 2, 315.085 7, 343.080 3	枳实	黄酮类
11	(-)-儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	9.10	[M+H] ⁺	291.086 3	291.085 8	-1.70	123.044 1, 139.038 8, 165.054 5, 207.064 9	大黄	鞣质类
				[M-H] ⁻	289.071 8	289.071 8	-0.64	109.028 5, 123.044 2, 187.039 4		
12	枸橼苷	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₄	33.42	[M-H] ⁻	593.187 6	593.186 2	-2.58	285.076 8, 473.143 6	枳实	黄酮类
13	腺苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	4.05	[M+H] ⁺	268.104 0	268.103 9	-0.58	119.035 4, 136.061 6	大黄、厚朴、枳实	含氮化合物
14	木兰箭毒碱	C ₁₉ H ₂₄ NO ₃	7.47	[M] ⁺	314.175 1	314.174 4	-2.01	107.049 4, 175.075 2, 237.090 5, 269.116 6	厚朴	含氮化合物
15	木兰花碱	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	9.69	[M] ⁺	342.170 0	342.169 4	-1.62	237.090 9, 265.085 5, 282.088 7, 297.111 8	厚朴	含氮化合物
16	5,7-二羟基香豆素或异构体	C ₉ H ₆ O ₄	11.98	[M+H] ⁺	179.033 9	179.033 7	-1.26	133.028 0, 151.038 7	枳实	苯丙素类
17	莲心季铵碱	C ₁₉ H ₂₄ NO ₃	11.47	[M] ⁺	314.175 1	314.174 4	-2.01	107.049 4, 175.075 0, 237.090 8, 269.116 7	厚朴	含氮化合物
18	圣草次苷	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	21.00	[M-H] ⁻	595.166 8	595.167 4	0.48	151.002 9, 287.055 9	枳实	黄酮类
19	圣草酚	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	20.91	[M+H] ⁺	289.070 7	289.070 2	-1.75	153.018 1, 163.038 8, 171.028 7, 271.059 8	枳实	黄酮类
20	新北美圣草苷或异构体	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	21.21	[M-H] ⁻	595.166 8	595.166 6	-0.36	151.002 9, 287.055 4, 459.114 5	枳实	黄酮类
21	橙皮素异构体	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	23.41	[M+H] ⁺	303.086 3	303.085 7	-2.06	153.018 0, 177.054 4, 285.074 4	枳实	黄酮类
22	柚皮素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷或异构体	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	20.99	[M+H] ⁺	435.128 6	435.127 4	-2.81	119.049 2, 147.043 9, 153.018 1, 273.075 2	枳实	黄酮类
				[M-H] ⁻	433.114 0	433.113 5	-1.13	151.002 9, 271.061 2		
23	橙皮素-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁	23.30	[M+H] ⁺	465.139 1	465.134 5	-10.00	153.018 1, 177.054 5, 195.028 8, 261.039 4, 303.085 8, 369.096 6	枳实	黄酮类
24	柚皮苷*	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	23.35	[M+H] ⁺	581.186 5	581.185 7	-1.40	153.018 1, 195.028 7, 273.075 4	枳实	黄酮类
				[M-H] ⁻	579.171 9	579.171 9	0.02	579.171 9, 271.061 2		
25	樱花苷	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	26.72	[M+H] ⁺	449.144 2	449.144 1	-0.21	195.028 5, 263.054 6, 303.085 5, 369.096 2, 395.112 2, 413.122 0	枳实	黄酮类
26	异樱花苷或异构体	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₀	26.91	[M+H] ⁺	449.144 2	449.142 7	-3.46	195.028 5, 263.054 4, 303.085 7, 369.096 4, 413.121 9	枳实	黄酮类

表 1 (续)

编号	成分	分子式	t_R/min	离子模式	m/z		误差 ($\times 10^{-6}$)	二级离子碎片 (m/z)	来源	类型
					理论值	实测值				
27	芹菜素	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	28.30	$[\text{M}+\text{H}]^+$	271.060 1	271.059 4	-2.53	153.018 1, 197.059 8, 243.065 6	枳实	黄酮类
28	野漆树苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	28.26	$[\text{M}+\text{H}]^+$	579.170 8	579.169 6	-1.11	271.059 5, 433.110 3	枳实	黄酮类
29	花椒毒酚	$\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_4$	29.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	203.033 9	203.033 6	-1.31	131.049 1, 147.043 9, 159.043 9	枳实	其他
				$[\text{M}-\text{H}]^-$	201.019 3	201.019 0	-1.81	117.033 7, 145.028 8, 173.023 9		
30	佛手酚	$\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_4$	29.54	$[\text{M}+\text{H}]^+$	203.033 9	203.033 6	-1.50	147.043 9, 159.043 8, 175.038 8	枳实	其他
				$[\text{M}-\text{H}]^-$	201.019 3	201.019 0	-1.67	117.033 6, 163.039 3, 173.023 7		
31	香叶木苷	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	29.63	$[\text{M}+\text{H}]^+$	609.181 4	609.180 1	-2.21	301.067 0, 463.121 0	枳实	黄酮类
				$[\text{M}-\text{H}]^-$	607.166 8	607.166 8	-0.05	284.032 6, 299.056 0		
32	异鼠李素	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$	29.68	$[\text{M}+\text{H}]^+$	317.065 6	317.065 1	-1.54	153.018 1, 179.033 7, 191.070 0	枳实	黄酮类
33	异樱花素	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$	33.37	$[\text{M}+\text{H}]^+$	287.091 4	287.090 9	-1.92	153.018 1, 161.059 6, 171.028 6	枳实	黄酮类
34	柠檬苦素	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_8$	33.09	$[\text{M}+\text{H}]^+$	471.201 3	471.200 4	-1.56	161.059 5, 339.194 2, 367.189 6, 425.194 9	枳实	其他
35	诺米林	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$	38.12	$[\text{M}+\text{H}]^+$	515.227 6	515.226 6	-1.82	161.059 5, 231.064 2, 411.215 5, 469.219 8	枳实	其他
36	黄柏酮	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_7$	42.69	$[\text{M}+\text{H}]^+$	455.206 4	455.205 3	-2.33	161.059 4, 315.138 9, 391.189 9, 409.199 9	枳实	黄酮类
37	3-羟基-3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	47.51	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.133 7	419.132 9	-1.81	371.075 8, 389.085 9, 404.109 3	枳实	黄酮类
38	3',4',3,5,6,7,8-七甲氧基黄酮	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_9$	46.68	$[\text{M}+\text{H}]^+$	433.149 3	433.148 5	-1.94	165.054 4, 403.101 6, 418.125 0	枳实	黄酮类
39	橘(桔)皮素	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	48.21	$[\text{M}+\text{H}]^+$	373.128 2	373.127 4	-2.06	211.023 3, 297.075 1, 328.057 2, 343.080 4	枳实	黄酮类
40	辣薄荷基厚朴酚	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_2$	59.98	$[\text{M}-\text{H}]^-$	401.248 6	401.248 4	0.85	247.113 2, 313.159 5, 331.170 6	厚朴	苯丙素类
41	厚朴醛 D	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$	37.81	$[\text{M}-\text{H}]^-$	253.087 0	253.086 9	0.46	225.055 3, 237.055 4	厚朴	苯丙素类
42	大黄素-O-丙二酰基-葡萄糖苷或芦荟大黄素-O-丙二酰基葡萄糖苷	$\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$	29.33	$[\text{M}-\text{H}]^-$	517.098 8	517.098 4	1.25	225.055 1, 240.042 8, 269.045 3, 311.056 1, 473.109 4	大黄	蒽醌/蒽酮类
43	决明柯酮-O-乙酰基-葡萄糖苷	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$	35.86	$[\text{M}-\text{H}]^-$	449.145 3	449.145 9	-1.94	215.034 6, 230.058 2, 245.081 8	大黄	蒽醌/蒽酮类
44	芦荟大黄素-O-乙酰基-葡萄糖苷或大黄素-O-乙酰基-葡萄糖苷	$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	36.50	$[\text{M}-\text{H}]^-$	473.108 9	473.108 8	-0.35	225.055 4, 240.042 2, 253.050 4, 269.045 6, 311.056 2	大黄	蒽醌/蒽酮类
45	大黄酸*	$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_6$	48.34	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.024 8	283.024 8	-0.11	257.045 4, 239.034 7, 211.039 6, 183.044 5	大黄	蒽醌/蒽酮类
46	大黄素*	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	51.84	$[\text{M}-\text{H}]^-$	269.045 6	269.045 7	-0.76	241.050 3, 225.055 4, 197.060 4, 182.036 6	大黄	蒽醌/蒽酮类
47	番泻苷 A	$\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{O}_{20}$	29.81	$[\text{M}-\text{H}]^-$	861.188 4	861.188 7	0.03	699.135 6, 537.084 0, 389.088 0, 227.034 6	大黄	蒽醌/蒽酮类
48	番泻苷 B	$\text{C}_{42}\text{H}_{38}\text{O}_{20}$	26.10	$[\text{M}-\text{H}]^-$	861.188 4	861.189 5	1.33	699.135 0, 537.084 2, 389.087 7	大黄	蒽醌/蒽酮类
49	番泻苷 C	$\text{C}_{42}\text{H}_{40}\text{O}_{19}$	27.01	$[\text{M}-\text{H}]^-$	847.209 1	847.208 6	-0.57	685.157 0, 418.089 4, 389.087 8	大黄	蒽醌/蒽酮类
50	番泻苷 D	$\text{C}_{42}\text{H}_{40}\text{O}_{19}$	23.59	$[\text{M}-\text{H}]^-$	847.209 1	847.209 8	0.80	685.157 8, 418.091 0, 389.088 0	大黄	蒽醌/蒽酮类
51	大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_9$	36.21	$[\text{M}-\text{H}]^-$	415.103 5	415.103 5	-0.43	277.050 8, 266.058 3, 253.050 4, 225.055 4	大黄	蒽醌/蒽酮类
52	芦荟大黄素-3-羟甲基-O- β -D-葡萄糖苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	38.51	$[\text{M}-\text{H}]^-$	431.098 4	431.098 2	-0.37	311.056 2, 269.045 6, 268.038 4	大黄	蒽醌/蒽酮类
53	没食子酸-3-O- β -D-葡萄糖苷	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$	4.01	$[\text{M}-\text{H}]^-$	331.067 1	331.067 1	0.12	169.013 6, 151.002 9, 125.023 5	大黄	鞣质类
54	没食子酸-4-O- β -D-葡萄糖苷	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_{10}$	4.60	$[\text{M}-\text{H}]^-$	331.067 1	331.067 2	0.30	169.013 6, 151.002 7, 125.023 5	大黄	鞣质类
55	1,2-双-O-没食子酰基- β -D-葡萄糖苷或 1,6-双-O-没食子酰基- β -D-葡萄糖苷	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_{14}$	9.67	$[\text{M}-\text{H}]^-$	483.078 0	483.078 1	0.12	331.067 6, 313.056 8, 271.046 1, 211.024 5, 169.013 6, 151.003 1, 125.023 6	大黄	鞣质类
56	莲花掌苷	$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$	18.99	$[\text{M}-\text{H}]^-$	477.140 2	477.141 2	2.03	313.056 8, 169.013 5	大黄	其他

