

基于量效关系从“中药-成分-靶点”探讨大黄、枳实和厚朴不同配比的疗效作用机制

游海心¹, 杨晓艳¹, 罗奕宇¹, 曾光², 贺福元³, 丁长松^{1,4*}

1. 湖南中医药大学信息科学与工程学院, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南 长沙 410208

3. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

4. 湖南省中医药大数据分析实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: **目的** 从中药剂量和成分含量因素分析大黄、枳实和厚朴因配比不同而疗效作用机制产生差异的原因。**方法** 通过公共数据平台收集大黄、枳实、厚朴的中药剂量、关键化学成分及其含量, 以及各成分作用的靶点。通过网络药理学和蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析确定厚朴三物汤治疗胃炎、小承气汤治疗肠梗阻、厚朴大黄汤治疗炎症性肠病的关键靶点。引入中药剂量和成分含量, 从“中药-成分-靶点”计算靶点受控力, 分析剂量和成分含量对靶点排序的影响, 确定受控前后的核心靶点, 进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 筛选出排名前 5 的靶点, 并与关键成分进行分子对接。**结果** 共得到 18 个关键化学成分、246 个药物靶点, 与胃炎、肠梗阻、炎症性肠病的疾病靶点取交集分别有 217、200、219 个靶点。靶点受控力结果发现, 前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESRI)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPARG)、细胞周期蛋白 A2 (cyclin A2, CCNA2) 等靶点基因受控前后排序变化明显, 可能是潜在的关键基因, 并通过癌症中的蛋白聚糖、白细胞介素-17、肿瘤坏死因子、内分泌抵抗信号通路等途径参与肠道运动、胃黏膜屏障功能、炎症反应等病理改变。分子对接结果表明 PTGS2 与芦荟大黄素具有最低结合能 (-5.68 kcal/mol), 结合稳定。**结论** 考虑中药剂量和成分含量因素后, 从“中药-成分-靶点”分析大黄、枳实和厚朴因配比不同对靶点影响的差异, 为探究中药复方的量效关系提供了新的途径。

关键词: 量效关系; 靶点受控力; 作用机制; 大黄; 枳实; 厚朴

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)20-7021-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.20.018

Study on therapeutic mechanism of different ratios of *Rhei Radix et Rhizoma*, *Aurantii Fructus Immaturus* and *Magnoliae Officinalis Cortex* from “traditional Chinese medicine-component-target” based on dose-effect relationship

YOU Haixin¹, YANG Xiaoyan¹, LUO Yiyu¹, ZENG Guang², HE Fuyuan³, DING Changsong^{1,4}

1. School of Informatics, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. College of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

4. TCM Big Data Analysis Laboratory of Hunan, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To analyze the reasons for the differences in the mechanism of action of Dahuang (*Rhei Radix et Rhizoma*), Zhishi (*Aurantii Fructus Immaturus*) and Houpo (*Magnoliae Officinalis Cortex*) due to different dose ratios from the factors of traditional Chinese medicine (TCM) dose and component content. **Methods** Through the public data platform, the TCM dosage, key

收稿日期: 2024-05-24

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82274215); 国家自然科学基金面上项目 (82474352); 湖南省中医药管理局重点项目 (A2024011, 2023-24); 湖南省自然科学基金项目 (2023JJ60124); 湖南省重点研发计划 (2022SK2014); 湖南省教育厅科学研究重点项目 (22A0255, 22A0281); 长沙市自然科学基金项目 (kq2202265); 湖南中医药大学研究生创新项目 (2023CX137)

作者简介: 游海心, 女, 硕士研究生, 研究方向为中医药大数据分析。

***通信作者:** 丁长松, 男, 教授, 博士研究生导师。E-mail: dingcs1975@hnucm.edu.cn

chemical components and content determination of *Rhei Radix et Rhizoma*, *Aurantii Fructus Immaturus* and *Magnoliae Officinalis Cortex* were collected, as well as the targets of each component. Identifying the key targets of Houpo Sanwu Decoction for treating gastritis, Xiao Chengqi Decoction for treating intestinal obstruction, and Houpu Dahuang Decoction for treating inflammatory bowel disease through network pharmacology and protein-protein interaction (PPI) network analysis. The dose and component content of TCM were added, and the target-controlled force was calculated from “Chinese medicine-component-target”. The effect of dose and component content on target sequencing was analyzed, and gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed on the core targets before and after control. The top five targets were screened and molecular docking was performed with the key components. **Results** A total of 18 key components and 246 drug targets were obtained, which intersected with disease targets for gastritis, intestinal obstruction, and inflammatory bowel disease, yielding 217, 200, and 219 targets, respectively. Observing the results of target control force, it was found that target genes such as prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (*PTGS2*), estrogen receptor 1 (*ESR1*), peroxisome proliferator activated receptor gamma (*PPARG*) and cyclin A2 (*CCNA2*) showed significant changes in ranking before and after control, which may be potential key genes. They are involved in pathological changes such as intestinal motility, gastric mucosal barrier function, and inflammatory responses through proteoglycans in cancer, interleukin-17 (IL-17), tumor necrosis factor (TNF), and endocrine resistance signaling pathways and other pathways. Molecular docking results showed that *PTGS2* had the lowest binding energy (−5.68 kcal/mol) with aloe emodin, and the binding was stable. **Conclusion** After considering the dosage and component content of TCM, the analysis of the differences in the impact of targets due to different ratios of *Rhei Radix et Rhizoma*, *Aurantii Fructus Immaturus* and *Magnoliae Officinalis Cortex* from the “TCM-component-target” perspective provides a new approach to explore the dose-effect relationship of TCM formulas.

Key words: dose-effect relationship; target-controlled force; mechanism of action; *Rhei Radix et Rhizoma*; *Aurantii Fructus Immaturus*; *Magnoliae Officinalis Cortex*

厚朴三物汤、小承气汤和厚朴大黄汤均为张仲景所创名方，由大黄、枳实和厚朴不同配比组成^[1]。厚朴三物汤中大黄、枳实、厚朴的配比为 4 : 5 : 8，重用厚朴，意在行气除满，常用于治疗胃炎、胃溃疡等疾病；小承气汤中大黄、枳实、厚朴的配比为 4 : 3 : 2，重用大黄，轻下热结，意在荡涤实热积滞，常用于治疗肠道功能紊乱、肠梗阻等疾病；厚朴大黄汤中大黄、枳实、厚朴的配比为 3 : 2 : 4，重用大黄和厚朴，与小承气汤功效相似，常用于治疗肠道感染、炎症性肠病等疾病。本研究选择厚朴三物汤治疗胃炎、小承气汤治疗肠梗阻以及厚朴大黄汤治疗炎症性肠病，探讨其作用机制及差异。

为了解释大黄、枳实、厚朴不同配比的疗效作用机制，陈琦等^[2]通过对三者不同配比的药量变化进行比较，研究了厚朴三物汤、小承气汤和厚朴大黄汤的泻下作用；胡晓阳^[3]则采用均匀设计法，探究了大黄、枳实、厚朴配伍对泻下、镇咳和祛痰作用的影响；卢丹等^[4]研究了大黄、枳实、厚朴配伍对退热作用的影响。然而，以上研究主要围绕大黄、枳实、厚朴不同配比疗效的研究，其作用机制差异尚未涉及。

