◆网络药理学◆

# 基于网络药理学和分子对接探讨番连化浊颗粒治疗溃疡性结肠炎作用机制

黄嘉恩，梁冠仪，何鉴洪，戴卫波，李乐愚

广州中医药大学附属中山中医院，广东 中山 528401

［摘要］**目的**：通过网络药理学方法联合GEO基因芯片的分析方法，探讨番连化浊颗粒（FHK）治疗溃疡性结肠炎（UC）的作用机制。**方法**：通过中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）和本草组鉴平台（HERB）获取FHK的活性成分及对应靶点的基因，并利用Cytoscape软件构建“活性成分-药物靶点”调控网络；通过基因表达综合数据库（GEO）获得UC的差异表达基因；结合疾病的差异表达基因和药物的活性成分进行交集靶点的确定，并利用STRING数据库进行蛋白互作网络（PPI）的构建；对交集靶点进行基因本体（GO）功能和基因组百科全书（KEGG）通路富集分析；根据筛选后的核心成分和核心靶点，利用Autodock Vina软件进行分子对接验证，初步验证核心成分与靶点的结合度。**结果**：共筛选得到FHK有效成分83种，对应1 495个作用靶点；GEO数据得到UC差异表达基因973个；交集靶点41个为FHK治疗UC的潜在作用靶点。根据GO和KEGG的结果可知，FHK作用于UC主要涉及对脂多糖的反应、对细菌分子的反应、细胞因子的活化及其对信号通路的介导作用等生物进程，并主要作用于膜筏和膜微区，与肿瘤坏死因子、脂质和动脉粥样硬化、白细胞介素-17信号通路密切相关。分子对接模拟结果显示FHK的活性成分与核心靶点之间具有较高的结合度。**结论**：FHK治疗UC是通过多靶点、多途径、多通路共同作用实现的，其主要的作用机制可能集中在抗炎及免疫调节上。

［关键词］番连化浊颗粒；溃疡性结肠炎；网络药理学；分子对接；抗炎；免疫调节

［中图分类号］R336 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2025）02-0154-12

DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2025.02.029

## Exploration on Action Mechanism of Fanlian Huazhuo Granules for Ulcerative Colitis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

*HUANG Jia'en, LIANG Guanyi, HE Jianhong, DAI Weibo, LI Leyu*

Zhongshan Hospital of Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan Guangdong 528401, China

**Abstract: Objective:** To explore the action mechanism of Fanlian Huazhuo Granules (FHK) for ulcerative colitis (UC) by network pharmacology combined with Gene Expression Omnibus (GEO) gene chip analysis. **Methods:** The active components and corresponding target genes of FHK were obtained from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and the HERB database; Cytoscape software was used to construct an "active component-drug target" regulatory network; differentially expressed genes for UC were obtained from the GEO database; intersection targets were identified by combining differentially expressed genes of the

［收稿日期］2024-05-15
［修回日期］2024-10-22
［基金项目］广东省自然科学基金项目（2022A1515011307）
［作者简介］黄嘉恩（1986-），女，主管药师，E-mail：huangjiaen025@163.com。
［通信作者］李乐愚（1969-），男，教授，主任医师，E-mail：lileyu@139.com。

disease with the active components of the drug, and a protein-protein interaction (PPI) network was constructed using the STRING database; Gene Ontology (GO) functional and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses were performed on the intersection targets; based on the screened core components and core targets, molecular docking verification was conducted by Autodock Vina software to preliminarily verify the binding affinity between core components and targets. **Results**: A total of 83 active components of FHK were screened, corresponding to 1495 targets; GEO data revealed 973 differentially expressed genes for UC; there were 41 intersection targets being identified as potential targets for FHK in the treatment of UC. GO and KEGG results indicated that FHK primarily affected biological processes such as the response to lipopolysaccharides, response to bacterial molecules, activation of cytokines, and mediation of signaling pathways. These processes mainly occurred in membrane rafts and membrane microdomains and are closely related to tumor necrosis factor, lipid and atherosclerosis, and interleukin-17 signaling pathways. Molecular docking simulation results showed a high binding affinity between the active components of FHK and the core targets. **Conclusion**: The treatment of UC with FHK is achieved through multi-target, multi-pathway, and multi-process interactions. The primary action mechanism is likely focused on anti-inflammation and immune regulation.

**Keywords**: Fanlian Huazhuo Granules; Ulcerative colitis; Network pharmacology; Molecular docking; Anti-inflammation; Immune regulation

溃疡性结肠炎(UC)以持续或反复发作的腹泻、黏液脓血便伴腹痛、里急后重为主要表现[1]。是炎症性肠病(IBD)的两种主要形式之一，是黏膜免疫功能异常的重要类型。现代医学关于UC的发病机制的认识尚不明确，其发病可能与遗传、肠道微生物群、上皮细胞异常及免疫病理性的发生有关[2]，西医治疗存在相关的副作用、患者依从性较差以及复发率较高等缺点。中医学将UC归属于泄泻、痢疾等范畴，多由素体虚弱而导致脾虚不运，湿浊内蕴，肠道升清降浊功能失司所致[3]。中药具有成分多、作用靶点多和作用途经复杂等特点，其作为一种补充和替代的药物，在治疗UC方面具有明显的优势。

番连化浊颗粒(FHK)为广东省名中医李乐愚教授团队研发的广东省中医院制剂(批准文号：粤药制备字Z20230032000)，由番石榴叶、鬼箭羽、五指毛桃、桑叶、黄连、苍术、干姜、山楂、红曲、党参组成，具有健脾化痰、泄浊清热的功效。网络药理学通过构建“药物-靶点-疾病”网络，探索网络各节点生物功能与疾病的互作关系，为中医药研究提供新的思路[4]。本研究基于网络药理学对FHK治疗UC的活性成分、作用靶点、生物功能及信号通路等方面进行相关检索与分析，目的是对FHK治疗UC的作用机制进行初步的探究，为其他相关的研究提供依据，为其临床应用的筛选提供新的研究方向。

## 1 资料与方法

**1.1 数据库及软件** 中药系统药理学数据库与分析平台(tradition Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform，TCMSP，https://tcmsp-e.com，Version 2.3)；本草组鉴平台(HERB)(http://herb.ac.cn)；UniProt数据库(https://www.uniprot.org)；基因表达数据库(gene expression omnibus，GEO，https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds)；PDB数据库(https://www.pdbus.org)；STRING数据库(https://cn.string-db.org)；R语言(x64 4.2.1)；Perl语言(Version 5.30.2)；Bioconductor平台(http://www.bioconductor.org/，Version 3.14)；Draw Venn Diagram平台(https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/)；Cytoscape软件(Version 3.8.2)；Biogenet软件(Version 3.0.0)；CytoNCA软件(Version 2.1.6)；PyMOL软件(v2.5.2)；Auto Dock Tools软件(1.5.7)；ChemBio3D Ultra(Version 20.0)；微生信在线工具(http://www.bioinformatics.com.cn/)。

**1.2 FHK活性成分靶点筛选** 为收集五指毛桃、党参、苍术、鬼箭羽、桑叶、黄连、干姜的主要化学成分，通过检索中药数据库TCMSP，筛选口服生物

利用度（OB）≥30%、类药性（DL）≥0.18的活性成分，并对Uniprot数据库中已认证的人类基因进行整理，将得到的活性成分和数据库中的基因进行规范化匹配，得到活性成分的对应靶点。为收集番石榴叶、山楂、红曲的主要化学成分，通过检索HERB数据库，并根据Fisher确切概率法统计的结果，筛选出药物对应的基因靶点。综合上述数据库的结果，删除重复值，得到FHK活性成分的预测靶点。依照活性成分－药物靶点之间的对应关系导入至可视化软件Cytoscape中构建网络，并利用Cytoscape软件中的Network Analyze工具，根据Degree值判定活性成分-药物靶点的核心节点。

**1.3 UC差异基因筛选** 基因数据来源于GEO数据库中的GSE87466的芯片，该芯片包括21例健康受试者和87例中度至重度活跃性UC成人患者黏膜活检的基因表达数据，该片段平台为GPL13158[HT_HG-U133_Plus_PM]Affymetrix HT HG-U133+PM Array Plate。对数据集中的样品进行分组，利用R语言中的“limmar”包对健康受试者和UC患者结肠黏膜组织中每个探针进行$t$检验和贝叶斯检验，以$\log_2$(fold change)的绝对值＞1.0且$P$＜0.05为筛选标准，来定义差异表达探针，得到UC的差异基因。