表 1 (续)

编号	成分	分子式	t_R/min	离子模式	m/z		误差 ($\times 10^{-6}$)	二级离子碎片 (m/z)	来源	类型
					理论值	实测值				
57	异莲花掌苷	$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$	17.93	$[\text{M}-\text{H}]^-$	477.140 2	477.134 0	-0.59	313.056 6, 169.013 5	大黄	其他
58	表儿茶素没食子酸酯	$\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$	16.84	$[\text{M}-\text{H}]^-$	441.082 7	441.082 7	-0.65	289.071 7, 169.013 5, 125.023 5	大黄	鞣质类
59	厚朴酚*	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$	50.85	$[\text{M}-\text{H}]^-$	265.123 4	265.123 3	0.50	247.112 6, 223.075 6	厚朴	苯丙素类
60	和厚朴酚*	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2$	49.13	$[\text{M}-\text{H}]^-$	265.123 4	265.123 4	-0.19	249.091 8, 223.076 2, 197.060 2	厚朴	苯丙素类
61	木兰苷 B	$\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$	13.48	$[\text{M}-\text{H}]^-$	785.251 0	785.251 0	0.09	623.218 1, 477.161 4, 261.076 5, 161.023 6	厚朴	苯丙素类
62	木兰苷 H	$\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_{20}$	14.28	$[\text{M}-\text{H}]^-$	771.235 3	771.235 2	-0.12	609.203 5, 477.161 2, 261.077 3, 161.023 7	厚朴	苯丙素类
63	木兰苷 G	$\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_{20}$	16.17	$[\text{M}-\text{H}]^-$	771.235 3	771.235 8	0.67	609.204 3, 477.162 9, 261.076 8, 161.023 6	厚朴	苯丙素类
64	木兰苷 A	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$	15.66	$[\text{M}-\text{H}]^-$	623.198 1	623.198 1	-0.13	461.166 1, 315.108 4	厚朴	苯丙素类
65	木兰苷 L	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$	16.40	$[\text{M}-\text{H}]^-$	609.182 5	609.182 7	0.31	447.150 7, 315.108 5, 161.023 7	厚朴	苯丙素类
66	木兰苷 F	$\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$	16.89	$[\text{M}-\text{H}]^-$	785.251 0	785.251 2	0.32	623.218 8, 477.161 3, 261.078 0, 161.023 7	厚朴	苯丙素类
67	木兰苷 K	$\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{O}_{20}$	16.98	$[\text{M}-\text{H}]^-$	799.266 6	799.266 5	-0.10	623.217 9, 477.164 4, 261.077 4, 175.039 4, 161.023 7	厚朴	苯丙素类
68	木兰苷 E	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$	16.40	$[\text{M}-\text{H}]^-$	609.182 5	609.182 7	0.31	447.150 7, 315.108 5, 161.023 7	厚朴	苯丙素类
69	木兰苷 D	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$	26.84	$[\text{M}-\text{H}]^-$	623.198 1	623.198 2	0.06	461.166 5, 315.108 2, 161.023 7	厚朴	苯丙素类
70	木兰苷 M	$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$	22.53	$[\text{M}-\text{H}]^-$	623.198 1	623.198 1	-0.03	461.166 0, 315.107 7, 161.023 6	厚朴	苯丙素类
71	大黄酚*	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$	53.37	$[\text{M}-\text{H}]^-$	253.050 6	253.050 5	-0.40	225.055 5, 210.032 1, 181.065 4	大黄	蒽醌/蒽酮类

*与对照品比对后确定。
* Determine after comparing with the reference substance.