近年来，随着网络药理学和分子生物学的发展，中药方剂多成分、多靶点的复杂作用机制逐渐被揭示^[5-6]，赵旭龙^[7]利用网络药理学方法探讨大黄、枳

实和厚朴治疗肠梗阻的作用机制。然而，传统网络药理学方法在构建“药物-成分-靶点”网络的过程中，仅考虑了成分对靶点是否存在作用关系，忽视了中药剂量和成分含量对作用关系力度大小的考虑。针对以上不足，本研究首次提出“靶点受控力”（target-controlled force, TCF）的新概念，即靶点在中药复方中受中药剂量和成分含量影响而发挥疗效的大小，一定程度上解释中药剂量如何在人体内发挥多因微效综合调节作用。

本研究以厚朴三物汤、小承气汤和厚朴大黄汤的原方原量为依托，通过 TCF 来考察中药剂量和成分含量对药效物质基础分子网络的调控程度，以揭示大黄、枳实、厚朴不同配比的作用机制，为中药剂量如何实现在人体内的多因微效综合调节作用提供新思路。研究流程如图 1 所示。

1 材料与数据

1.1 确定中药剂量和成分含量

《方剂学》^[8]中详细记载了厚朴三物汤、小承气汤和厚朴大黄汤的原方原量，确定大黄、枳实、厚朴的使用剂量（表 1）。参考《中国药典》2020 年版一部^[9]以及大黄、枳实、厚朴相关物质基础研究^[10-14]确定大黄、枳实、厚朴的关键化学成分。从中国知网、万方、维普等数据库中查询关键化学成分的含量^[15-26]，为计算需要和减少误差，统一标准，

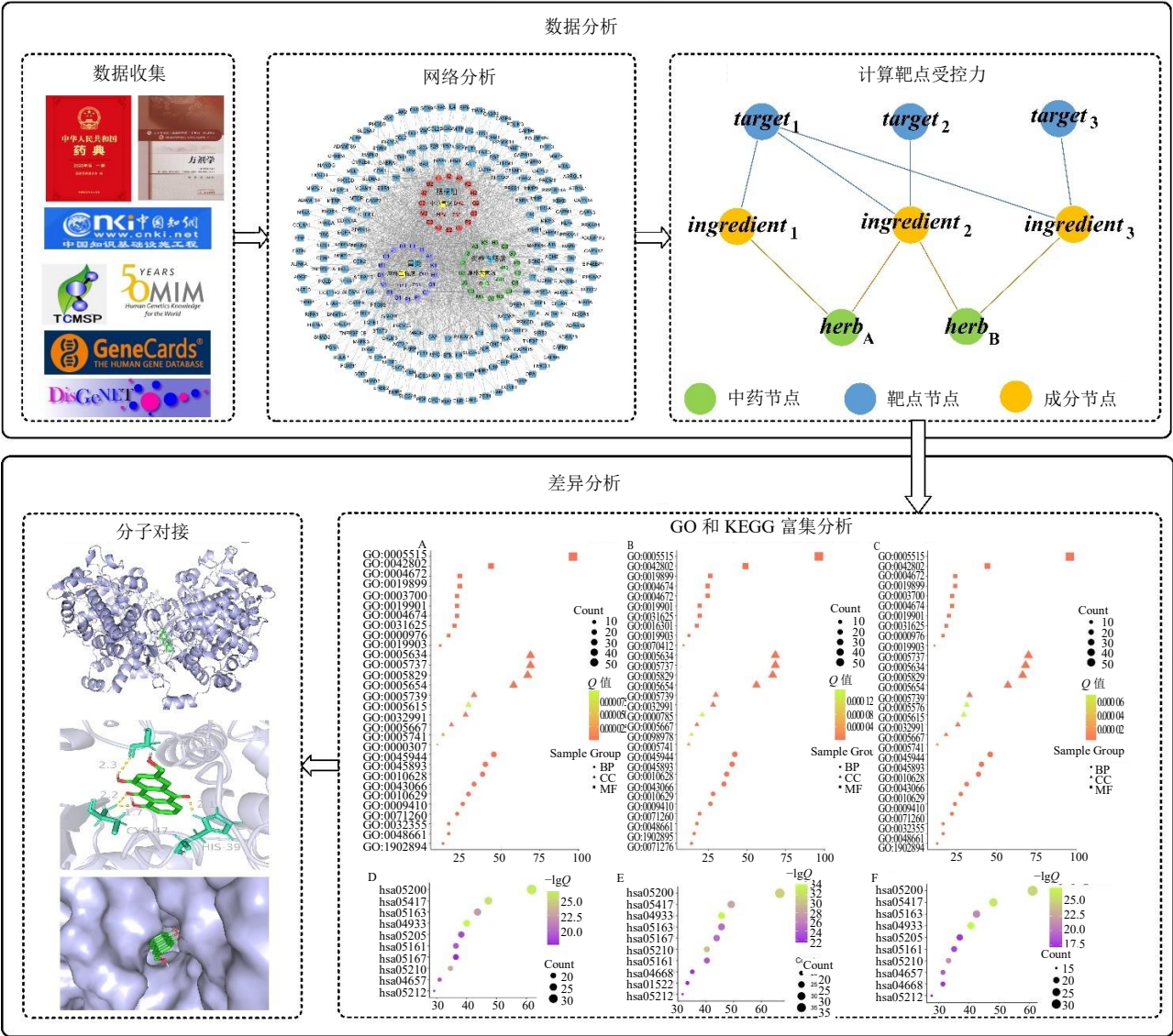


图 1 研究流程图

Fig. 1 Flow chart of this study

表 1 3 方的药味剂量

Table 1 Dosage of single medicine in three traditional Chinese medicine compounds

中药复方	剂量/g		
	大黄	枳实	厚朴
厚朴三物汤	12	15	24
小承气汤	12	9	6
厚朴大黄汤	18	12	24

本研究中药剂量的单位为 g，关键化学成分含量的单位为 mg/g，具体信息见表 2。

1.2 数据库与软件

中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP，<https://www.tcm-sp.com/>），HERB 数据库（<https://herb.ac.cn/>），GeneCards 数据库（<https://www.genecards.org/>），DisGeNET 数据库（<https://www.disgenet.org/>），人类在线孟德尔遗传数据库（OMIM，<https://www.omim.org/>），UniProt 数据库（<https://www.uniprot.org/>），Venny2.1.0（<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>），String 数据库（<https://cn.string-db.org/>），DAVID 数据库（<https://david-d.ncifcrf.gov/>），ImageGP 平台（<http://www.ehbio.com/ImageGP/>），蛋白结构数据库（PDB，<https://www.rcsb.org/>），PubChem 数据库（<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>）。Cytoscape3.9.1 软件、AutoDuck1.5.6 软件、OpenBabel2.3.2 软件和 PyMol 2.4.0 软件。