**1.4 蛋白互作网络构建及可视化分析** 将1.2项筛选的FHK活性成分靶点与1.3项得到的UC差异基因合并取交集，得到交集基因，并通过Draw Venn Diagram平台绘制Venn图。将交集基因导入STRING数据库，物种选择Homo sapiens，最小连接系数设置为0.4，构建蛋白互作网络（Protein-Protein Interaction Network，PPI network），并导出该网络的tsv文件。将tsv文件导入Cytoscape软件，利用CytoNCA插件进行拓扑参数分析：“betweenness centrality（BC）”“degree centrality（DC）”“closeness centrality（CC）”，根据3个参数值的中位数筛选出FHK治疗UC靶点互作网络的核心节点。

**1.5 富集分析** 通过R语言插件Bioconductor平台数据包org.Hs.eg.db对交集基因进行编码，再利用Bioconductor平台的DOSE、clusterProfiler、enrichplot数据包进行基因功能富集分析（基因本体论，gene ontology，GO）和基因通路富集分析（京都基因与基因组百科全书，kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）。GO富集分析包含3个方面：细胞组分（cell component，CC），分子功能（molecular function，MF）和生物过程（biological process，BP），通过3个部分对交集的基因靶点进行作用机制注释，根据pvalueCutoff=0.05，qvalueCutoff=0.05，对每个部分的条目进行分析，利用微生信在线工具进行前10个条目的结果可视化。KEGG富集分析是对靶点所参与的信号进行注释，根据pvalueCutoff=0.05，qvalueCutoff=0.05，对每个部分排名前20的条目进行分析。依照活性成分-作用靶点-通路之间的对应关系导入至可视化软件Cytoscape中构建网络，得到三者的相互作用关系图。

**1.6 分子对接验证** 以PPI网络中核心靶点对应的活性成分，用于分子对接的活性成分，根据活性成成分在TCMSP中的InChIKey从PubChem数据库下载小分子化合物的2D结构，利用ChemBio 3D软件对分子结构进行结合能的优化，并保存其3D结构。通过UniProt数据库得到核心靶点的Entry名，并根据Entry名从PDB数据库中下载靶点的蛋白结构，利用PyMol软件去除水分子、氢的处理。运用Auto Dock Tools软件将小分子配体和大分子受体的格式文件转化为PDBQT格式文件，并设置分子对接的活性口袋，利用Auto Dock Vina软件进行分子对接模拟，对接结果以结合能（Affinity）的形式展示，并通过PyMol软件绘制对接结果图。

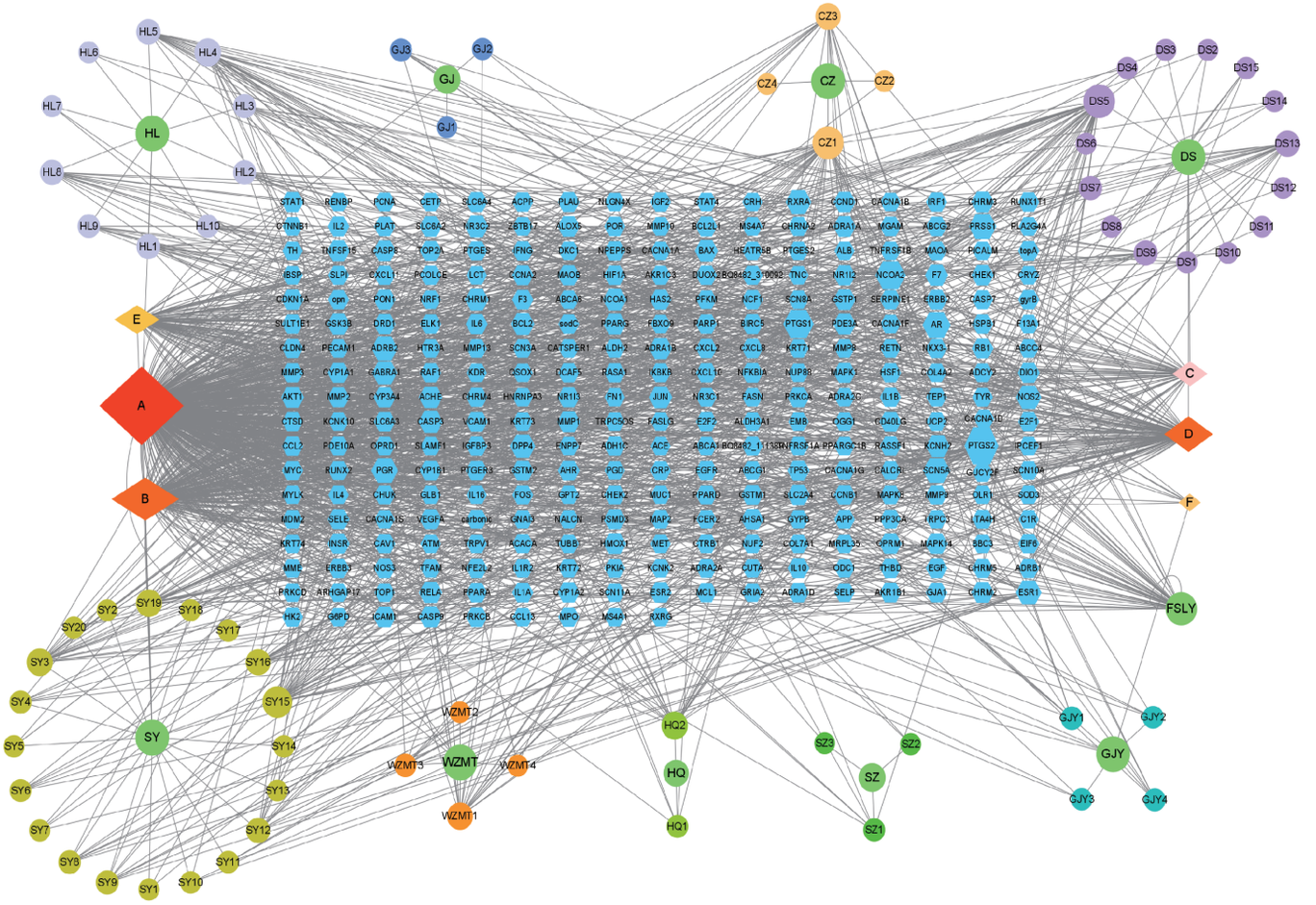
## 2 结果

**2.1 FHK活性成分靶点筛选结果** 通过检索TCMSP数据库（筛选条件为OB≥30%且DL≥0.18）和HERB数据库，得到FHK活性成分83个，包括番石榴叶（FSLY）1个、五指毛桃（WZMT）8个、党参（DS）17个、苍术（CZ）4个、山楂（SZ）3个、鬼箭羽（GJY）8个、桑叶（SY）24个、黄连（HL）11个、干姜（GJ）5个、红曲（HQ）2个，将TCMSP检索得到活性成分的对应靶点与Uniprot数据库中已认证的人类基因靶点相互映射，利用HERB数据库中Fisher确切概率法统计的结果筛选得到药物对应的基因靶点，最终得到对应的作用靶点共1 495个，经过删除重复值后得到299个基因靶点。将FHK 83个活性成分及相关靶点导入Cytoscape软件构建“活性成分-药物靶点”网络（见图1），得到380个节点，1 579条边。经Cytoscape的Network Analyze工具分析（见表1），得到自由度值由高到低排名前10的活性成分依次为：槲皮

素（quercetin，540）、山柰酚（kaempferol，156）、木犀草素（luteolin，104）、β-谷甾醇（beta-sitosterol，91）、豆甾醇（stigmasterol，54）、7-甲氧基-2-甲基异黄酮（7-Methoxy-2-methyl isoflavone，42）、汉黄芩素（wogonin，40）、花生四烯酸（arachidonic acid，35）、氢化小檗碱（（R）-Canadine，24）、维生素C（vitamin c，23），从而推测以上较高自由度值的活性成分为FHK的主要药效成分，并发挥主要的药理作用。