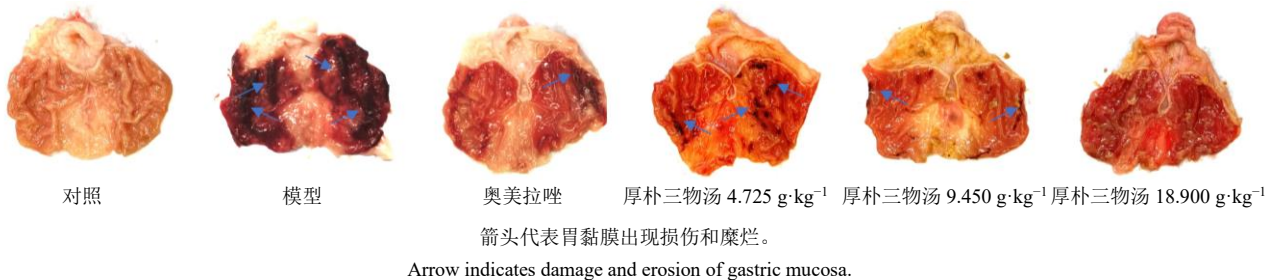


图 2 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织形态学的影响

Fig. 2 Effect of Houpo Sanwu Decoction on morphology of gastric tissue in rats with gastric ulcer

如表 2 所示, 与模型组比较, 各给药组大鼠胃溃疡面积比均显著降低 ($P<0.001$), 且呈剂量相关性。表明厚朴三物汤可以有效改善乙醇诱导的急性胃溃疡大鼠的胃黏膜出血和糜烂状况。此外, 厚朴三物汤各剂量组胃溃疡面积比低于奥美拉唑组, 且厚朴三物汤中、高剂量组胃溃疡抑制率高于奥美拉唑组, 表明与奥美拉唑相比, 厚朴三物汤对急性胃溃疡大鼠胃黏膜的保护效果较好。

3.2.2 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织病理变化的影响 如图 3 所示, 对照组大鼠胃组织表面黏膜层

表 2 各组大鼠胃溃疡面积比和溃疡抑制率 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 2 Ratio of gastric ulcer area and ulcer inhibition rate of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	胃溃疡面积比/%	胃溃疡抑制率/%
对照	—	—	—
模型	—	76.31 ± 8.44	—
奥美拉唑	0.03	$8.11 \pm 7.73^{***}$	54.10
厚朴三物汤	4.725	$5.80 \pm 5.13^{***}$	44.26
	9.450	$3.45 \pm 3.19^{***}$	57.38
	18.900	$1.30 \pm 1.49^{***}$	85.25

与模型组比较: $^{***}P<0.001$ 。
 $^{***}P<0.001$ vs model group.

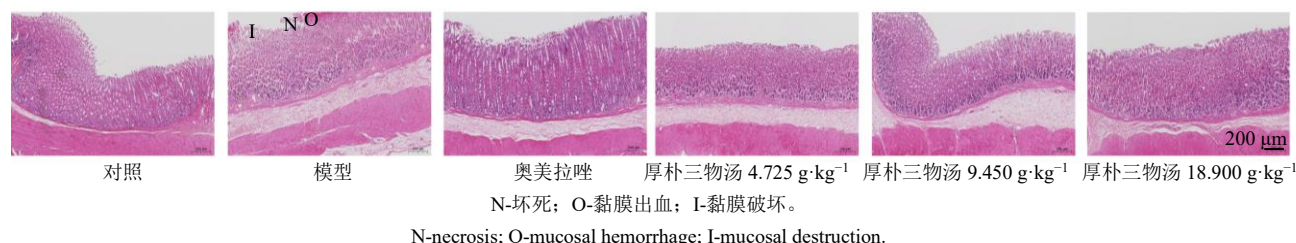


图 3 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织病理变化的影响 (HE, ×20)

Fig. 3 Effect of Houpo Sanwu Decoction on pathological changes in gastric tissue of rats with gastric ulcer (HE, × 20)

未见损伤,腺体排列规整,黏膜上皮细胞无脱落和出血。与对照组比较,模型组大鼠胃黏膜下层增厚、结构疏松,浅表黏膜上皮细胞结构不清、嗜酸变性、缺失糜烂,明显可见黏膜充血伴淋巴细胞浸润。奥美拉唑组大鼠胃组织表面上皮黏膜轻度破坏,未发现深层黏膜损伤。厚朴三物汤各剂量组大鼠胃黏膜上表皮细胞脱落及出血性损伤情况得到改善,腺体排列结构逐渐趋于规整。表明厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织具有较好的治疗效果,并且高剂量的厚朴三物汤治疗效果优于奥美拉唑。

3.2.3 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织炎症因子水平的影响 如图 4 所示,与对照组比较,模型组大鼠胃组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平均显著升高 ($P < 0.001$),提示乙醇诱导的急性胃溃疡制备成功。与模型组比较,各给药组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平均明显降低 ($P < 0.001$)。表明厚朴三物汤对胃溃疡大鼠具有良好的抗炎活性。

3.2.4 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织氧化应激指标的影响 如表 3 所示,与对照组比较,模型组大鼠胃组织中 SOD、CAT 活性及 GSH 水平显著降低

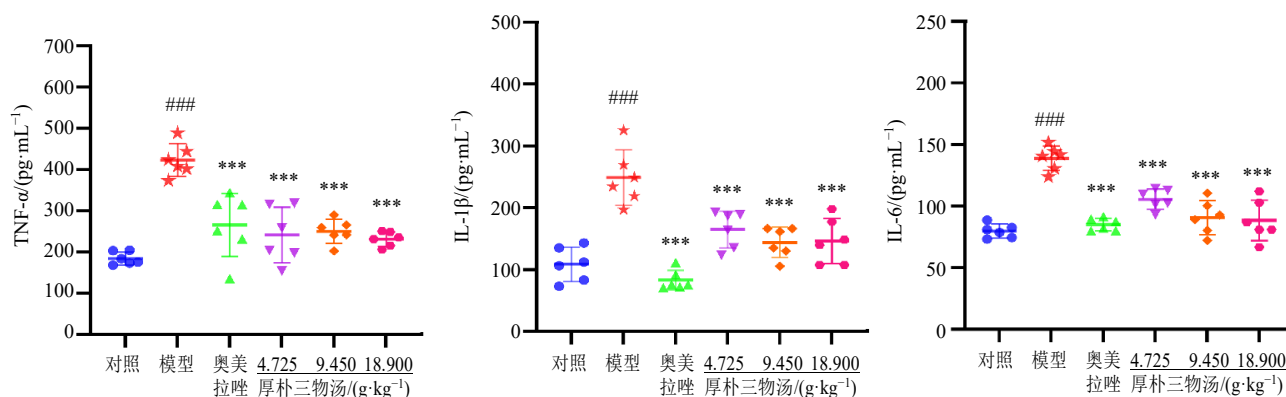


图 4 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 4 Effect of Houpo Sanwu Decoction on levels of inflammatory cytokines in gastric tissue of rats with gastric ulcer ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

表 3 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织氧化应激指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 3 Effect of Houpo Sanwu Decoction on oxidative stress indicators in gastric tissue of rats with gastric ulcer ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	GSH/(U·mg ⁻¹)
对照	—	183.13 ± 17.36	0.44 ± 0.02	4.81 ± 0.74	32.43 ± 0.77
模型	—	132.27 ± 30.88 [#]	1.01 ± 0.12 ^{###}	3.00 ± 0.65 [#]	20.22 ± 0.79 ^{###}
奥美拉唑	0.03	166.56 ± 22.37	0.54 ± 0.06 ^{**}	4.70 ± 0.41 [*]	29.11 ± 3.63 [*]
厚朴三物汤	4.725	184.98 ± 21.22 [*]	0.56 ± 0.19 [*]	4.78 ± 0.36 ^{***}	25.64 ± 1.55 ^{**}
	9.450	181.86 ± 24.91	0.64 ± 0.10 [*]	4.70 ± 0.80	24.65 ± 2.63
	18.900	177.63 ± 21.03	0.49 ± 0.09 ^{**}	4.86 ± 0.73 ^{**}	25.93 ± 2.40 ^{**}

与对照组比较: $^{#}P < 0.05$ $^{###}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$, 表 4 同。

$^{#}P < 0.05$ $^{###}P < 0.001$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$ vs model group, same as Table 4.