表 2 关键化学成分的含量

Table 2 Content of key chemical components

化学成分	质量分数/(mg·g ⁻¹)			化学成分	质量分数/(mg·g ⁻¹)		
	最高	最低	平均		最高	最低	平均
芦荟大黄素	2.920	0.020	1.470	大黄酚苷	3.450	0.015	1.733
大黄酸	4.263	0.050	2.157	番泻苷 A	9.472	0.600	5.036
大黄素	3.110	0.020	1.565	橙皮苷	84.900	12.600	48.750
大黄素甲醚	12.979	0.010	6.495	柚皮苷	129.100	0.198	64.649
大黄酚	18.010	0.090	9.050	新橙皮苷	82.540	0.137	41.339
大黄素苷	38.400	0.187	19.293	辛弗林	6.423	0.158	3.291
芦荟大黄素苷	7.833	0.044	7.877	N-甲基酪胺	0.752	0.066	0.409
大黄酸苷	11.276	0.070	5.673	厚朴酚	48.900	0.030	24.465
大黄素甲醚苷	3.180	0.008	1.594	和厚朴酚	75.030	0.060	37.545

2 方法

2.1 收集化合物成分靶点与疾病靶点

通过 TCMSP 和 HERB 数据库检索各关键化学成分, 得到其相应的靶点。在 GeneCards、DisGeNET、OMIM 数据库中分别检索胃炎 (gastritis、stomach inflammation、gastric mucosa inflammation、acute gastritis、chronic gastritis、atrophic gastritis), 肠梗阻 (intestinal obstruction、bowel obstruction、ileus、small bowel obstruction、large bowel obstruction、gastrointestinal obstruction、mechanical obstruction), 炎症性肠病 [inflammatory bowel disease (IBD)、Crohn's disease、ulcerative colitis、intestinal inflammation、chronic intestinal inflammation、IBD flare、colonic inflammation], 获取疾病靶点。用 Venny 2.1 将大黄、枳实、厚朴的药物靶点与胃炎、肠梗阻和炎症性肠病的疾病靶点取交集, 得到交集靶点。

2.2 构建“疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络

运用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络, 明确中药、成分和靶点之间的对应关系。

2.3 获取关键靶点基因

将交集靶点导入 String 数据库构建蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络, 剔除游离靶点; 通过 Cytoscape 3.9.1 软件进行拓扑参数分析, 设置中位数为临界值, 将同时满足中介中心度 (betweenness centrality, BC)、节点紧密度 (closeness centrality, CC)、度中心性 (degree centrality, DC) 的靶点确定为关键靶点基因。

2.4 计算 TCF

2.4.1 步骤 1 计算靶点在中药复方中受中药和成分影响而发挥疗效的大小 (herb-ingredient-target correspondence, HIT)。设 $H=\{h_1, h_2, \dots, h_m\}$ 表示中药集合, m 为中药数量, $I=\{i_1, i_2, \dots, i_n\}$ 表示成分集合, n 为成分的数量, $T=\{t_1, t_2, \dots, t_z\}$ 表示靶点集合, z 为靶点数量, 针对任意靶点 t 的 HIT 计算表述公式如下。

$$\text{HIT}_t = \sum_{h=1}^m \sum_{i=1}^n M_{h,i} \cdot N_{i,t}$$

$M_{h,i}$ 表示中药与成分之间的对应关系, $N_{i,t}$ 表示成分与靶点之间的对应关系, 有对应关系计为 1, 否则为 0; HIT_t 表示靶点 t 在中药复方中受中药 h 和成分 i 影响而发挥疗效的大小

2.4.2 步骤 2 靶点在中药复方中受中药剂量和成分含量影响而发挥疗效的大小 (TCF)。设 $X=\{x_1, x_2, \dots, x_h\}$ 表示中药使用剂量集合, h 为中药, $Y=\{y_1, y_2, \dots, y_i\}$ 表示成分含量集合, i 表示成分, 针对任意靶点 t 的 TCF 计算公式如下。

$$\text{TCF}_t = \sum_{h=1}^m \sum_{i=1}^n M_{h,i} \times x_h \times N_{i,t} \times y_i$$

x_h 表示中药 h 的使用剂量, y_i 表示成分 i 的含量; TCF_t 表示靶点 t 在中药复方中受中药 h 及剂量 x_h 和成分 i 及含量 y_i 影响而发挥疗效的大小

以计算靶点 t 的 TCF 为例 (图 2), 假设靶点 t 受 i_1 、 i_2 、 i_3 共同作用, h_1 含有 i_1 、 i_2 , h_2 含有 i_2 、 i_3 , 故靶点 t_1 的 $\text{HIT}=4$, 而 $\text{TCF}=x_1 \times (y_1 + y_2) + x_2 \times (y_2 + y_3)$ 。

2.5 基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析

将得到的关键靶点基因导入 Cytoscape 3.9.1 软

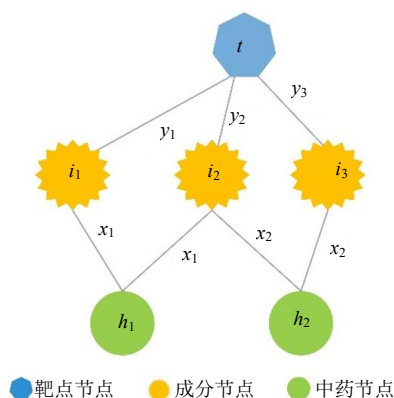


图 2 靶点受控力计算示意图

Fig. 2 Schematic diagram for calculating targets controlled force

件进行拓扑参数分析, 根据 DC 从大到小排序, 阈值 $\geq$ 中位数的基因确定为靶点, 称作集合 1。将 TCF 从大到小排序, 阈值 $\geq$ 中位数的基因确定为靶点, 称作集合 2。通过 DAVID 数据库分别对 2 组靶点集合进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。以 $P < 0.01$ 为筛选条件, 将前 10 条利用 ImageGP 平台进行可视化。

2.6 分子对接

为了验证 TCF 计算结果的可靠性, 借助 AutoDuckTools 1.5.6 软件, 采用柔性配体和刚性受体半柔性对接方法, 对“疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络中度值排名前 5 的化学成分与 TCF 排序前 5 位的靶点进行分子对接。在 PDB 数据库中获取蛋白质受体文件, 通过 AutoDuckTools 1.5.6 对其进行去水、加氢、平衡电荷等操作转化为 pdbqt 格式。在 PubChem 数据库中获取小分子药物 SDF 文件, 作为配体文件, 通过 OpenBabel 2.3.2 软件将其转化为 mol2 格式, 并通过 AutoDuckTools 1.5.6 对其进行平衡电荷, 将非极性氢原子与其对应碳原子合并等修饰获得 3D 结构, 后转化为 pdbqt 格式。将配体和受体的 pdbqt 文件导入 AutoDuckTools 1.5.6, 构建活性口袋。在大分子设置中心, 设置参数 X、Y、Z 并保证蛋白质被全部覆盖。通过分子对接结果中的结合能水平判断受体-配体的结合程度, 并确定配体和受体的结合位点。将分子对接结果通过 PyMol 2.4.0 软件可视化。