**2.2　UC差异基因筛选结果**　利用R语言对GSE87466芯片数据进行整理并分析，并制作火山图和热图（见图2）。以$\log_2$（fold change）的绝对值＞1.0且$P$＜0.05为筛选标准，得到健康受试者和中度至重度UC患者的差异表达基因973个，其中在UC患者结肠组织中上调基因617个，下调基因356个。

**2.3　FHK治疗UC的潜在作用靶点分析**　FHK作用靶点基因与UC差异表达基因取交集，得到41个交集基因作为潜在靶点，通过Draw Venn Diagram平台绘制Venn图（见图3）。将41个交集基因导入STRING在线数据库，物种选择Homo sapiens，最小连接系数设置为0.4，构建PPI网络，并导出该网络的tsv文件。将tsv文件导入Cytoscape软件，根据CytoNCA插件中Betweenness centrality（BC）、Closeness centrality（CC）和 Degree centrality（DC）值，对FHK治疗UC的核心靶点进行网络拓扑分析，得到自由度值大于37的靶点（中位数的2倍），筛选出10个核心靶点（见图4）。从表2可见，10个核心靶点的自由度值从大到小依次为白细胞介素6（IL6）、白细胞介素-1β（IL-1β）、基质



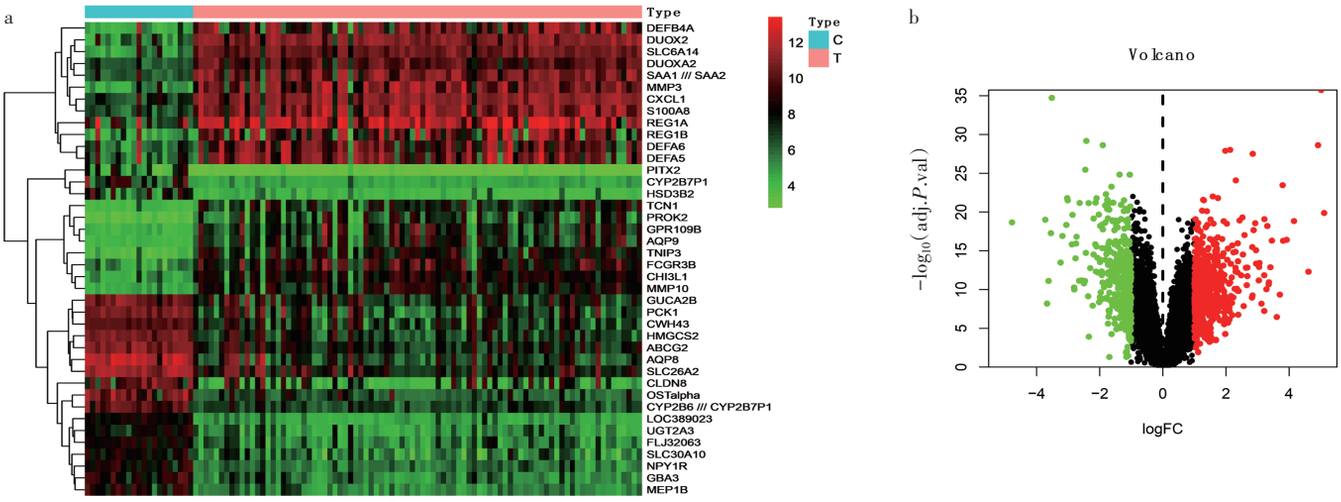

注：FSLY为番石榴叶；WZMT为五指毛桃；DS为党参；CZ为苍术；SZ为山楂；GJY为鬼箭羽；SY为桑叶；HL为黄连；GJ为干姜；HQ为红曲；A为鬼箭羽、黄连、桑叶共有成分；B为鬼箭羽、桑叶、五指毛桃共有成分；C为党参、桑叶共有成分；D为党参、五指毛桃共有成分；E为干姜、鬼箭羽、桑叶共有成分；F为干姜、鬼箭羽共有成分；圆形代表药物活性成分；六边形代表药物作用靶点