($P < 0.05$ 、 0.001), MDA 水平明显升高($P < 0.001$)。与模型组比较, 奥美拉唑组 CAT 活性及 GSH 水平显著升高($P < 0.05$), MDA 水平显著降低($P < 0.01$); 厚朴三物汤低剂量组 SOD、CAT 活性及 GSH 水平显著升高($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), MDA 水平显著降低($P < 0.05$); 厚朴三物汤中剂量组 MDA 水平显著降低($P < 0.05$); 厚朴三物汤高剂量组 CAT 活性及 GSH 水平显著升高($P < 0.01$), MDA 水平显著降低($P < 0.01$)。表明厚朴三物汤可以抑制胃溃疡大鼠氧化应激反应, 使机体的抗氧化能力明显提高。此外, 厚朴三物汤组与奥美拉唑组各抗氧化指标均无明显差异, 且趋势一致, 表明厚朴三物汤对胃溃疡大鼠抗氧化能力的作用与奥美拉唑相似。

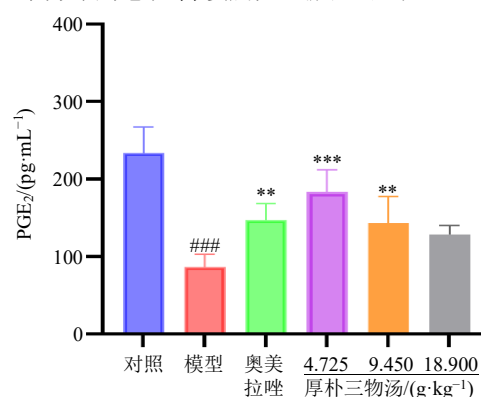
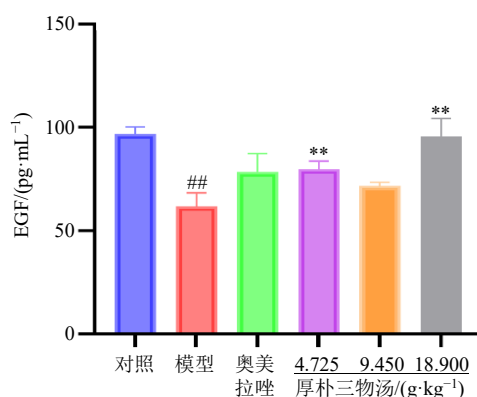


图 5 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃黏膜保护因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 5 Effect of Houpo Sanwu Decoction on levels of gastric mucosal protective factors in gastric tissue of rats with gastric ulcer ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

表 4 各组大鼠脑组织 5-HT 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 4 5-HT level in brain tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	5-HT/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	14.15 ± 2.36
模型	—	8.74 ± 1.22 [#]
奥美拉唑	0.03	13.59 ± 2.85
厚朴三物汤	4.725	12.15 ± 1.85
	9.450	13.44 ± 2.11
	18.900	16.56 ± 5.75 ^{**}

3.3 脑组织转录组学分析

3.3.1 差异基因表达的筛选 以 $|\log_2FC| \geq 1$ 且 $P < 0.05$ 作为标准, 由此筛选出的基因为差异表达基因。测序结果如图 6 所示, 模型组与厚朴三物汤中剂量组相比, 筛选出的显著差异基因共 172 个, 其中上调基因 113 个, 下调基因 59 个。其中, 排名前 10 的显著性差异基因见表 5, 分别为 *Irf7*、*Ifi44*、*Slfn2*、

3.2.5 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠胃组织胃黏膜保护因子水平的影响 如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠胃组织中 EGF、PGE₂ 水平明显降低($P < 0.01$ 、 0.001)。与模型组比较, 厚朴三物汤低、高剂量组 EGF 水平显著升高($P < 0.01$), 奥美拉唑组和厚朴三物汤低、中剂量组 PGE₂ 水平显著升高($P < 0.01$ 、 0.001), 表明厚朴三物汤对胃溃疡大鼠的胃黏膜具有良好的保护作用。

3.2.6 厚朴三物汤对胃溃疡大鼠脑组织 5-HT 水平的影响 如表 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠脑组织 5-HT 水平显著降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 各给药组 5-HT 水平均有所升高, 其中厚朴三物汤高剂量组有显著性差异($P < 0.01$)。厚朴三物汤可以增加乙醇诱导的急性胃溃疡大鼠脑组织中 5-HT 含量。

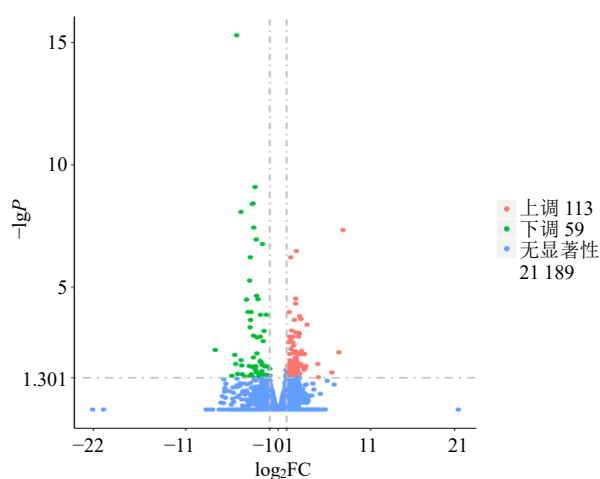


图 6 模型组与厚朴三物汤中剂量组大鼠差异表达基因火山图

Fig. 6 Volcano plot of differentially expressed genes in rats of model group and Houpo Sanwu Decoction medium-dose group

表 5 模型组与厚朴三物汤中剂量组前 10 个显著性差异基因 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Significantly different genes (top10) between model group and Houpo Sanwu Decoction medium-dose group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

ID	基因	log ₂ FC	P 值	q 值	趋势
ENSRNOG00000017414	<i>Irf7</i>	-4.948 4	0	0	↓
ENSRNOG00000022218	<i>Ifi44</i>	-2.760 9	0	0	↓
ENSRNOG00000037113	<i>Slfn2</i>	-2.993 0	0	0	↓
ENSRNOG00000033220	<i>Oas1f</i>	-3.076 5	0	0	↓
ENSRNOG00000069835	<i>Oas1i</i>	-4.436 9	0	0	↓
ENSRNOG00000009263	<i>Ifi27</i>	-2.905 3	0	0	↓
ENSRNOG00000065219	<i>ENSRNOG00000065219</i>	7.722 7	0	0	↑
ENSRNOG00000032596	<i>RT1-T24-3</i>	-2.618 0	0	0	↓
ENSRNOG00000012681	<i>Lgals9</i>	-1.863 2	0	0	↓
ENSRNOG00000024310	<i>Kcnfl</i>	2.162 2	0	0	↑

↑ 表示上调, ↓ 表示下调。

↑ indicates up-regulation, ↓ indicates down-regulation.