3 结果

3.1 交集靶点的获取

依据关键化学成分确定药物靶点基因, 去重后共获得 246 个靶点。得到相关疾病靶点基因, 去重

后共获取胃炎的疾病靶点 12 760 个、肠梗阻的疾病靶点 10 877 个、炎症性肠病的疾病靶点 16 579 个。用 Venny 2.1 将药物靶点与疾病靶点取交集 (图 3), 得到厚朴三物汤作用于胃炎的靶基因 217 个, 小承气汤作用于肠梗阻的靶基因 200 个, 厚朴大黄汤作用于炎症性肠病的靶基因 219 个。

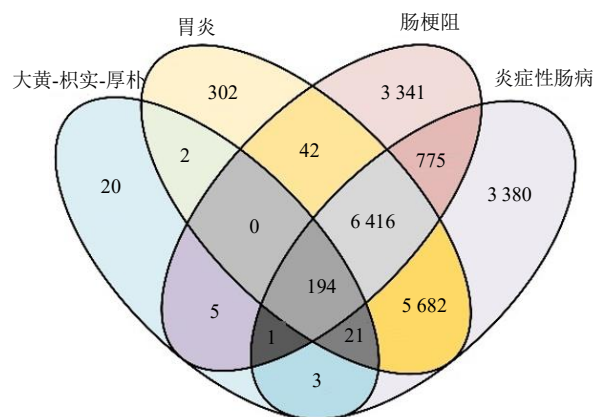


图 3 大黄-枳实-厚朴与胃炎、肠梗阻、炎症性肠病相关靶基因交集基因的韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of intersecting genes of *Rhei Radix et Rhizoma-Aurantii Fructus Immaturus-Magnoliae Officinalis Cortex* with gastritis, intestinal obstruction and inflammatory bowel disease

3.2 “疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络

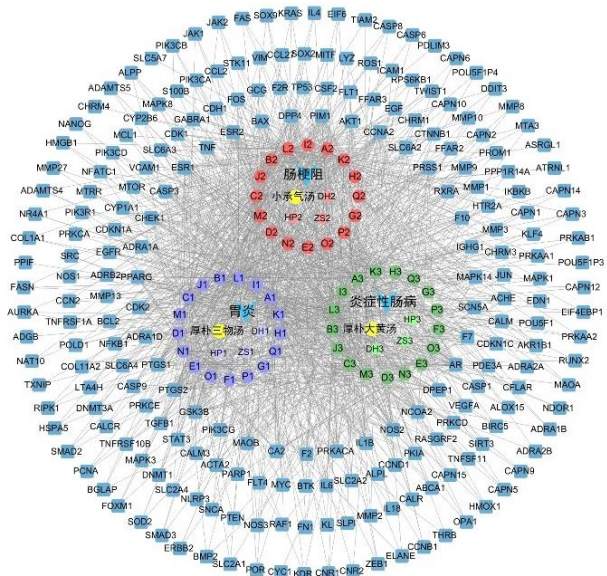
分别将收集到的疾病、方剂、药味、交集靶点及化学成分导入 Cytoscape 3.9.1 软件构建“疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络 (图 4)。其中按照度值排序前 5 的成分为和厚朴酚 (honokiol)、大黄素 (emodin)、芦荟大黄素 (aloe-emodin)、厚朴酚 (magnolol)、大黄酸 (rhein), 提示其为大黄-枳实-厚朴治疗胃炎、肠梗阻、炎症性肠病的关键成分。

3.3 关键靶基因的获取

分别将交集基因利用 String 数据库进行蛋白互作, 并通过 Cytoscape 3.9.1 软件进行拓扑参数分析 (表 3), 设置中位数为临界值, 将同时满足 BC、CC、DC 的靶点数分别为 86、81、87, 这些基因也是关键靶点基因。

3.4 TCF 分析

根据“3.2”项下“疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络, 计算“3.3”项下得到的关键靶点基因的 TCF。首先, 明确 3 味中药、成分和靶点之间的对应关系, 即 HIT。在此基础上, 考虑中药剂量和成分含量, 计算 TCF, 结果如表 4~6 所示。



DH-大黄; ZS-枳实; HP-厚朴; A-芦荟大黄素; B-大黄酸; C-大黄素; D-大黄素甲醚; F-大黄素苷; G-芦荟大黄素苷; H-大黄素甲醚苷; I-大黄酚苷; J-番泻苷 A; K-厚朴酚; L-和厚朴酚; M-橙皮苷; N-柚皮苷; O-新橙皮苷; P-辛弗林; Q-N-甲基酪胺。
DH-Rhei Radix et Rhizoma; ZS-Aurantii Fructus Immaturus; HP-Magnoliae Officinalis Cortex; A-aloe emodin; B-rhein; C-emodin; D-emodin methyl ether; F-emodin glycoside; G-aloe emodin glycoside; H-emodin methyl ether glycoside; I-chrysophanol glycoside; J-sennoside A; K-honokiol; L-honokiol; M-hesperidin; N-naringin; O-neohesperidin; P-synephrine; Q-N-methyltyramine.

图 4 “疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络图
Fig. 4 Network diagram of “disease-formula-traditional Chinese medicine-component-target”

表 3 交集基因的拓扑参数

疾病	BC	CC	DC
胃炎	0.001	0.528	39
肠梗阻	0.001	0.546	41
炎症性肠病	0.001	0.526	38

考虑剂量和成分含量后,厚朴三物汤治疗胃炎时,靶基因细胞周期蛋白 A2 (cyclin A2, *CCNA2*) 排序由第 78 位升至第 3 位,变化幅度达 75 位;白细胞介素-6 (interleukin-6, *IL-6*) 排序由第 2 位降至第 18 位,变化幅度达 16 位。小承气汤治疗肠梗阻时,靶基因雌激素受体 2 (estrogen receptor 2, *ESR2*) 排序由第 67 位升至第 3 位,变化幅度达 64 位;Jun 原癌基因 (*JUN*) 排序由第 9 位降至第 20 位,变化幅度达 11 位。厚朴大黄汤治疗炎症性肠病时,靶基因 *ESR2* 由第 70 位升至第 5 位,变化幅度达 65 位; *IL-6* 排序由第 2 位降至第 14 位,变化幅度达 12 位。研究还发现, *SMAD* 家族成员 2 (*SMAD2*)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 8 (cysteinaspartate protease 8, *CASP8*) 等靶基因前后排序无变化,可能与其成分归属较少,受剂量和成分含量影响低有关。此外,前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, *PTGS2*) 在 3 方治疗时,排序变化幅度均为 1 位,受影响小,