图1　FHK“活性成分-药物靶点”网络

表1　FHK“活性成分－药物靶点”网络化学成分拓扑分析数据

| 编号 | 化学成分 | 介数中心性 | 紧密度 | 自由度值 | 来源 | 编号 | 化学成分 | 介数中心性 | 紧密度 | 自由度值 | 来源 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| MOL000098 | 槲皮素 | 0.611 824 4 | 0.462 759 5 | 540 | A | MOL003856 | 桑辛素B | 5.44E-04 | 0.294 483 3 | 6 | SY6 |
| MOL000422 | 山柰酚 | 0.082 605 7 | 0.347 387 7 | 156 | B | HBIN015954 | 淀粉 | 0.026 245 6 | 0.179 535 8 | 6 | HQ1 |
| MOL000006 | 木犀草素 | 0.095 887 6 | 0.345 487 7 | 104 | D | MOL005100 | 橙皮素 | 7.07E-04 | 0.301 032 6 | 6 | GJY4 |
| MOL000358 | β-谷甾醇 | 0.039 773 2 | 0.320 371 9 | 91 | E | MOL003862 | 桑辛素H | 2.74E-04 | 0.297 721 9 | 5 | SY11 |
| MOL000449 | 豆甾醇 | 0.039 510 5 | 0.318 22 | 54 | C | MOL001420 | ZINC04073977 | 0.001 448 9 | 0.300 079 2 | 5 | GJY2 |
| MOL003896 | 7-甲氧基-2-甲基异黄酮 | 0.035 385 | 0.320 371 9 | 42 | DS5 | MOL003857 | 桑辛素C | 3.56E-04 | 0.292 212 8 | 4 | SY7 |
| HBIN026067 | 丁香酚 | 0.190 713 52 | 0.266 713 58 | 41 | FSLY | MOL003851 | 异罗马酮 | 6.33E-04 | 0.286 470 1 | 4 | SY5 |
| MOL000173 | 汉黄芩素 | 0.074 695 7 | 0.338 695 3 | 40 | CZ1 | MOL006630 | 降桂木生黄亭 | 9.73E-05 | 0.296 789 4 | 4 | SY17 |
| MOL001439 | 花生四烯酸 | 0.107 763 4 | 0.311 934 2 | 35 | SY15 | MOL000729 | 氧化血根碱 | 2.24E-04 | 0.300 079 2 | 4 | SY14 |
| MOL002903 | 氢化小檗碱 | 0.024 956 | 0.305 891 8 | 24 | HL4 | MOL003861 | 桑辛素G | 1.73E-04 | 0.285 176 8 | 4 | SY10 |
| HBIN048047 | 维生素C | 0.132 413 | 0.275 236 | 23 | HQ2 | MOL001755 | 豆甾-4-烯-3-酮 | 1.72E-04 | 0.261 559 7 | 4 | GJY3 |
| MOL002773 | β-胡萝卜素 | 0.021 474 5 | 0.304 907 5 | 22 | SY3 | MOL002501 | #NA | 0.001 613 7 | 0.297 721 9 | 4 | GJ2 |
| MOL001689 | 金合欢素 | 0.016 075 1 | 0.309 387 8 | 21 | WZMT1 | MOL003036 | ZINC03978781 | 6.11E-04 | 0.281 366 | 4 | DS4 |
| MOL007879 | 四甲氧基木犀草素 | 0.007 726 6 | 0.310 401 3 | 21 | SY19 | MOL002879 | 己二酸二异辛酯 | 4.25E-04 | 0.278 471 7 | 4 | DS3 |
| MOL000188 | 3β-乙酰氧基苍术酮 | 0.008 434 9 | 0.304 907 5 | 19 | CZ3 | MOL008411 | 11-羟基兰金断肠草碱 | 4.28E-04 | 0.280 948 9 | 4 | DS15 |
| MOL008400 | 黄豆黄素 | 0.016 969 2 | 0.308 380 8 | 18 | DS13 | MOL001006 | 豆甾-7-烯-3-醇 | 6.11E-04 | 0.281 366 | 4 | DS1 |
| MOL003759 | 鸢尾甲黄素A | 0.007 314 3 | 0.307 380 4 | 17 | SY16 | MOL001950 | 补骨脂素 | 0.005 294 2 | 0.265 964 9 | 3 | WZMT4 |
| MOL002904 | 氧化小檗碱 | 0.003 580 2 | 0.305 891 8 | 15 | HL5 | HBIN020984 | 柠檬酸 | 0.010 540 1 | 0.169 272 | 3 | SZ2 |
| MOL003879 | 4-异戊烯基氧基白藜芦醇 | 0.004 306 8 | 0.305 891 8 | 14 | SY12 | MOL013083 | 茵芋苷 | 0.001 106 8 | 0.295 862 6 | 3 | SY20 |
| MOL000785 | 黄藤素 | 0.002 485 | 0.305 891 8 | 14 | HL8 | MOL007179 | 亚麻酸乙酯 | 5.53E-05 | 0.296 325 3 | 3 | SY18 |
| MOL007059 | 3β-羟基甲基对苯醌 | 0.009 431 | 0.305 891 8 | 14 | DS9 | MOL001771 | poriferast-5-en-3beta-ol | 4.09E-04 | 0.291 762 9 | 3 | SY1 |
| MOL001454 | 小檗碱 | 0.003 479 6 | 0.305 398 9 | 13 | HL1 | MOL000622 | 广玉兰内酯 | 0.005 298 7 | 0.267 466 5 | 3 | HL7 |
| MOL002894 | 小檗红碱 | 0.001 290 3 | 0.304 417 7 | 11 | HL2 | MOL002907 | 黄麻甙A | 3.09E-04 | 0.276 844 4 | 3 | HL6 |
| MOL005321 | 灌木远志酮A | 0.002 845 5 | 0.304 907 5 | 11 | DS7 | MOL006774 | 豆甾-7-烯 | 4.04E-04 | 0.280 948 9 | 3 | DS8 |
| MOL003859 | 桑辛素E | 0.001 184 9 | 0.299 131 8 | 10 | SY9 | MOL004355 | 菠菜甾醇 | 3.30E-04 | 0.278 471 7 | 3 | DS6 |
| MOL002897 | 表小檗碱 | 0.002 382 9 | 0.302 957 6 | 10 | HL3 | MOL002140 | 川芎哚 | 5.13E-04 | 0.298 190 4 | 3 | DS2 |
| MOL003858 | 桑辛素D | 0.001 110 8 | 0.299 131 8 | 9 | SY8 | MOL008407 | #NA | 2.34E-04 | 0.235 257 6 | 3 | DS14 |
| MOL001458 | 黄连碱 | 7.69E-04 | 0.300 079 2 | 9 | HL9 | MOL000093 | 胡萝卜甙 | 1.42E-04 | 0.267 466 5 | 2 | WZMT2 |
| MOL003621 | 橙皮内酯水合物 | 0.002 221 4 | 0.299 604 7 | 8 | WZMT3 | HBIN044730 | 硬脂酸 | 0.005 277 | 0.169 120 9 | 2 | SZ3 |
| MOL001040 | (2R)-5,7-二羟基-2-(4-羟苯基)苯并二氢吡喃-4-酮 | 0.007 901 3 | 0.304 417 7 | 8 | GJY1 | MOL002218 | 东莨菪甙 | 2.41E-05 | 0.295 401 4 | 2 | SY2 |
| MOL000359 | 谷甾醇 | 8.49E-04 | 0.277 655 7 | 8 | F | MOL000433 | 脂肪酸 | 5.14E-05 | 0.279 704 8 | 2 | SY13 |
| HBIN014467 | 乙酰胆碱 | 0.057 070 3 | 0.253 173 | 7 | SZ1 | MOL002464 | 单亚油酸甘油酯 | 2.22E-04 | 0.286 903 9 | 2 | GJ1 |
| MOL003847 | 红厚壳(种)内酯 | 8.15E-04 | 0.298 660 4 | 7 | SY4 | MOL008397 | 曼陀罗灵 | 3.55E-04 | 0.222 026 9 | 2 | DS12 |
| MOL002668 | 甲基黄连碱 | 6.66E-04 | 0.298 660 4 | 7 | HL10 | MOL008393 | 7-木糖基紫杉醇B | 0.005 277 | 0.221 249 3 | 2 | DS11 |
| MOL002514 | 3,4′,5,7-四羟基-8-甲氧基黄酮 | 0.001 282 2 | 0.296 789 4 | 7 | GJ3 | MOL007514 | 顺式11,14-二十碳二烯酸甲酯 | 1.46E-04 | 0.276 844 4 | 2 | DS10 |
| | | | | | | MOL000085 | β-胡萝卜甙 | 1.14E-04 | 0.226 810 3 | 2 | CZ4 |
| | | | | | | MOL000184 | NSC63551 | 1.14E-04 | 0.226 810 3 | 2 | CZ2 |

注：FSLY为番石榴叶；WZMT为五指毛桃；DS为党参；CZ为苍术；SZ为山楂；GJY为鬼箭羽；SY为桑叶；HL为黄连；GJ为干姜；HQ为红曲；A为鬼箭羽、黄连、桑叶共有成分；B为鬼箭羽、桑叶、五指毛桃共有成分；C为党参、桑叶共有成分；D为党参、五指毛桃共有成分；E为干姜、鬼箭羽、桑叶共有成分；F为干姜、鬼箭羽共有成分




注：红色代表表达上调的基因，绿色代表表达下调的基因，颜色越深代表基因表达的差异性越大

图2　UC差异基因热图（a）和火山图（b）

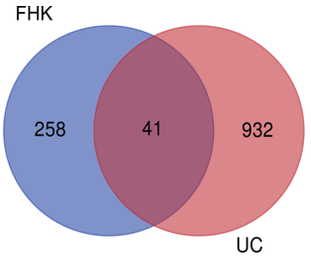



图3　UC与FHK靶点交集韦恩图

表2　FHK治疗UC核心靶点拓扑分析数据

| 靶点 | 靶点名称 | Degree centrality | Betweenness centrality | Closeness centrality |
|---|---|---|---|---|
| IL6 | 白细胞介素-6 | 64 | 213.134 95 | 0.327 272 7 |
| IL-1β | 白细胞介素-1β | 56 | 68.553 99 | 0.313 043 5 |
| MMP9 | 基质金属蛋白酶-9 | 54 | 70.879 | 0.313 043 5 |
| ICAM1 | 细胞间黏附分子-1 | 50 | 46.983 01 | 0.307 692 3 |
| CCL2 | 趋化因子配体-2 | 50 | 36.042 72 | 0.305 084 7 |
| VCAM1 | 血管细胞粘附分子-1 | 48 | 42.311 935 | 0.302 521 |
| PTGS2 | 前列腺素合成酶-2 | 46 | 29.255 62 | 0.3 |
| PECAM1 | 血小板内皮细胞黏附分子 | 44 | 76.482 52 | 0.3 |
| SELE | E选择素重组蛋白 | 38 | 11.697 559 | 0.290 322 6 |
| CXCL10 | CXC趋化因子配体10 | 38 | 10.641 233 | 0.290 322 6 |

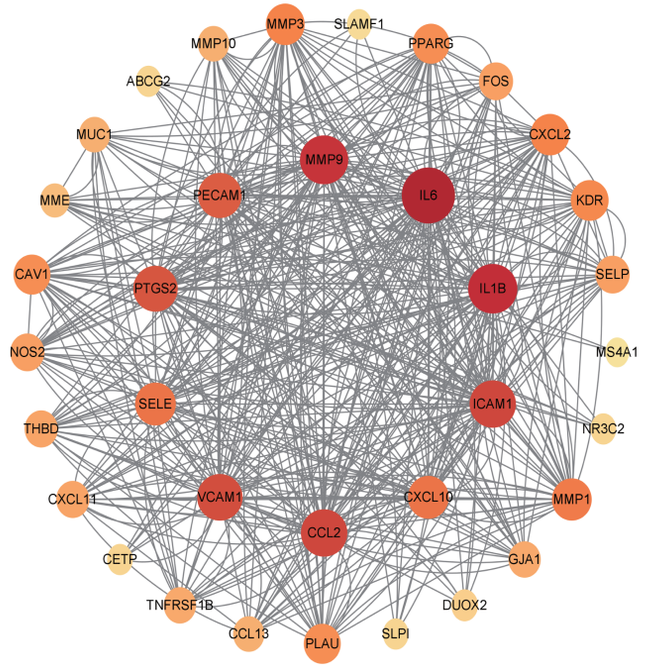



图4　FHK治疗UC核心靶点网络

金属蛋白酶-9(MMP9)、细胞间黏附分子-1(ICAM1)、趋化因子配体-2(CCL2)、血管细胞黏附分子-1(VCAM1)、前列腺素合成酶-2(PTGS2)、血小板内皮细胞黏附分子(PECAM1)、E选择素重组蛋白(SELE)、CXC趋化因子配体10(CXCL10)，这些靶点可能在FHK治疗UC的过程中起着较为重要的作用。