Oas1f、*Oas1i*、*Ifi27*、*ENSRNOG00000065219*、*RT1-T24-3*、*Lgals9*、*Kcnfl*, 包含上调基因 2 个, 下调基因 8 个。如图 7 所示, 采用主流的层次聚类对基因的 FPKM 值进行聚类分析, 热图中表达模式相近的基因或样本会被聚集在一起, 每个方格中的颜色反映的是表达数据的行 (row) 进行均一化处理 (Z-

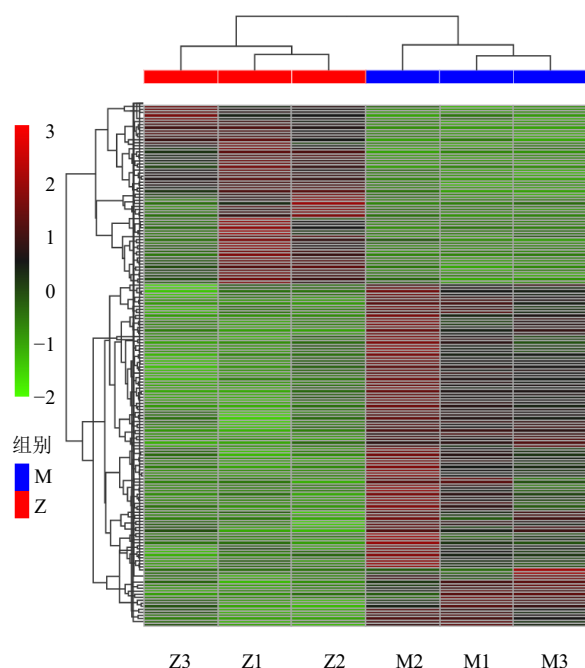


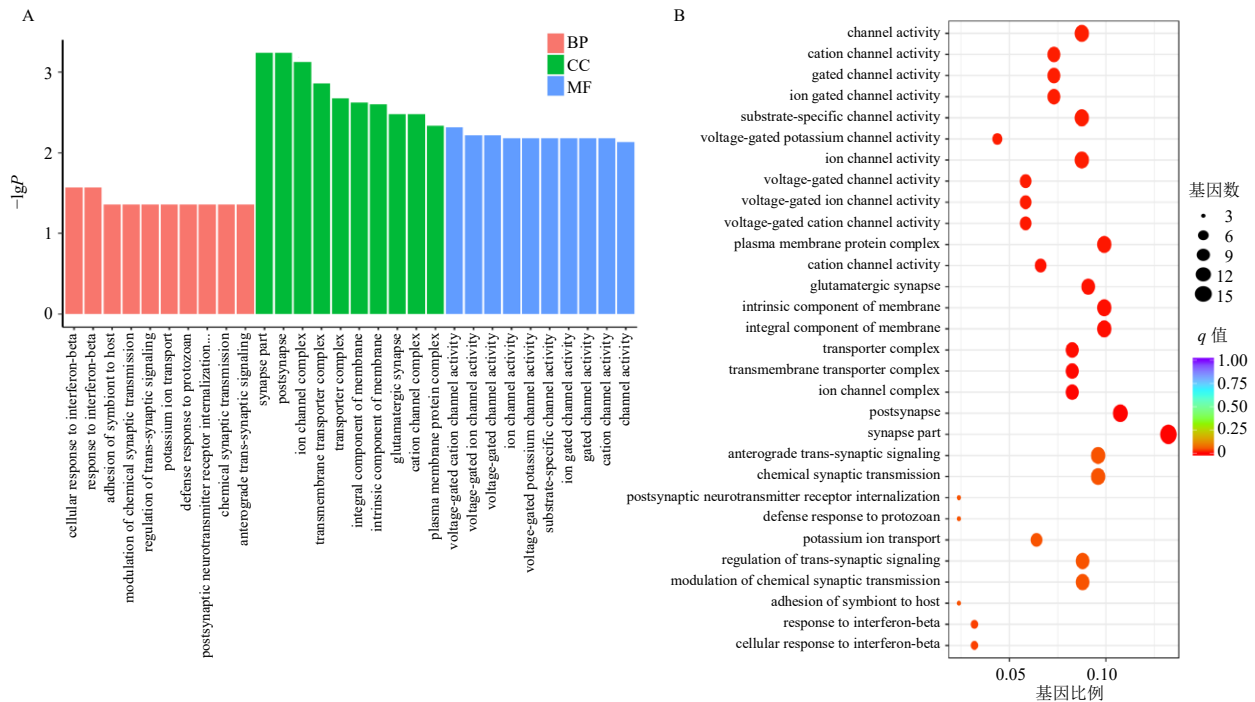
图 7 模型组 (M) 与厚朴三物汤中剂量组 (Z) 差异表达基因聚类图

Fig. 7 Cluster diagram of differentially expressed genes between model group (M) and Houpo Sanwu Decoction medium-dose group (Z)

score) 后得到的数值 (-2~3), 结果显示, 厚朴三物汤中剂量组脑组织 RNA 测序的 3 个样本 (Z1、Z2、Z3) 能够聚类, 模型组脑组织 RNA 测序 3 个样本 (M1、M2、M3) 能够聚类。

3.3.2 差异基因的 GO 富集分类分析 对模型组和厚朴三物汤中剂量组的差异基因进行 GO 富集分析, 以 $P < 0.05$ 为筛选标准。GO 富集分析主要包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组成 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF)。选取最显著的 30 个条目绘制柱状图进行展示, 如图 8-A 所示, 模型组与厚朴三物汤中剂量组相比, 在 BP 中有 71 条差异基因, 主要涉及细胞对 β 干扰素的反应、共生体对宿主的黏附、化学突触传递的调节、跨突触信号的调控、钾离子转运、对原生动物的防御反应、突触后神经递质受体内化 NA、化学突触传递等; 在 CC 中有 114 条差异基因, 与突触受体、离子通道复合物、跨膜转运复合物、转运蛋白复合物、膜的组成成分、膜的固有成分、谷氨酸能突触、阳离子通道复合物、质膜蛋白复合物等多个组分密切相关; 获得 MF 相关条目 96 条, 涉及电压门控阳离子通道活性、电压门控离子通道活性、电压门控通道活性、离子通道活性、电压门控钾通道活性、底物特异性通道活性、离子门控通道活性、门控通道活性、阳离子通道活性等。对上述选取的 30 个条目进行气泡图绘制, 如图 8-B 所示, 点的大小代表注释到 GO 条目上的基因数, 颜色从红到紫代表富集的显著性大小, 根据富集的 GO 条目上的差异基因数与差异基因总数的比值进行排序, 显著性较大的前 5 的 GO 条目为突触部分、突触后、质膜蛋白复合物、膜的固有成分、膜的组成成分。

3.3.3 差异基因的 KEGG 代谢通路富集分析 对模型组与厚朴三物汤中剂量组大鼠的显著差异表达基因进行 KEGG 信号通路富集分析, 获得通路 195 条, 根据 KEGG 富集结果, 选取最显著的 20 条信号通路进行柱状图展示, 如图 9-A 所示, KEGG 代谢通路包括多种癌症通路如抑制细胞生长的 Hippo 信号通路、结直肠癌、乳腺癌、前列腺癌、子宫内膜癌等, 多种病毒感染相关的通路如 Epstein-Barr 病毒感染、人乳头瘤病毒感染、卡波氏肉瘤相关疱疹病毒感染等, 与炎症、免疫相关的通路有 NOD 样受体信号通路和肝炎, 与神经递质相关通路有神经活性配体-受体相互作用。其中, NOD 样受体信号