表 4 厚朴三物汤作用于胃炎交集靶点调控力的计算结果

基因	度值	度值排序	TCF	TCF 排序	变化幅度
<i>PTGS2</i>	107	21	4 316.169	1	↑20
<i>ESR1</i>	109	18	3 557.988	2	↑16
<i>CCNA2</i>	52	78	3 420.996	3	↑75
<i>PPARG</i>	113	17	3 326.472	4	↑13
<i>ESR2</i>	55	70	3 326.472	4	↑66
<i>GSK3B</i>	99	25	3 087.987	6	↑19
<i>CASP3</i>	128	8	2 901.879	7	↑1
<i>TNF</i>	146	1	2 520.279	8	↓7
<i>MAPK14</i>	70	46	2 356.737	9	↑37
<i>CDK2</i>	64	55	2 356.737	9	↑46
<i>AKT1</i>	143	3	2 238.270	11	↓8
<i>PRKACA</i>	64	55	2 222.685	12	↑43
<i>BCL2</i>	129	7	1 658.214	13	↓6
<i>CTNNB1</i>	120	10	1 651.110	14	↓4
<i>MTOR</i>	98	26	1 632.330	15	↑9
<i>CASP9</i>	82	36	1 632.330	15	↑21
<i>IL1B</i>	131	5	1 550.544	17	↓12
<i>IL6</i>	144	2	1 514.124	18	↓16
<i>FOS</i>	109	18	1 507.020	19	↓1
<i>CDK1</i>	56	69	1 505.880	20	↑49

表 5 小承气汤作用于肠梗阻交集靶点调控力的计算结果

Table 5 Calculation results of regulatory force of Xiaochengqi Decoction on intersection targets of intestinal obstruction					
基因	度值	度值排序	TCF	TCF 排序	变化幅度
<i>PTGS2</i>	108	18	2 269.107	1	↑17
<i>ESR1</i>	107	20	2 248.311	2	↑18
<i>PPARG</i>	110	16	1 574.364	3	↑13
<i>ESR2</i>	55	67	1 574.364	3	↑64
<i>GSK3B</i>	98	25	1 431.273	5	↑20
<i>CASP3</i>	125	8	1 245.165	6	↓2
<i>TNF</i>	141	1	1 016.205	7	↓6
<i>MAPK14</i>	70	45	992.523	8	↑37
<i>CDK2</i>	63	55	992.523	8	↑47
<i>PRKACA</i>	61	58	858.471	10	↑48
<i>AKT1</i>	139	3	829.590	11	↓8
<i>BCL2</i>	126	7	689.904	12	↓5
<i>CTNNB1</i>	119	9	682.800	13	↓4
<i>MTOR</i>	96	27	664.020	14	↑13
<i>CASP9</i>	81	36	664.020	14	↑22
<i>CDKN1A</i>	82	34	618.261	16	↑17
<i>VCAMI</i>	66	49	585.522	17	↑32
<i>PIK3CG</i>	41	79	578.562	18	↑61
<i>MYC</i>	115	13	475.170	19	↓6
<i>JUN</i>	119	9	464.634	20	↓11

表 6 厚朴大黄汤作用于炎症性肠病交集靶点调控力的计算结果

Table 6 Calculation results of regulatory effect of Houpo Dahuang Decoction on intersection targets of inflammatory bowel disease					
基因	度值	度值排序	TCF	TCF 排序	变化幅度
<i>PTGS2</i>	108	20	4 101.090	1	↑19
<i>ESR1</i>	109	18	3 479.988	2	↑16
<i>CCNA2</i>	52	78	3 274.500	3	↑75
<i>PPARG</i>	113	17	3 136.714	4	↑13
<i>ESR2</i>	55	70	3 132.714	5	↑65
<i>GSK3B</i>	100	25	2 945.926	6	↑19
<i>CASP3</i>	129	8	2 662.764	7	↑1
<i>TNF</i>	147	1	2 357.484	8	↓7
<i>MAPK14</i>	70	46	2 356.926	9	↑37
<i>CDK2</i>	64	55	2 356.926	10	↑45
<i>PRKACA</i>	64	55	2 155.848	11	↑44
<i>AKT1</i>	144	2	2 101.410	12	↓10
<i>IL1B</i>	131	6	1 581.696	13	↓7
<i>IL6</i>	144	2	1 527.066	14	↓12
<i>BCL2</i>	130	7	1 524.906	15	↓8
<i>FOS</i>	109	18	1 516.410	16	↑2
<i>CTNNB1</i>	120	10	1 514.250	17	↓7
<i>CCND1</i>	101	23	1 488.240	18	↑5
<i>MMP3</i>	58	65	1 488.240	19	↑46
<i>CDK1</i>	56	69	1 488.240	20	↓49

提示 *PTGS2* 是治疗胃炎、肠梗阻和炎症性肠病的重要靶基因。

3.5 GO 和 KEGG 富集分析

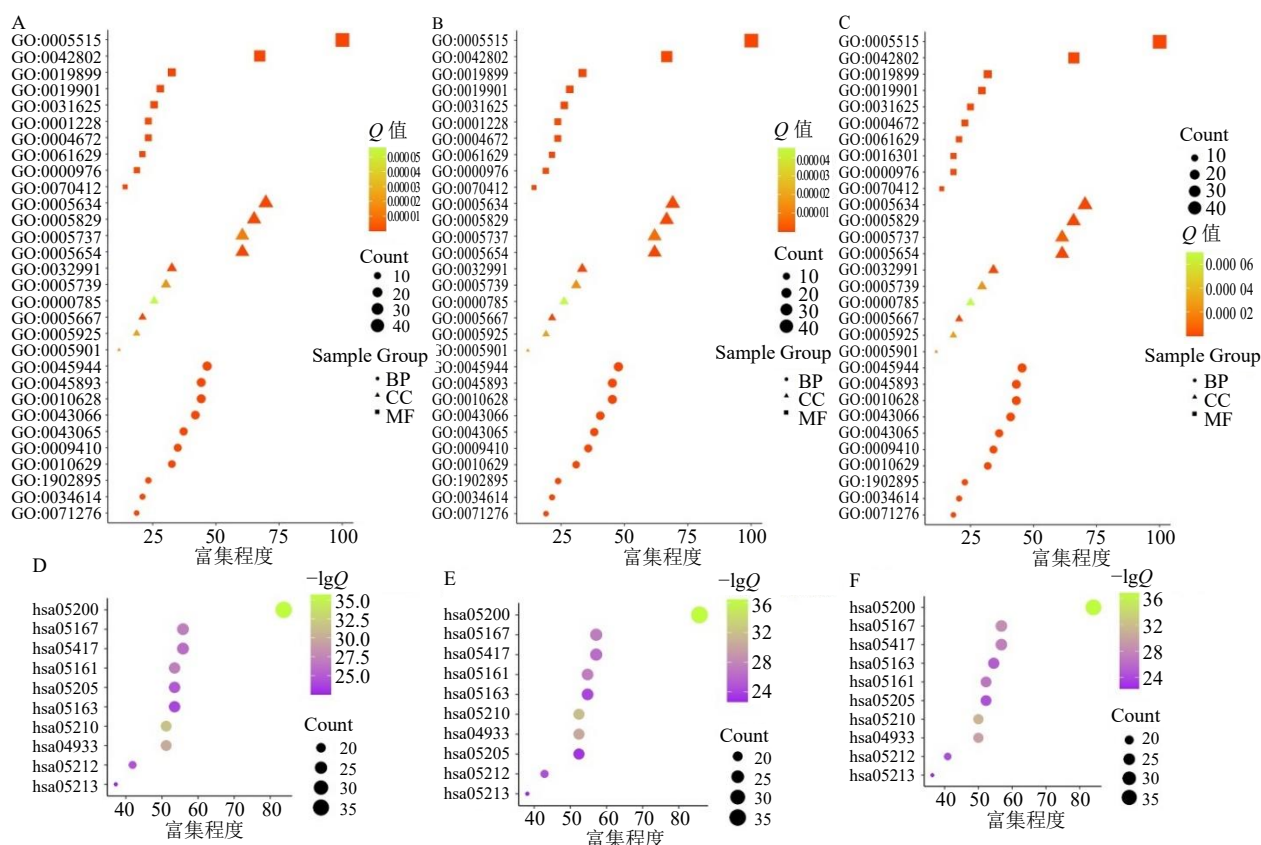
将关键靶点基因分别按照 DC 和 TCF 从大到小排序，设置中位数为临界值，确定核心靶点（表 7）。分别将核心靶点导入 DAVID 数据库，设置“Homo sapiens”，进行 GO 和 KEGG 通路富集分析，以 $P < 0.01$ 筛选出关键候选通路（图 5、6）。