**2.4　GO功能富集分析**　通过R语言对41个交集靶点进行富集分析，根据pvalueCutoff=0.05，qvalueCutoff=0.05，得到GO富集分析功能条目641条，包含BP条目587条，涉及对脂多糖的反应(response to lipopolysaccharide)、对细菌分子的反应(response to molecule of bacterial origin)、白细胞游走(leukocyte migration)、细胞因子介导的信号通路(cytokine-mediated signaling pathway)、细胞趋化作用(cell

chemotaxis)等；CC条目14条，涉及膜筏(membrane raft)、膜微区(membrane microdomain)、质膜的外侧(external side of plasma membrane)、分泌颗粒膜(secretory granule membrane)、粘着斑(focal adhesion)等；MF条目40条，涉及细胞因子活性(cytokine activity)、细胞因子受体结合(cytokine receptor binding)、肽链内切酶活性(endopeptidase activity)、受体配体活性(receptor ligand activity)、信号受体激活剂活性(signaling receptor activator activity)等。根据*P*值列举各类排名前10的生物学功能条目(见图5)。

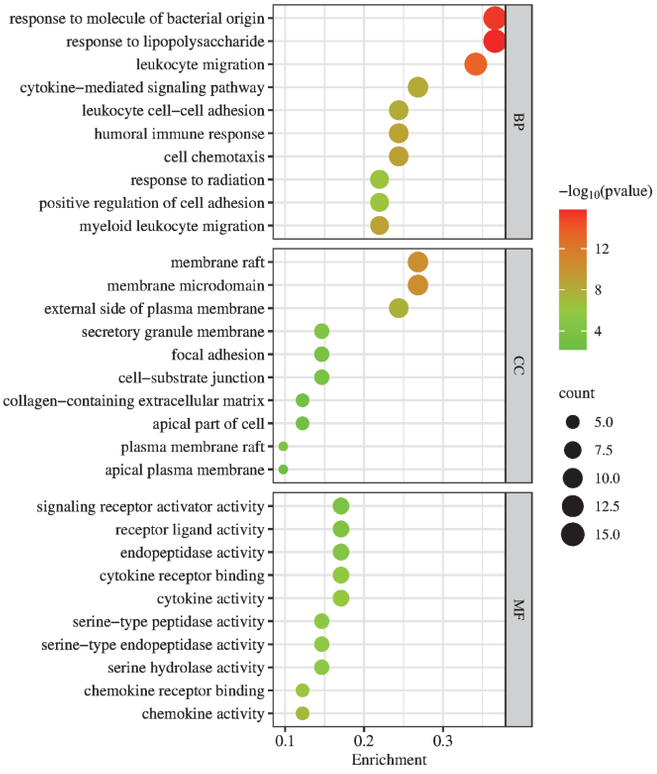



图5　GO功能富集分析

**2.5　KEGG通路富集分析**　通过R语言对41个交集靶点进行富集分析，根据pvalueCutoff=0.05，qvalueCutoff=0.05，得到KEGG相关富集通路40条，涉及TNF信号通路(TNF signaling pathway)、脂质和动脉粥样硬化(Lipid and atherosclerosis)、流体剪切应力与动脉粥样硬化(Fluid shear stress and atherosclerosis)、IL-17信号通路(IL-17 signaling pathway)等。根据*P*值列举排名前20的相关通路(见图6和表3)，并将主要的信号通路和作用靶点与药物活性成分的对应关系导入Cytoscape软件中，得到“活性成分-作用靶点-通路”相互作用关系图(见图7)。

**2.6　分子对接结果**　由“活性成分-药物靶点”网络可知，MOL000098(槲皮素)、MOL000422(山柰酚)、MOL000006(木犀草素)、MOL000358(β-谷甾醇)、MOL000449(豆甾醇)在FHK治疗UC中起着重要的作用。且由PPI核心网络中可知，IL6、IL-1β、MMP9、ICAM1、CCL2是FHK治疗UC的核心靶点。通过分子对接分析FHK中主要活性成分与核心靶点之间的结合能及结合模式，从TCMSP数据库中的InChIKey从PubChem数据库下载小分子化合物的2D结构，利用ChemBio 3D软件对分子结构进行结合能的优化，并得到其3D结构。通过PDB数据库获得IL6(1ALU)、IL-1β(3LTQ)、MMP9(1GKC)、ICAM1(1D3L)、CCL2(4DN3)的蛋白结构。利用Auto Dock Vina软件进行20次分子对接模拟，将10个活性成分分子与对应的蛋白结构进行模拟对接，对接结果以结合能(Affinity)的形式展示，结合能<0说明小分子化合物与大分子蛋白之间可以自主结合，分值越小说明结合越稳定。Affinity的绝对值≥7 kcal·mol$^{-1}$表示结合活性较好，Affinity绝对值≥9 kcal·mol$^{-1}$表示结合活性非常强[5-6]。对接结果见图8，颜色越深，代表结合能越小。利用PyMol软件对核心成分与各核心靶点结合度最低的前2个对接结果进行可视化(见图9)。