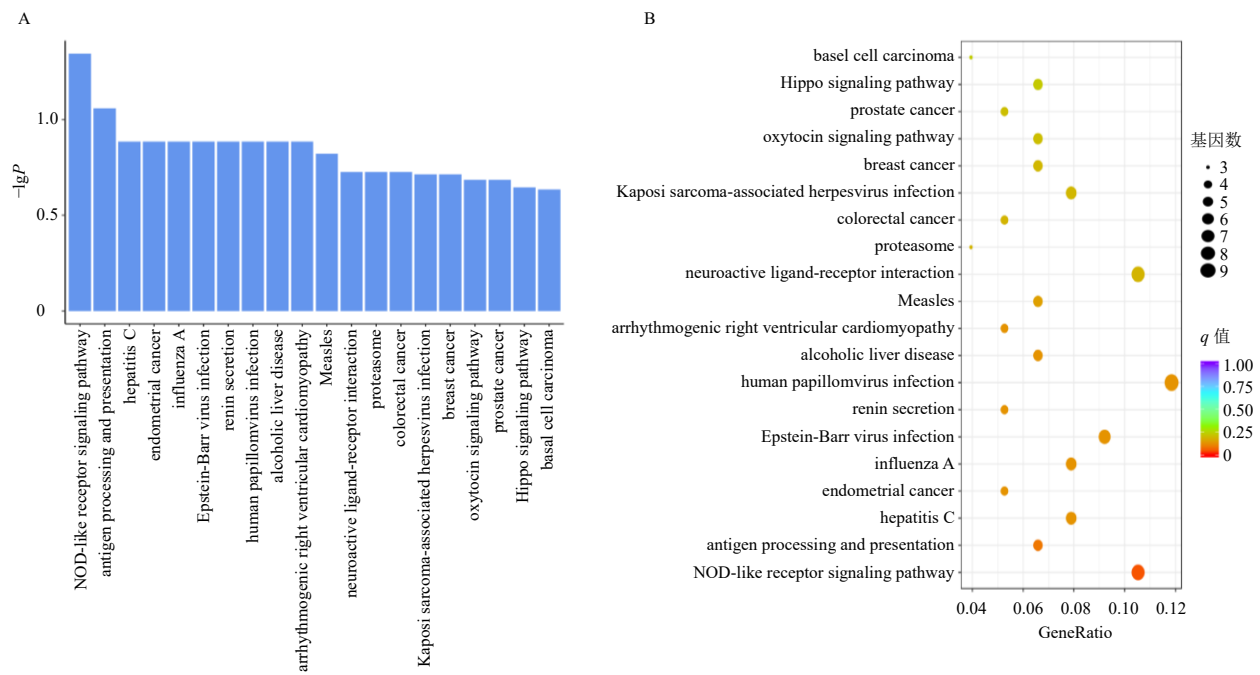


A-GO 功能条形图; B-GO 功能气泡图。

A-bar chart of GO functions; B-bubble chart of GO functions.

图 8 模型组与厚朴三物汤中剂量组差异基因的 GO 富集分析 (前 30)

Fig. 8 GO enrichment analysis of differential genes between model group and Houpo Sanwu Decoction medium-dose group (top 30)



A-KEGG 富集柱状图; B-KEGG 富集气泡图。

A-KEGG-enriched bar graph; B-KEGG-enriched bubble graph.

图 9 模型组与厚朴三物汤中剂量组差异基因的 KEGG 富集分析 (前 20)

Fig. 9 KEGG enrichment analysis of differential genes between model group and Houpo Sanwu Decoction medium-dose group (top 20)

通路富集结果最显著,富集到该通路的差异基因有 8 个。对上述 20 条信号通路进行 KEGG 代谢通路气泡图绘制,如图 9-B 所示,图中点的大小代表注释到 KEGG 通路上的基因数,颜色从红到紫代表富集的显著性大小,根据富集的 KEGG 通路上的差异基因数与差异基因总数的比值进行排序,显著性较大的前 3 的条目为 NOD 样受体信号通路、人乳头瘤病毒感染和神经活性配体-受体相互作用。

4 讨论

胃溃疡是由于胃黏膜保护机制(EGF、PGE₂等保护因子)与损伤因素(胃酸、胃蛋白酶、乙醇等)之间的不平衡而发生的。目前治疗胃溃疡的药物主要包括 H₂ 受体阻滞剂、质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂、胃酸类药物等^[22],但长期服用这些药物会引起腹痛、腹泻、恶心呕吐等多种不良反应^[23]。尤其是近年来随着生活水平的提高,人们的饮食习惯也不断变化,胃溃疡的发病率不断上升且趋于年轻化,因此,需要寻找更加安全有效的药物来预防和治疗胃溃疡。现代研究表明,厚朴三物汤具有抗炎、抗氧化、免疫抑制、抗病毒等作用。本研究建立乙醇诱导大鼠急性胃溃疡模型,继而开展厚朴三物汤治疗胃溃疡的药效作用评价及其对脑组织的转录组学研究。

4.1 厚朴三物汤通过神经递质改善胃溃疡大鼠胃黏膜的药效学分析

胃溃疡面积、胃溃疡指数和胃组织病理形态学能够直观地反映造模后大鼠胃黏膜的破坏情况。本研究结果显示,厚朴三物汤能够明显减少胃溃疡面积,使得组织中腺体排列趋于整齐,胃黏膜损伤程度减弱。乙醇诱导的急性胃溃疡能通过产生高度细胞毒性的自由基,导致氧化应激的发生,进而使胃黏膜发生病变^[24]。但自由基可以通过机体的抗氧化防御系统(抗氧化酶如 SOD、CAT 和抗氧化剂如 GSH)来清除。结果显示,厚朴三物汤可升高胃组织中 SOD、CAT 活性及 GSH 含量,降低 MDA 水平,提高机体的抗氧化能力。当机体发生炎症反应后,巨噬细胞产生大量促炎因子,使得炎症部位中性粒细胞积聚,导致紧密连接蛋白和黏膜屏障的破坏^[25],同时,这些促炎因子会产生更多的氧自由基,加重胃黏膜损伤。本研究结果显示,厚朴三物汤能降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量,从而抑制乙醇诱导的胃溃疡大鼠炎症反应。胃黏膜保护因子在治疗胃溃疡中起着非常重要的作用,PGE₂ 是维持胃黏膜防

御完整性和胃溃疡愈合的关键介质^[26],可促进胃黏膜黏液分泌、减少胃酸分泌,从而保护胃黏膜^[27-29]。EGF 对机体的胃肠道生长发育起重要作用,能够改善受损胃肠道的消化机能,加速溃疡愈合,减少肠胃炎、胃溃疡的发生。研究表明,厚朴三物汤能明显增加 PGE₂ 和 EGF 的含量,增强胃黏膜保护因子,加强胃黏膜屏障,降低乙醇诱导的胃黏膜损伤。