表 7 各靶点 DC 和 TCF 中位数及集合数

Table 7 Median and aggregate number of DC and TCF of each intersecting gene

疾病	DC	TCF	集合 1	集合 2
胃炎	74.5	901.08	43	55
肠梗阻	76.0	225.27	42	57
炎症性肠病	73.0	901.08	44	54

KEGG 通路分析显示（表 8~10），传统网络药理学通路排序与靶点受控后排序变化明显，厚朴三物汤治疗胃炎时，IL-17 信号通路排序由第 20 位升至第 7 位，卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染信号通路排序由第 5 位降至第 10 位；小承气汤治疗肠梗阻时，肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）信号通路排序由第 18 位升至第 10 位，乙型肝炎信号通路由第 4 降至第 7 位；厚朴大黄汤治疗炎症性肠病，IL-17 信号通路排序由第 21 位升至第 6 位，癌症信号通路由第 1 降至第 3 位。结果提示，厚朴三物汤治疗胃炎、小承气汤治疗肠梗阻及厚朴大黄汤治疗炎症性肠病皆与糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物-晚期糖基化终产物受体（advanced glycation end products-receptor for advanced glycosylation end products, AGE-RAGE）信号通路密切相关。



BP-生物过程；CC-细胞成分；MF-分子功能；A、D-胃炎的 GO 和 KEGG 气泡图；B、E-肠梗阻的 GO 和 KEGG 气泡图；C、F-炎症性肠病的 GO 和 KEGG 气泡图；图 6 同。

BP-biological processes; CC-cell component; MF-molecular function; A, D-GO and KEGG bubble plots of gastritis; B, E-GO and KEGG bubble plots of intestinal obstruction; C, F-GO and KEGG bubble plots of inflammatory bowel disease; same as fig. 6.

图 5 集合 1 的 GO (A、B、C) 和 KEGG (D、E、F) 富集分析气泡图

Fig. 5 GO (A, B and C) and KEGG (D, E and F) enrichment analysis bubble charts for set 1

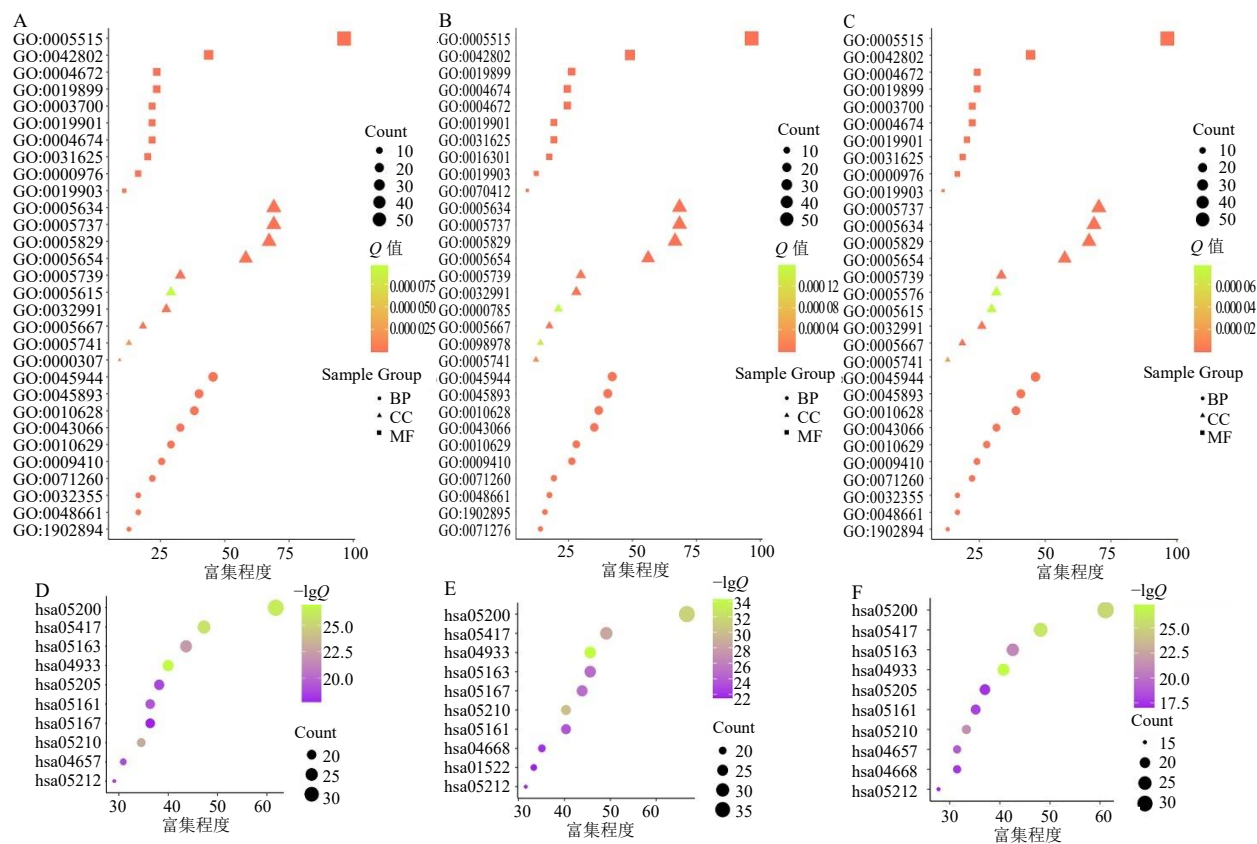


图 6 集合 2 的 GO (A、B、C) 和 KEGG (D、E、F) 富集分析气泡图
Fig. 6 GO (A, B and C) and KEGG (D, E and F) enrichment analysis bubble charts for set 2