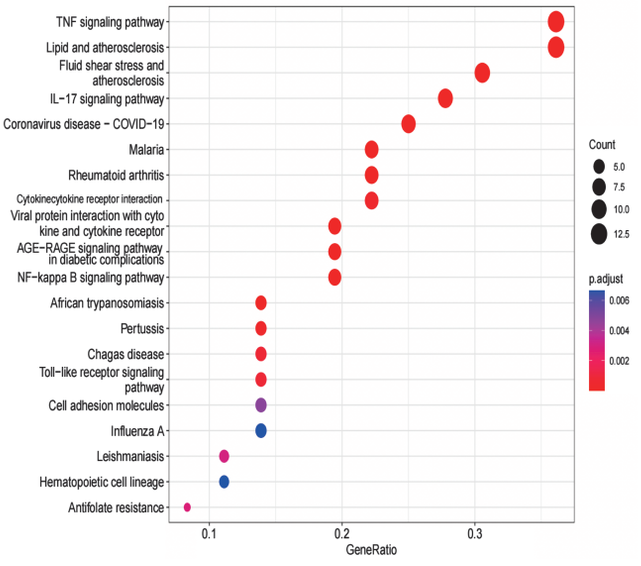
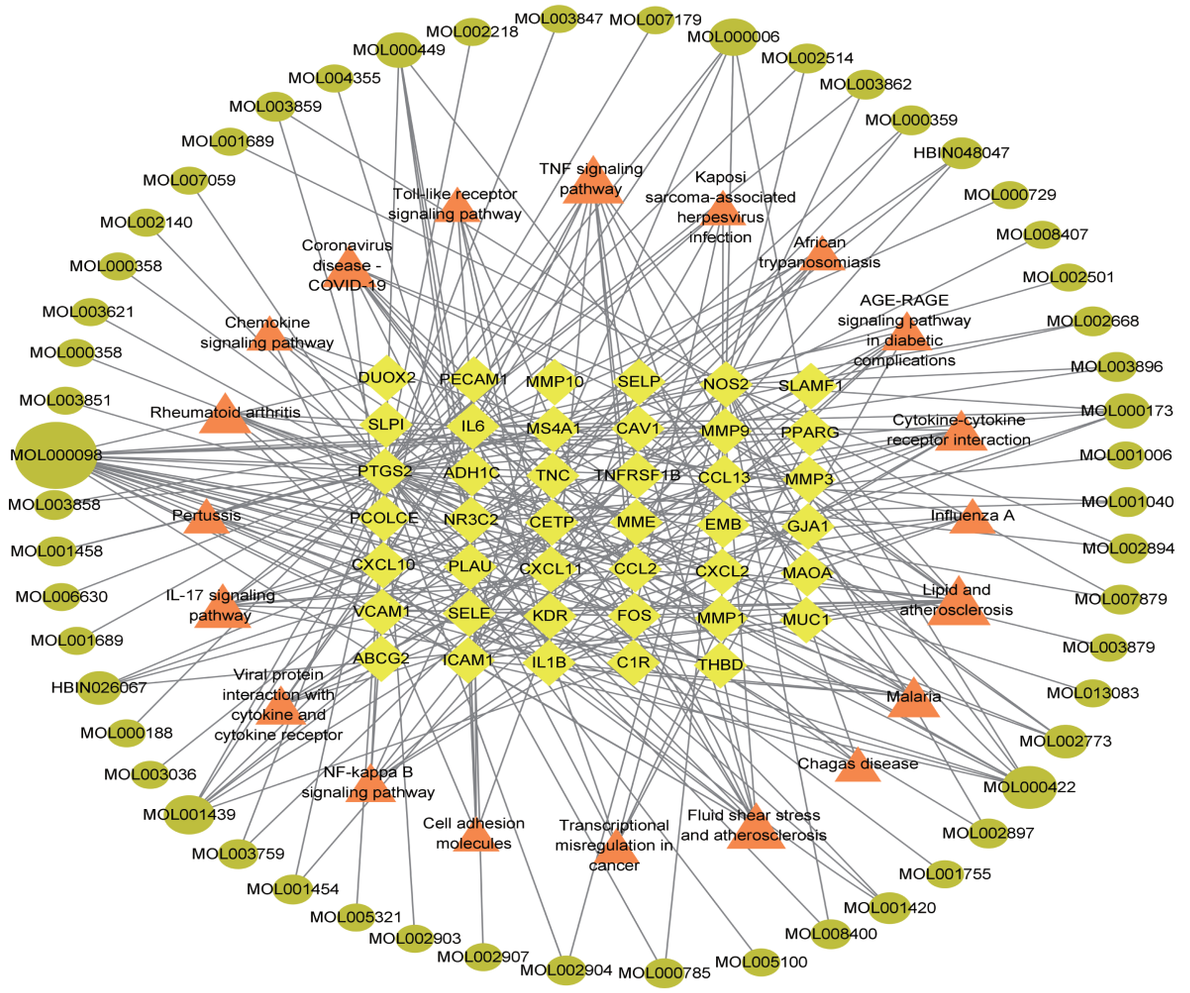



图6　KEGG通路富集分析气泡图




注：菱形代表药物与疾病的交集基因；圆形代表药物活性成分；三角形代表信号通路

图7　“活性成分-作用靶点-通路”相互作用关系图

表3　前20条KEGG通路关键靶点

| 编号 | 通路 | 基因数 | 基因名称 |
|---|---|---|---|
| hsa04668 | TNF signaling pathway | 13 | SELE/PTGS2/CCL2/IL6/MMP3/CXCL2/FOS/ICAM1/TNFRSF1B/CXCL10/VCAM1/IL1β/MMP9 |
| hsa05417 | Lipid and atherosclerosis | 13 | PPARG/SELE/SELP/CCL2/MMP1/IL6/MMP3/CXCL2/FOS/ICAM1/VCAM1/IL1β/MMP9 |
| hsa05418 | Fluid shear stress and atherosclerosis | 11 | SELE/THBD/CCL2/KDR/PECAM1/FOS/ICAM1/CAV1/VCAM1/IL1β/MMP9 |
| hsa04657 | IL-17 signaling pathway | 10 | PTGS2/CCL2/MMP1/IL6/MMP3/CXCL2/FOS/CXCL10/IL1β/MMP9 |
| hsa05171 | Coronavirus disease - COVID-19 | 9 | C1R/SELP/CCL2/MMP1/IL6/MMP3/FOS/CXCL10/IL1β |
| hsa05144 | Malaria | 8 | SELE/SELP/CCL2/IL6/PECAM1/ICAM1/VCAM1/IL1β |
| hsa05323 | Rheumatoid arthritis | 8 | CCL2/MMP1/IL6/MMP3/CXCL2/FOS/ICAM1/IL1β |
| hsa04060 | Cytokine-cytokine receptor interaction | 8 | CXCL11/CCL2/IL6/CXCL2/TNFRSF1B/CXCL10/IL1β/CCL13 |
| hsa04061 | Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor | 7 | CXCL11/CCL2/IL6/CXCL2/TNFRSF1B/CXCL10/CCL13 |
| hsa04933 | AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications | 7 | SELE/THBD/CCL2/IL6/ICAM1/VCAM1/IL1β |

续表3　前20条KEGG通路关键靶点

| 编号 | 通路 | 基因数 | 基因名称 |
|---|---|---|---|
| hsa04064 | NF-kappa B signaling pathway | 7 | PLAU/PTGS2/CXCL2/ICAM1/VCAM1/IL1β/CCL13 |
| hsa05143 | African trypanosomiasis | 5 | SELE/IL6/ICAM1/VCAM1/IL1β |
| hsa05133 | Pertussis | 5 | C1R/NOS2/IL6/FOS/IL1β |
| hsa05142 | Chagas disease | 5 | NOS2/CCL2/IL6/FOS/IL1β |
| hsa04620 | Toll-like receptor signaling pathway | 5 | CXCL11/IL6/FOS/CXCL10/IL1β |
| hsa04514 | Cell adhesion molecules | 5 | SELE/SELP/PECAM1/ICAM1/VCAM1 |
| hsa05164 | Influenza A | 5 | CCL2/IL6/ICAM1/CXCL10/IL1β |
| hsa04062 | Chemokine signaling pathway | 5 | CXCL11/CCL2/CXCL2/CXCL10/CCL13 |
| hsa05202 | Transcriptional misregulation in cancer | 5 | PLAU/PPARG/IL6/MMP3/MMP9 |
| hsa05167 | Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection | 5 | PTGS2/IL6/CXCL2/FOS/ICAM1 |

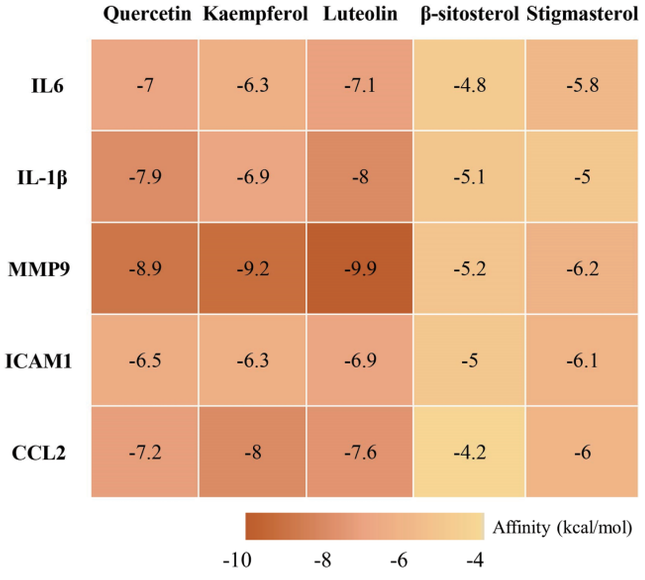



图8　分子对接结合能热图

## 3　讨论

中医药对UC的治疗历史悠久，并具有独特的优势。国医大师李佃贵教授从UC的病机出发，提出了浊毒致病论，认为脾胃虚弱是UC发生的根本原因，浊毒内蕴则是UC发病的标志[7]。浊毒之邪内蕴肠腑，可导致肠上皮细胞、免疫细胞等的异常活化，引起细胞形态的改变及肠黏膜屏障的损伤，从而诱发炎症、增生、凋亡、坏死甚至癌变等[8]。化浊解毒法是UC的常用治疗方法之一。FHK是以广东本地药材番石榴叶为君药，配伍黄连、鬼箭羽、苍术等10味中药的复方颗粒，具有健脾化痰、化浊解毒功效，临床疗效肯定。本文基于中医药治疗UC的多组分、多靶点、多通路特点，运用网络药理学方法结合GEO芯片技术，探究FHK在治疗UC中潜在的作用机制，为化浊解毒法提供新的研究方向。