4.2 厚朴三物汤调节胃溃疡大鼠脑组织神经递质和 RNA-Seq 测序分析研究

现代医学研究发现,脑与胃肠关系密切,脑神经系统与胃肠道消化系统存在双向交流作用^[30]。胃溃疡是一种常见的消化系统疾病,胃黏膜因子失衡、炎症刺激等是导致胃溃疡的最常见原因,但脑神经行为失调等其他因素也会影响胃溃疡,有研究表明黄芪建中汤通过上调下丘脑及海马区磷酸化细胞外调节蛋白激酶 1/2 (phosphorylated extracellular regulated protein kinase 1/2, p-ERK1/2)、三叶因子 3 (trefoil factor 3, TFF3) 蛋白表达促进胃溃疡大鼠溃疡愈合^[31],表明调节脑神经系统可能是治疗胃溃疡的作用机制之一。5-HT 是调节胃肠道运动和分泌功能的重要神经递质,可以调节胃肠道蠕动、分泌运动、炎症等^[32],在胃肠道疾病与脑神经系统疾病中发挥着重要作用。有研究发现针刺可增加脑组织纹状体中 5-HT、多巴胺等相关脑肠肽水平,进而增强应激性溃疡大鼠模型胃黏膜的防御能力^[33],四逆散可能通过下调血清 IL-1 β 含量,提高海马 5-HT 含量,从而增强胃黏膜的防御能力^[34]。现代药理学研究发现厚朴三物汤可通过自主神经系统和迷走神经回路改善胃炎、肠梗阻、胃肠动力障碍等消化系统疾病^[14-15,35],提示厚朴三物汤治疗胃肠道疾病与脑神经系统有关,本研究发现厚朴三物汤能有效抑制胃溃疡大鼠脑组织中 5-HT 含量的减少,表明厚朴三物汤改善胃溃疡大鼠胃黏膜损伤与脑神经系统 5-HT 等神经递质相关,为从脑组织 RNA-Seq 测序分析厚朴三物汤改善胃溃疡的作用机制提供依据。

在厚朴三物汤防治胃溃疡的药效学基础上,比较分析模型组和厚朴三物汤中剂量组大鼠的脑组织 RNA-Seq。结果显示,模型组与厚朴三物汤中剂量组相比,筛选出的显著差异基因共 172 个,其中上调基因 113 个,下调基因 59 个。对上述差异基因进行 GO 富集分析,结果显示 2 组的差异基因功能主要富集在细胞对 β 干扰素的反应、突触受体传递、离子转运等方面,其中 BP 主要涉及鸟苷酸结合蛋

白 (guanylate-binding protein, GBP) 家族基因蛋白, 能够在细菌等病原体引发的细胞自主免疫中通过影响炎症小体的经典和非经典活化途径调控细胞焦亡^[36], 这提示厚朴三物汤可通过调节 GBP2、GBP7、GBP4 等蛋白水平, 进而调控胃溃疡大鼠脑组织细胞变化, 影响系列炎症小体的经典和非经典活化途径, 改善胃溃疡大鼠胃黏膜炎症损伤和细胞凋亡。RNA-Seq 结果显示, KEGG 代谢通路包括多种癌症通路、多种病毒感染相关的通路、神经活性配体-受体相互作用、炎症与免疫相关的通路。其中, NOD 样受体信号通路富集结果最显著, 富集到该通路的差异基因有 8 个, 说明厚朴三物汤抗胃溃疡的作用可能与免疫和炎症反应有关。NOD 样受体功能失调与神经系统损伤有关, 如神经退行性疾病、肠道感染所致的神经损伤、脑神经记忆缺失等^[37-38]。NOD 样受体家族由 NLR 识别相应模式分子后形成大型信号分子如核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)、NLRC4 等炎症小体, 从而激活核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路、细胞凋亡等信号通路, 释放 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎性细胞因子, 介导下游一系列免疫炎症级联反应^[39]。厚朴三物汤由厚朴、大黄、枳实组成, 本研究采用 UPLC-Q-Exactive-MS 技术共鉴定出 71 种化学成分, 包括黄酮类 26 个、鞣质类 6 个、蒽醌及蒽酮类 14 个、含氮化合物类 4 个、苯丙素类 15 个等, 其中蒽醌及蒽酮类、苯丙素类、黄酮类等成分有明显的抗氧化、抗炎、抗菌作用^[40-42], 研究表明厚朴主要有效成分厚朴酚与和厚朴酚等异构体可调控小胶质细胞中 γ 干扰素-ERK1/2 信号通路, 表明厚朴酚与和厚朴酚具有抑制神经元和小胶质细胞氧化和炎症反应的能力^[43-44]。此外, 有研究证明厚朴酚可减少慢性轻度应激小鼠诱导的前额皮质促炎因子释放, 减弱下丘脑-垂体-肾上腺轴的过度活跃和脂质过氧化反应, 抑制前额叶皮层的神经炎症和氧化应激^[45]。大黄的大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素等多种天然蒽醌类成分被证实可通过磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)、NF- κ B、NLRP3 细胞凋亡等信号通路改善神经损伤和神经

炎症^[46-48]。枳实的主要成分橙皮素等黄酮类成分能通过调节 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) /NF- κ B、单磷酸腺苷激活的蛋白激酶 (adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK) /沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) /NF- κ B、NLRP3 炎症小体、核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) /NF- κ B 等信号通路改善脂多糖诱导的神经炎症、细胞凋亡和记忆障碍^[49-50]。本研究通过比较转录组学的 KEGG 通路富集分析, 发现厚朴三物汤可以通过 NOD 样受体信号通路, 调控胃溃疡大鼠脑组织神经炎症小体变化, 进而影响胃溃疡大鼠胃组织的系列免疫炎症级联反应, 减少释放 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎性因子, 改善乙醇诱导的应激性胃溃疡大鼠胃黏膜损伤, 后期将从 NOD 样受体功能失调与神经系统损伤角度出发, 深入研究 NLRP3 炎症小体与细胞凋亡、Nrf2/NF- κ B、MAPK 等信号通路, 以探明厚朴三物汤抗胃溃疡的作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 韩政云, 商庆新. 基于脑肠轴理论从胃风论治神经内
科疾病 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(11):
1930-1934.
- [2] 姜圣钰. 清胃止痛微丸对大鼠乙酸型胃溃疡的治疗作
用及机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- [3] Fu S, Chen J M, Zhang C, *et al.* Gastroprotective effects of
Periplaneta americana L. extract against ethanol-induced
gastric ulcer in mice by suppressing apoptosis-related
pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 798421.
- [4] 方镭泽, 曾奇, 吴红梅, 等. 基于网络药理学和分子对
接结合体内实验探究黄芩白及抗胃溃疡的作用机制
[J]. 遵义医科大学学报, 2023, 46(11): 1067-1075.
- [5] 薛丰富, 寇继光. 基于网络药理学的康复新液治疗胃
溃疡的机理研究 [J]. 中国医学工程, 2023, 31(12): 1-7.
- [6] Gong H Y, Zhao N, Zhu C L, *et al.* Treatment of gastric
ulcer, traditional Chinese medicine may be a better choice
[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 324: 117793.
- [7] Li L, Du Y Y, Wang Y, *et al.* Atractylone alleviates ethanol-
induced gastric ulcer in rat with altered gut microbiota and
metabolites [J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 4709-4723.
- [8] Wu Y D, Murray G K, Byrne E M, *et al.* GWAS of peptic
ulcer disease implicates *Helicobacter pylori* infection,
other gastrointestinal disorders and depression [J]. *Nat
Commun*, 2021, 12(1): 1146.
- [9] Kim S Y, Min C Y, Oh D J, *et al.* Reciprocal association