表 8 厚朴三物汤治疗胃炎的关键靶点 KEGG 富集通路及排序

Table 8 KEGG enrichment pathway and ranking of key targets of Houpo Sanwu Decoction in treatment of gastritis

通路	通路	传统网络药理学排序	靶点受控后排序	变化幅度
hsa04933	糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路	3	1	↑2
hsa05200	癌症通路	1	2	↓1
hsa05417	脂质与动脉粥样硬化	6	3	↑3
hsa05210	结直肠癌	2	4	↓2
hsa05163	人巨细胞病毒感染	9	5	↑4
hsa05161	乙型肝炎	4	6	↓2
hsa04657	IL-17 信号通路	20	7	↑13
hsa05205	癌症中的蛋白聚糖	7	8	↓1
hsa05212	胰腺癌	8	9	↓1
hsa05167	卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染	5	10	↓5

3.6 分子对接

将“疾病-方剂-中药-成分-靶点”网络中度值排名前 5 位的成分和厚朴酚、大黄素、芦荟大黄素、厚朴酚、大黄素与 6 个靶点 PTGS2、雌激素受体 1 (ESR1)、CCNA2、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPARG)、ESR2、糖原合酶激酶 3 β (glycogen synthase

kinase 3 β , GSK3B) 分别进行分子对接, 结合能越小, 化学成分和靶蛋白之间结合越稳定。结果表明, 各成分与靶点成功对接, 其中 PTGS2 与芦荟大黄素具有最低结合能 (-5.68 kcal/mol, 1 kcal=4.2 kJ), 提示两者之间结合潜力最强 (表 11)。分子对接显示, PTGS2 和芦荟大黄素在组氨酸(histidine, HIS) 39、半胱氨酸(cysteine, CYS)47 和甘氨酸(glycine,

表 9 小承气汤治疗肠梗阻的关键靶点 KEGG 富集通路及排序情况

Table 9 KEGG enrichment pathway and ranking of key targets of Xiaochengqi Decoction in treatment of intestinal obstruction

通路	通路	传统网络药理学排序	靶点受控后排序	变化幅度
hsa04933	糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路	3	1	↑2
hsa05200	癌症信号通路	1	2	↓1
hsa05210	结直肠癌	2	3	↓1
hsa05417	脂质与动脉粥样硬化	6	4	↑2
hsa05167	卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染	5	5	0
hsa05163	人巨细胞病毒感染	8	6	↑2
hsa05161	乙型肝炎	4	7	↓3
hsa04668	TNF 信号通路	18	8	↑10
hsa05212	胰腺癌	7	9	↓2
hsa01522	内分泌抵抗	12	10	↑2

表 10 厚朴大黄汤治疗炎症性肠病的关键靶点 KEGG 富集通路及排序情况

Table 10 KEGG enrichment pathway and ranking of key targets of Houpo Dahuang Decoction in treatment of inflammatory bowel disease

通路	通路	传统网络药理学排序	靶点受控后排序	变化幅度
hsa04933	糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路	3	1	↑2
hsa05417	脂质与动脉粥样硬化	5	2	↑3
hsa05200	癌症信号通路	1	3	↓2
hsa05210	结直肠癌	2	4	↓2
hsa05163	人巨细胞病毒感染	7	5	↑2
hsa04657	IL-17 信号通路	21	6	↑15
hsa05161	乙型肝炎	6	7	↓1
hsa04668	TNF 信号通路	19	8	↑11
hsa05205	癌症中的蛋白聚糖	8	9	↓1
hsa05212	胰腺癌	9	10	↓1

表 11 分子对接的结合能

Table 11 Binding energy of molecular docking

成分 (PubChem ID)	结合能/(kcal·mol ⁻¹)					
	PTGS2	ESR1	CCNA2	PPARG	ESR2	GSK3B
	(PDB ID 5F19)	(PDB ID 4XI3)	(PDB ID 7MKX)	(PDB ID 8WFE)	(PDB ID 5TOA)	(PDB ID 6GN1)
和厚朴酚 (72303)	-3.07	-3.25	-3.59	-2.83	-4.17	-2.66
大黄素 (3220)	-4.67	-3.98	-3.32	-4.89	-3.36	-2.57
芦荟大黄素 (10207)	-5.68	-4.60	-3.12	-3.10	-4.23	-2.79
厚朴酚 (72300)	-2.63	-3.33	-2.64	-4.00	-2.88	-2.88
大黄酸 (10168)	-3.09	-4.16	-3.46	-3.49	-2.33	-2.42

GLY) 135 的残基处形成氢键 (图 7)。

4 讨论

本研究通过引入 TCF 以考察中药剂量和成分

含量对药效物质基础分子网络的调控程度, 分别对厚朴三物汤治疗胃炎、小承气汤治疗肠梗阻和厚朴大黄汤治疗炎症性肠病的作用机制进行分析, 发现

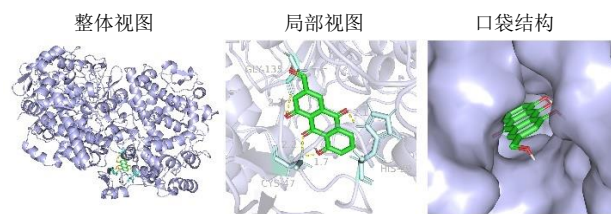


图 7 PTSG2 与大黄素的分子对接图

Fig. 7 Molecule docking diagram of PTSG2 and emodin

在考虑剂量因素后，靶点排序较传统网络药理学变化明显。在传统网络药理学中，厚朴三物汤治疗胃炎、小承气汤治疗肠梗阻、厚朴大黄汤治疗炎症性肠病主要通过影响 TNF、IL-6、蛋白激酶 B1 (protein kinase B1, Akt1)、P53 基因 (cellular tumor antigen p53, TP53)、信号转导-转录活化因子 3 (signal transducers and activators of transcription 3, STAT3) 等靶点，作用于癌症、癌症中的蛋白聚糖、结直肠癌、脂质与动脉粥样硬化等信号通路。但通过这种方法无法准确区分大黄-枳实-厚朴治疗 3 种疾病的作用机制差异。而考虑中药剂量和成分含量后，厚朴三物汤治疗胃炎影响 PTGS2、ESR1、CCNA2 等靶点，作用于癌症中的蛋白聚糖、IL-17 等信号通路；小承气汤治疗肠梗阻影响 PTGS2、ESR1、PPARG 等靶点，作用于 TNF、内分泌抵抗等信号通路；厚朴大黄汤治疗炎症性肠病影响 PTGS2、ESR1、CCNA2 等靶点，作用于 IL-17、TNF 等信号通路。其中，PTGS2 可以调节炎症反应和胃黏膜损伤修复过程，当肠道受到严重的炎症刺激，PTGS2 的活性可能会增加，导致前列腺素合成增加，从而影响肠道的炎症反应和蠕动功能^[27-28]。在炎症向癌症转化的过程中，CCNA2 表达量增加，已成为临床诊断肿瘤的关键生物标志物^[29]。ESR1 与肿瘤细胞的迁移和黏附密切相关^[30]，ESR1 可能通过影响细胞信号传导和免疫反应参与疾病的发生发展^[31]。PPARG 通过参与细胞分化、炎症反应等多种生理病理过程^[32]，维持肠道内稳定。