在FHK“活性成分－药物靶点”的网络分析中可得，自由度值排名前5的活性成分分别为槲皮素(quercetin，546)、山奈酚(kaempferol，156)、木犀草素(luteolin，104)、β-谷甾醇(beta-sitosterol，91)、豆甾醇(stigmasterol，54)。槲皮素(quercetin)已被证明具有多种药物功能，包括抗氧化、抗炎、抗癌、抗菌和抗动脉粥样硬化[9]。quercetin不仅可以直接抑制促炎症细胞因子的活动或表达，还可以通过与其他分子靶点相互作用来发挥抗炎功能[10]。研究结果表明，quercetin对肠道神经系统(ENS)具有神经和胶质保护作用，并对肠黏膜具有抗炎作用[11]。山奈酚(kaempferol)是传统药用配方中的重要成分，具有抗炎、抗肿瘤和肝保护作用[12]。kaempferol通过减少TLR4/NF-κB通路的激活，改善肠道屏障完整性，抑制肠道炎症[13]。新的证据显示kaempferol可调节肠道微生物群结构和新陈代谢，这表明其可能具有类益生菌的作用，在维护肠道健康方面发挥作用[14]。木犀草素(luteolin)是一种具有良好抗炎特性和自由基清除活性的天然类黄酮，通过抑制活性氧(ROS)的产生和促炎因子缓解结肠炎症，加速肠黏膜愈合[15]。研究显示，luteolin能改善免疫反应，减轻氧化应激，并改变大鼠的代谢产物，从而减轻结肠癌大鼠模型的结肠炎症[16]。β-谷甾醇(beta-sitosterol)是一种重要的植物甾醇，可以调节肠道菌群的代谢[17]。其中，beta-sitosterol被报道通过抑制NLRP3/Caspase-1/GSDMD通路抑制炎症介质的产生，提高肠黏膜屏障功能，从而改善实验性结肠炎症[18]。此外，beta-sitosterol具有抗致病菌的多重作用，为治疗结肠炎症

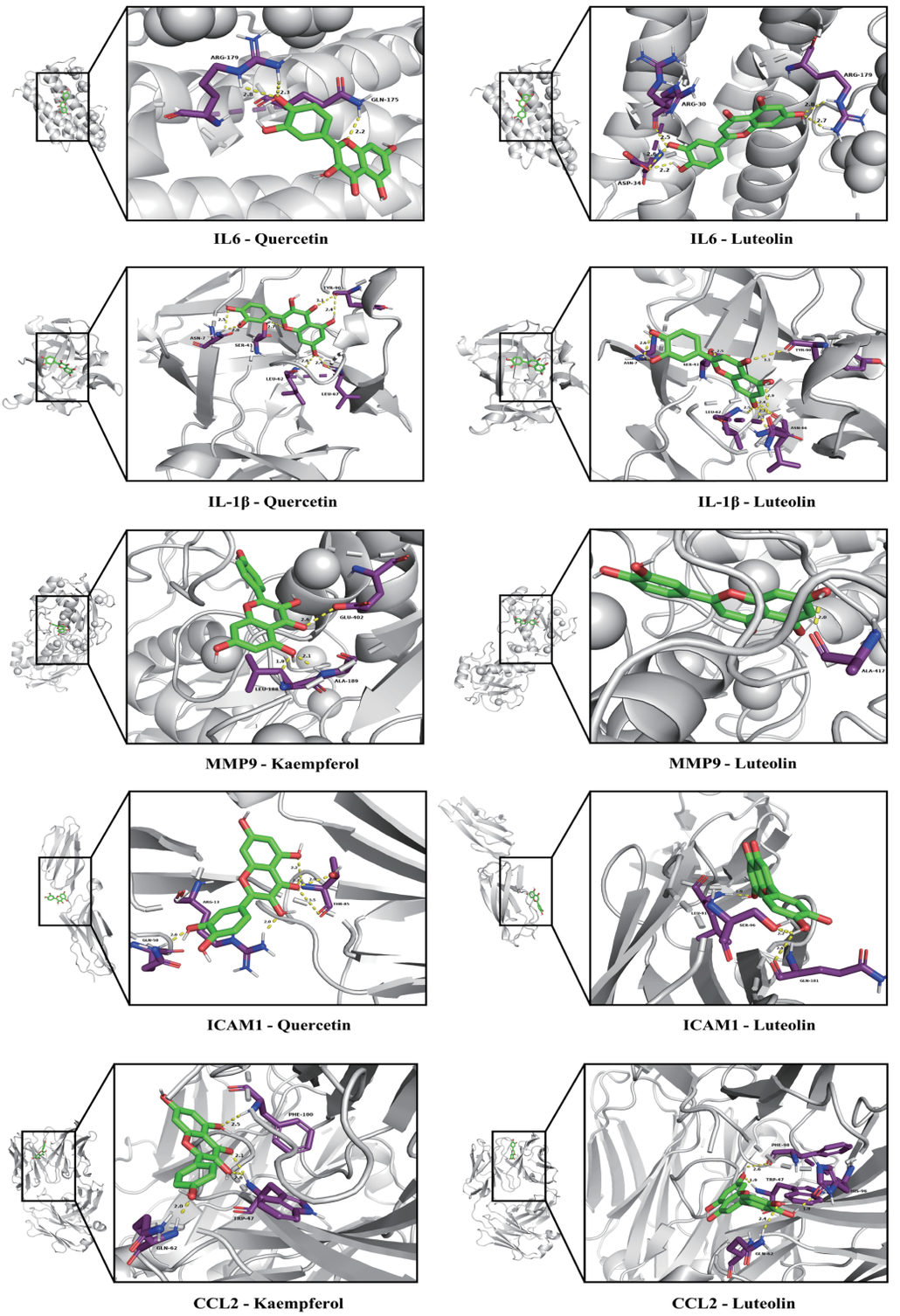



图9　分子对接图

提供一种新的途径[19]。豆甾醇(stigmasterol)通过调节Treg/Th17平衡并改变肠道微生物群来减轻实验性结肠炎症[20]。FHK的核心活性成分以黄酮类和植物甾醇化合物为主，其治疗UC的作用可能与抗炎、改善肠道屏障功能、调节肠道菌群等密切相关。

在PPI核心靶点网络中得知，FHK治疗UC的前5个核心靶点为IL6、IL-1β、MMP9、ICAM1、CCL2。结合自由度排名前5的核心成分与核心靶点进行的分

子对接结果，发现槲皮素、山柰酚、木犀草素与前5个核心靶点的对接结合能均小于－5 kcal·mol$^{-1}$，其中槲皮素、木犀草素与IL6、IL-1β、MMP9、CCL2的对接结合能均小于－7 kcal·mol$^{-1}$，说明这4个靶点可能是FHK治疗UC的关键作用靶点。IL6是一种促炎细胞因子，对免疫系统细胞和非免疫系统细胞都有广泛的影响[21]。据报道，IL6/STAT3/SOCS3信号通路参与了与炎症-非典型增生-癌症复合物相关的各种病理过程[22]，在调节肠道上皮细胞均匀性方面发挥重要作用[23]。IL-1β被广泛认为是一种多层面的促炎细胞因子，在多种炎症疾病中表达增高，在肠道炎症的进展中起关键的致病作用[24]。过往研究表明，在结肠炎动物模型中，MMP9的表达呈上调状态，对于肠道炎症的发生和发展以及结肠上皮通透性的调节起着重要作用[25-26]。CCL2通过多种机制促进肿瘤细胞的生长和增殖，并与受体相互作用，从而促进癌细胞的迁移，影响癌症的发展[27]。因此，FHK可能通过作用于多个靶点，调节致炎因子的表达和影响免疫细胞的迁移，从而治疗UC。