- between depression and peptic ulcers: Two longitudinal follow-up studies using a national sample cohort [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1749.
- [10] 李士军. 基于网络药理学研究苍术治疗胃溃疡的作用机制 [D]. 保定: 河北大学, 2021.
- [11] 彭进. 半夏泻心汤加减辅治胃溃疡的临床效果及对患者心理状态的影响 [J]. *临床合理用药*, 2024, 17(5): 62-65.
- [12] 邹智超. 基于网络药理学厚朴三物汤改善术后肠梗阻潜在靶点的初步研究 [D]. 衡阳: 南华大学, 2020.
- [13] 吴美玉. 厚朴在经方中配伍应用探微 [J]. *国医论坛*, 2023, 38(5): 4-6.
- [14] 毛宇东. 基于自主神经系统研究厚朴三物汤调控胃肠动力的作用机制 [D]. 兰州: 兰州大学, 2022.
- [15] 李兆龙. 基于迷走神经回路研究中药厚朴三物汤对胃肠动力障碍大鼠的作用靶点 [D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [16] 陈立, 李涛, 王彦礼, 等. 小承气汤、厚朴三物汤及厚朴大黄汤中蒽醌类、脂素类和黄酮类成分含量测定 [J]. *药学学报*, 2015, 50(7): 887-892.
- [17] Zhou D, Yang Q, Tian T, *et al.* Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 126: 110075.
- [18] 周慧英, 邓红雨, 康瑞萍, 等. 孜然枯茗醛对实验性胃溃疡大鼠胃黏膜的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(5): 946-952.
- [19] 杨贵前, 刘文, 陶玲, 等. 左金果胶胶囊的处方优化及其对胃溃疡模型大鼠的保护作用 [J]. *中国药房*, 2021, 32(19): 2327-2335.
- [20] 罗思妮, 彭致铨, 范倩, 等. 经典名方小承气汤中化学成分的分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(23): 1-10.
- [21] 张文文, 姚长良, 陈雪冰, 等. UPLC-Q-TOF/Fast DDA 结合 UNIFI 软件快速检测与鉴定小承气汤的化学成分 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(8): 2121-2133.
- [22] 余敏, 李雨峰, 孙伟浩, 等. 铁皮石斛提取物对急性酒精性胃溃疡小鼠的保护作用 [J/OL]. *沈阳药科大学学报*, (2023-04-12) [2024-04-17]. <https://doi.org/10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2022.0676..>
- [23] 史奇, 陈正君, 刘雪枫, 等. 党参治疗胃溃疡的作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(7): 2338-2348.
- [24] Hou C L, Liu L Y, Ren J Y, *et al.* Structural characterization of two *Hericium erinaceus* polysaccharides and their protective effects on the alcohol-induced gastric mucosal injury [J]. *Food Chem*, 2022, 375: 131896.
- [25] de Souza M C, Vieira A J, Beserra F P, *et al.* Gastroprotective effect of limonene in rats: Influence on oxidative stress, inflammation and gene expression [J]. *Phytomedicine*, 2019, 53: 37-42.
- [26] Sánchez-Mendoza M E, López-Lorenzo Y, Cruz-Antonio L, *et al.* Gastroprotection of calcin D against ethanol-induced gastric lesions in mice: Role of prostaglandins, nitric oxide and sulfhydryls [J]. *Molecules*, 2019, 24(3): 622.
- [27] 魏广义, 刘楠楠, 王淑美, 等. 抗胃溃疡中药实验研究进展 [J]. *中药药理与临床*, 2020, 36(5): 228-232.
- [28] 何燕珊, 刘奇越, 邓雅方, 等. 多糖对胃溃疡作用机制研究现状 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(10): 1251-1254.
- [29] 夏德尧, 黄晟哲, 赵依如, 等. 蛇菰多糖对大鼠乙酸型胃溃疡的治疗作用及机制 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(1): 193-199.
- [30] Loh J S, Mak W Q, Tan L K S, *et al.* Microbiota-gut-brain axis and its therapeutic applications in neurodegenerative diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 37.
- [31] 陈思清, 韩运宗, 刘琴, 等. 从脑肠轴探讨黄芪建中汤对胃溃疡大鼠肝细胞生长因子及 ERK1/2 和 TFF3 蛋白表达的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2023, 32(12): 1651-1655.
- [32] Liu N, Sun S Q, Wang P J, *et al.* The mechanism of secretion and metabolism of gut-derived 5-hydroxytryptamine [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15): 7931.
- [33] 李倩. 针刺对应激性胃溃疡大鼠睡眠时间以及纹状体中 5-HT、DA 含量的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [34] 姚春栎, 覃燕琼, 颜凡棋, 等. 四逆散对应激性抑郁大鼠血清 IL-1 β 及海马组织 5-HT 水平的影响 [J]. *西部中医药*, 2022, 35(4): 55-59.
- [35] 康蕾, 梁磊, 洪关婷, 等. 基于网络药理学及分子对接方法探析厚朴三物汤治疗便秘的机制研究 [J]. *现代药物与临床*, 2024, 39(2): 335-341.
- [36] 全舒婷, 焦伟伟, 徐放, 等. 鸟苷酸结合蛋白家族在感染性疾病中调控炎症小体活化的研究进展 [J]. *遗传*, 2023, 45(11): 1007-1017.
- [37] Wang Z, Zhang S M, Xiao Y, *et al.* NLRP3 inflammasome and inflammatory diseases [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 4063562.
- [38] 张梦娣, 梁若楠, 纪望全, 等. 肠道病毒感染致神经损伤小鼠脑组织 NOD 样受体蛋白 3 的表达 [J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2022, 57(2): 191-196.
- [39] Nozaki K, Li L P, Miao E A. Innate sensors trigger regulated cell death to combat intracellular infection [J]. *Annu Rev Immunol*, 2022, 40: 469-498.
- [40] 彭璐琪. 药对枳壳厚朴对 CUMS 抑郁模型大鼠肠道菌群和炎症的影响 [D]. 长沙: 中南大学, 2022.

- [41] Shang X F, Dai L X, He J, *et al.* A high-value-added application of the stems of *Rheum palmatum* L. as a healthy food: The nutritional value, chemical composition, and anti-inflammatory and antioxidant activities [J]. *Food Funct*, 2022, 13(9): 4901-4913.
- [42] Gao L, Zhang H, Yuan C H, *et al.* *Citrus aurantium* 'Changshan-huyou'-An ethnopharmacological and phytochemical review [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 983470.
- [43] 叶济世. 和厚朴酚改善小鼠术后认知功能减退的可能机制: 活化 SIRT3 和调控线粒体自噬-NLRP3 炎症小体轴 [D]. 武汉: 武汉大学, 2020.
- [44] 赵欣, 姬孟艳, 董强. 厚朴酚对脑卒中后抑郁小鼠神经炎症及 HPA 轴的影响 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15(11): 645-647.
- [45] Cheng J, Dong S Q, Yi L T, *et al.* Magnolol abrogates chronic mild stress-induced depressive-like behaviors by inhibiting neuroinflammation and oxidative stress in the prefrontal cortex of mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 59: 61-67.
- [46] Xia P P, Marjan M, Liu Z Y, *et al.* Chrysophanol postconditioning attenuated cerebral ischemia-reperfusion injury induced NLRP3-related pyroptosis in a TRAF6-dependent manner [J]. *Exp Neurol*, 2022, 357: 114197.
- [47] Xian M H, Cai J L, Zheng K N, *et al.* Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke via the PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B pathway [J]. *Food Funct*, 2021, 12(17): 8056-8067.
- [48] 胡恩. 大黄靶向肠道菌群-代谢物-脑轴治疗脑出血的研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2023.
- [49] Muhammad T, Ikram M, Ullah R, *et al.* Hesperetin, a *Citrus* flavonoid, attenuates LPS-induced neuroinflammation, apoptosis and memory impairments by modulating TLR4/NF- κ B signaling [J]. *Nutrients*, 2019, 11(3): 648.
- [50] Soliman K F, Evans J A, Mendonca P. The modulatory effects of *Citrus* flavonoid hesperetin on Nrf2 expression and NF- κ B signaling pathway in LPS-activated BV-2 microglial cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2023, 385(S3): 294.

[责任编辑 李亚楠]