此外，本研究还发现考虑剂量和成分含量因素后，糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路发挥明显作用，是厚朴三物汤治疗胃炎、小承气汤治疗肠梗阻及厚朴大黄汤治疗炎症性肠病的关键信号通路。RAGE 的激活可能触发自分泌和旁分泌信号传导，加剧组织炎症反应和损伤^[33]。AGE-RAGE 信号通路的异常激活可能导致胃肠道屏障功能障碍，进而影响肠道微生物平衡，加剧肠道炎症^[34]。然而，

本研究仍然存在一定局限性。为了提高计算结果的可信度，并更全面地了解中药剂量和成分含量在疾病防治中的作用机制，需要进一步体内实验验证。

5 结论

本研究利用网络药理学方法，引入 TCF，探讨考虑中药剂量和化学成分含量因素后厚朴三物汤治疗胃炎、小承气汤治疗肠梗阻、厚朴大黄汤治疗炎症性肠病的作用机制。PTGS2、ESR1、PPARG、CCNA2 等靶点可能是潜在的差异关键基因。通过癌症中的蛋白聚糖、IL-17、TNF、内分泌抵抗信号通路等途径参与肠道运动、胃黏膜屏障功能、炎症反应等病理改变，解释厚朴三物汤、小承气汤、厚朴大黄汤调控胃肠道疾病的潜在机制及差异，为后续进一步明确临床方剂的量效调节机制提供可能的分子基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘静瑛, 刘健. 从小承气汤、厚朴三物汤、厚朴大黄汤探讨方药指向性 [J]. 国医论坛, 2021, 36(4): 3-5.
- [2] 陈琦, 杨雪梅, 徐成贺. 厚朴三物汤拆方及其药量变化的实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(9): 776-778.
- [3] 胡晓阳. 大黄、厚朴、枳实配伍对泻下、镇咳和祛痰作用的均匀设计实验研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2005.
- [4] 卢丹, 张萌, 张岩, 等. 大黄-枳实-厚朴不同配比对阳明病发热大鼠的退热作用及机制研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(6): 1047-1050.
- [5] 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.
- [6] 孙资金, 张凤君, 吉静, 等. 基于生物信息学与分子动力学的仙方活命饮治疗猴痘作用机制与分子靶点预测 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2197-2207.
- [7] 赵旭龙. 大黄、厚朴和枳实治疗肠梗阻的系统药理学研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2019.
- [8] 李冀, 左铮云. 方剂学 [M]. 第 5 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021: 9, 35, 88.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 24, 258, 263.
- [10] 王玉, 杨雪, 夏鹏飞, 等. 大黄化学成分、药理作用研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4821-4837.
- [11] 王亦君, 冯舒涵, 程锦堂, 等. 大黄蒽醌类化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 227-234.
- [12] 吕青林, 冯锋. 枳实与青皮主要化学成分对比研究 [J].

- 北方药学, 2013, 10(5): 8-9.
- [13] 李晓婷, 李纯, 龚旭昊, 等. 基于有效物质基础的枳实药材的质量控制体系研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(10): 696-700.
- [14] 荆文光, 赵小亮, 常潞, 等. 基于血清药物化学和网络药理学的厚朴“下气除满”药效物质基础和作用机制研究 [J]. 中国现代中药, 2022, 24(4): 652-664.
- [15] 任伟光. 基于化学成分测定的中药大黄质量评价研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2011.
- [16] 贾志鑫, 刘力榕, 张银环, 等. UHPLC-FLD法测定不同产地大黄中 6 种大黄蒽醌 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 926-931.
- [17] 严辉, 谢舒平, 濮宗进, 等. 基于 UPLC-PDA 指纹图谱及多成分含量的化学模式识别法评价大黄质量 [J]. 中草药, 2020, 51(18): 4755-4762.
- [18] 龚小红, 赵梦杰, 党珏, 等. 基于主成分分析不同产地大黄 13 个成分量的比较研究 [J]. 中草药, 2017, 48(23): 4994-4999.
- [19] 冯素香, 王哲, 郝蕊, 等. HPLC 法同时测定不同产地掌叶大黄中 10 个蒽醌类化合物 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(5): 783-788.
- [20] 毛春芳, 施忠, 罗琳, 等. HPLC 法同时测定大黄中芦荟大黄素等 11 种成分的量 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2400-2403.
- [21] 吴锦玉, 吴建国, 吴锦忠, 等. HPLC 法同时测定不同产地厚朴叶中 7 个成分的含量 [J]. 海峡药学, 2018, 30(10): 74-76.
- [22] 张权, 荆文光, 程显隆, 等. 基于 9 种成分测定的厚朴炮制过程质量传递规律研究 [J]. 中草药, 2020, 51(3): 647-652.
- [23] 荆文光, 张权, 邓哲, 等. 指纹图谱、多成分定量与化学计量学相结合的厚朴药材质量评价 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 975-982.
- [24] 曾宪仪, 陈小红, 肖鸣, 等. HPLC 法测定枳壳、枳实中辛弗林和 *N*-甲基酪胺的含量 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(6): 42-43.
- [25] 黄雪丽, 陈玉宇, 尧爱珉, 等. HPLC 法测定枳实不同炮制品中有效成分的含量 [J]. 广州化工, 2013, 41(9): 141-143.
- [26] 吴学瑾, 陈建真, 袁华. 基于枳实和枳壳中辛弗林和挥发油含量分析探讨其功效差异 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(3): 665-667.
- [27] Silva M, Azenha D, Pereira C, *et al.* Gastric carcinoma and chronic gastritis: Epigenetic regulation of CDH1 (*E-cadherin*), CDKN2A (*p16INK4A*), PTGS2 (*COX-2*) and *EGFR* genes through methylation [J]. *Acta Med Port*, 2010, 23(1): 5-14.
- [28] 李浩然, 张恩欣. 基于生信分析的炎症性肠病-结直肠癌转化关键基因及防治中药筛选 [J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33(3): 372-379.
- [29] 张川, 江佛湖, 戴强, 等. 胃癌及其癌前病变中转化生长因子 $\beta 1$ 、细胞周期蛋白 A 表达与细胞凋亡关系的研究 [J]. 胃肠病学, 2001, 6(2): 97-99.
- [30] Grinshpun A, Chen V, Sandusky Z M, *et al.* ESR1 activating mutations: From structure to clinical application [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, 1878(1): 188830.
- [31] 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.
- [32] 李强, 党诚学. PPAR γ mRNA 在胃癌组织中的表达及其与胃癌预后的关系 [J]. 实用癌症杂志, 2012, 27(1): 18-20.
- [33] Peng H, Gao Y Q, Zeng C Y, *et al.* Effects of Maillard reaction and its product AGEs on aging and age-related diseases [J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2024, 13(3): 1118-1134.
- [34] 韩登娥, 张杨. 附子理中汤治疗溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. 临床医学进展, 2024, 14(5): 998-1004.

[责任编辑 潘明佳]