KEGG富集分析结果显示，FHK治疗UC的通路中TNF和IL-17等具有较高的富集性。TNF可以通过诱导炎症介质的表达和触发细胞死亡来促进炎症性疾病的发展[28]。研究表明，与TNFR1受体相互作用并激活IKK/NF-κB和MAPK信号通路，促进结肠炎症反应，是导致UC发生的重要因素[29]。肠上皮细胞中的TNFR2信号可能直接参与了结肠癌中持续性结肠炎的发展[30]。IL17是由Th17细胞产生的细胞因子，其具有促进炎症反应和组织损伤的作用，而IL17的过度表达与炎症性肠道疾病的发展密切相关[31]。IL17和IL23信号传导能够诱导一系列促炎分子的级联反应，如TNF、IFNg基因、IL22、淋巴毒素、IL-1β和脂多糖(LPS)。IL17和TNF能够协同介导信号传导，促进炎性基因的表达[32]。由此可见，FHK可能在治疗UC中发挥抗炎和免疫调节等作用。

本研究基于网络药理学方法对FHK的活性成分、药物作用靶点、药物治疗通路进行分析，发现FHK治疗UC具有多靶点、多途径、多通路的特点。初步推测FHK是通过黄酮类和植物甾醇化合物等多种有效成分，作用于IL6、IL-1β、MMP9、ICAM1、CCL2等靶点起到抗炎和免疫调节等作用，进而发挥治疗UC的作用，其潜在作用机制可能与抑制TNF和IL-17信号通路有关。然而，本研究存在一定的局限性，如对活性成分及其含量的确认，药效机制尚未经过实验验证，此次预测的靶点及作用机制的可靠性还需进行深入研究，后续还需在细胞和动物水平上进行验证。尽管如此，本文探究了FHK治疗UC的作用机制，为化浊法治疗UC提供新的研究方向。

## [参考文献]

[1] 裴银奇，赵党生. 溃疡性结肠炎中医药治疗研究进展[J]. 中医研究，2016，29(9)：77-80.
[2] MesTECKY J，STROBER W，RUSSELL M W，et al. Mucosal Immunology（Fourth Edition）[M]. Boston：Academic Press，2015：1573-1612.
[3] 张声生. 溃疡性结肠炎中医诊疗共识意见[J]. 中华中医药杂志，2010，25(6)：891-895.
[4] 陈健，陈启龙. 网络药理学在中医药研究中的现状及思考 [J]. 上海中医药大学学报，2021，35(5)：1-6，13.
[5] QUIROGA R，VILLARREAL M A. Vinardo：A Scoring Function Based on Autodock Vina Improves Scoring，Docking，and Virtual Screening[J]. PLoS One，2016，11(5)：e0155183.
[6] DI MUZIO E，TOTI D，POLTICELLI F. DockingApp：a user friendly interface for facilitated docking simulations with AutoDock Vina[J]. J Comput Aided Mol Des，2017，31(2)：213-218.
[7] 张纨，孙建慧，李娅，等. 国医大师李佃贵治疗溃疡性结肠炎经验 [J]. 中华中医药杂志，2019，34(4)：1504-1506.
[8] 娄莹莹，李佃贵，霍永利，等. 溃疡性结肠炎特色病机“浊毒损膜伤络”及其意义[J]. 中国中西医结合杂志，2022，42(6)：749-753.
[9] D'ANDREA G. Quercetin：A flavonol with multifaceted therapeutic applications?[J]. Fitoterapia，2015，106：256-271.
[10] KAWABATA K，MUKAI R，ISHISAKA A. Quercetin and related polyphenols：new insights and implications for their bioactivity and bioavailability[J]. Food Funct，2015，6(5)：1399-1417.
[11] BOSSOLANI G D P，SILVA B T，PERLES J V C M，et al. Rheumatoid arthritis induces enteric neurodegeneration and jejunal inflammation，and quercetin promotes neuroprotective and anti-inflammatory actions[J]. Life Sciences，2019，238：116956.
[12] WANG J，FANG X，GE L，et al. Antitumor，antioxidant and anti-inflammatory activities of kaempferol and its corresponding glycosides and the enzymatic preparation of kaempferol[J]. PLoS One，2018，13(5)：e0197563.
[13] BIAN Y，LEI J，ZHONG J，et al. Kaempferol reduces obesity，prevents intestinal inflammation，and modulates gut microbiota in high-fat diet mice[J]. J Nutr Biochem，2022，99：108840.
[14] AA L X，FEI F，QI Q，et al. Rebalancing of the gut flora and microbial metabolism is responsible for the anti-arthritis effect of kaempferol[J]. Acta Pharmacol Sin，2020，41(1)：73-81.

[15] TAN C，FAN H，DING J，et al. ROS-responsive nanoparticles for oral delivery of luteolin and targeted therapy of ulcerative colitis by regulating pathological microenvironment[J]. Materials Today Bio，2022，14：100246.

[16] LI B，GUO Y，JIA X，et al. Luteolin alleviates ulcerative colitis in rats via regulating immune response，oxidative stress，and metabolic profiling[J]. Open Med(Wars)，2023，18(1)：20230785.

[17] CUEVAS-TENA M，BERMÚDEZ J D，SILVESTRE A L D R，et al. Impact of colonic fermentation on sterols after the intake of a plant sterol-enriched beverage：A randomized，double-blind crossover trial[J]. Clin Nutr，2019，38(4)：1549-1560.

[18] ZHANG D，GE F，JI J，et al. β-sitosterol alleviates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis via inhibition of NLRP3/Caspase-1/GSDMD-mediated pyroptosis[J]. Front Pharmacol，2023，14：1218477.

[19] DING K，TAN Y Y，DING Y，et al. β-Sitosterol improves experimental colitis in mice with a target against pathogenic bacteria[J]. J Cell Biochem，2019，120(4)：5687-5694.

[20] WEN S，HE L，ZHONG Z，et al. Stigmasterol restores the balance of Treg/Th17 cells by activating the butyrate-PPARγ axis in colitis[J]. Front Immunol，2021，12：741934.

[21] HUNTER C A，JONES S A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease[J]. Nat Immunol，2015，16(5)：448-457.

[22] CHEN Y Y，MA Z B，XU H Y，et al. IL-6/STAT3/SOCS3 signaling pathway playing a regulatory role in ulcerative colitis carcinogenesis[J]. Int J Clin Exp Med，2015，8(8)：12009-12017.

[23] MITSUYAMA K，MATSUMOTO S，ROSE-JOHN S，et al. STAT3 activation via interleukin 6 trans-signalling contributes to ileitis in SAMP1/Yit mice[J]. Gut，2006，55(9)：1263-1269.

[24] KAMINSKY L W，AL-SADI R，MA T Y. IL-1β and the Intestinal Epithelial Tight Junction Barrier[J]. Front Immunol，2021，12：767456.

[25] NIGHOT P，AL-SADI R，RAWAT M，et al. Matrix metalloproteinase 9-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability contributes to the severity of experimental DSS colitis[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol，2015，309(12)：988-997.

[26] AL-SADI R，ENGERS J，HAQUE M，et al. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) induced disruption of intestinal epithelial tight junction barrier is mediated by NF-κB activation[J]. PLoS One，2021，16(4)：e0249544.

[27] XU M，WANG Y，XIA R，et al. Role of the CCL2-CCR2 signalling axis in cancer：Mechanisms and therapeutic targeting[J]. Cell Prolif，2021，54(10)：e13115.

[28] VAN LOO G，BERTRAND M J. Death by TNF：a road to inflammation[J]. Nat Rev Immunol，2023，23(5)：289-303.

[29] ZHU H，HUANG S，YUE M，et al. Dysregulated Up-Frameshift Protein 1 Promotes Ulcerative Colitis Pathogenesis Through the TNFR1-NF-κB/MAPKs Pathway[J]. Dig Dis Sci，2018，63：2593-2603.

[30] ONIZAWA M，NAGAISHI T，KANAI T，et al. Signaling pathway via TNF-α/NF-κB in intestinal epithelial cells may be directly involved in colitis-associated carcinogenesis[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol，2009，296(4)：G850-G859.

[31] CĂTANĂ C S，BERINDAN NEAGOE I，COZMA V，et al. Contribution of the IL-17/IL-23 axis to the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. World J Gastroenterol，2015，21(19)：5823-5830.

[32] SCHMITT H，NEURATH M F，ATREYA R. Role of the IL23/IL17 Pathway in Crohn's Disease[J]. Front Immunol，2021，12：622934.

（责任编辑：冯天保，邓乔丹）