

munium and cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 358: 107-114.

[27] 李素芳,袁永红,田 军. 病毒性肺炎患儿的病原学及细
胞免疫功能分析研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25
(6): 1278-1280.

基于网络药理学及分子对接预测白术-白芍药对治疗肠应激综合征的作用

张 杰¹, 盛英坤², 龙开平¹, 朱 萍¹, 王剑峰^{2*}
(1. 西京学院, 陕西 西安 710123; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: **目的** 通过网络药理学及分子对接预测白术-白芍药对治疗肠应激综合征 (IBS) 的药效成分及作用机制。**方法** 借助中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 检索白术、白芍的化学成分及潜在作用靶点, 通过人类基因数据库 GeneCards 查询与 IBS 相关的靶点。通过 R5.3.5 软件的 VennDiagram 和 ClusterProfiler 包筛选出交集靶点, 并进行功能富集和通路分析。采用 Cytoscape 绘制中药-活性成分-靶点-疾病关系图, 并运用 AutoDock Vina 对成分与靶点进行分子对接验证。**结果** 从白术-白芍药对中筛选得到 25 个化合物及 182 个作用靶点, 与 1 578 个 IBS 相关靶点取交集得到 29 个作用靶点, 靶点映射获得 12 种活性成分。蛋白相互作用分析结果显示核心靶点有 IL-6、MAPK8、CASP3、ESR1、RELA、AhR 等。GO 分析发现交集靶点具有核受体活性、转录因子活性、类固醇激素受体活性等功能。KEGG 分析显示交集靶点可能与 AGE-RAGE、TNF 等信号通路相关。分子对接结果显示 β -谷甾醇与 CYP3A4 靶点结合自由能最低 (-10.3 kcal/mol), 芍药苷与 AHR 受体残基 LYS-66、GLU-98、ARG-102、MET-105 形成氢键, (+) -儿茶素与 AChE 受体残基 ASN-87、HIS-447、TYR-72 形成氢键并与 TRP-86 残基形成 π - π 共轭。**结论** 白术-白芍药对中的 β -谷甾醇、芍药苷、(+) -儿茶素以及文献报道的白术内酯 A、苍术酮、4, 15-二羟基环氧白术内酯等活性成分可能通过 CYP3A4、AChE、AhR、PTGS1 等靶点调节炎症细胞因子及细胞信号转导通路协同治疗 IBS。

关键词: 白术-白芍; 肠应激综合征; 网络药理学; 分子对接; 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)05-1356-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.05.049

肠应激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是一组持续或间歇发作, 以腹痛、腹胀、排便习惯或大便性状改变为临床表现, 而缺乏胃肠道结构和生化异常的肠道功能紊乱性疾病^[1]。随着快节奏的生活方式及膳食结构的改变, IBS 的临床发病率在逐年上升^[2-3]。其病因和发病机制尚不明确, 可能与肠道炎症反应、饮食习惯、应激、内脏敏感性、肠道动力等有关^[4]。目前, 西医治疗 IBS 效果比较局限且不理想, 一般是根据患者的临床症状, 针对性地选用抗胆碱能药、调节胃肠运动的药物及胃肠微生态制剂等口服药物。根据 IBS 不同的临床表现, 中医将其归属与“便秘”“泄泻”“腹痛”等范畴^[5], 并在临床上辨治本病积累了丰富的经验。中医注重整体观念, 不良反应少, 且中药具有多成分、多环节、多靶点、多通路的特点, 故运

用中医中药治疗 IBS 有着更大的优势。白术-白芍药对是中医临床上典型的调和肝脾的药对之一, 也是治疗 IBS 的常用药对。

白术与白芍首载于《神农本草经》, 白术甘苦性温, 苦温性燥, 以燥湿健脾止泻; 白芍苦酸微寒, 酸寒收泄, 以泻火抑木平肝, 二者配伍, 脾健则木邪不可干, 肝平则脾土得运^[6]。历代医家治疗肝脾不和范畴的疾病, 多采用以白术-白芍药对为核心的方药。相关研究^[7]表明, 与单味白芍或单味白术治疗 IBS 相比, 白术-白芍药对在降低 IBS 大鼠 5-羟色胺、血管活性肠肽、生长抑素水平, 稳定肥大细胞, 减轻肠道高敏感性以及改善 IBS 大鼠粪便含水量等方面效果较好。

网络药理学作为药物研究的新模式, 可以全面、系统地分析药物成分、靶点、通路之间的网络关系, 提高药物

收稿日期: 2019-10-16

基金项目: 浙江中医药大学校级中青年科研创新基金项目 (KC201916)

作者简介: 张 杰 (1989—), 女, 硕士, 助教, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。Tel: 18292032412, E-mail: 1186167484@qq.com

* 通信作者: 王剑峰 (1987—), 男, 博士, 从事中药药理学研究。Tel: 13575726825, E-mail: jeffwong34@163.com

网络出版日期: 2020-11-20

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20201120.1221.002.html>

治疗效果及研发成功率，节省药物研发时间和费用。其在方法学上具有整体性、系统性的特点，与中医学的整体观与辩证论治的理论体系基本吻合^[8]。同时，分子对接将药理作用提升到分子水平，从分子水平揭示药物作用机制。网络药理学结合分子对接方法可以弥补片面、不系统的药物治疗疾病的机制研究。

本研究拟借助网络药理学及分子对接方法，构建白术-白芍药对的“活性成分-靶点-通路-机制-IBS”的网络关系模型，旨在为阐明白术-白芍药对治疗肠应激综合征的药效物质及作用机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 数据库与软件 TCMSP (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)；GeneCards (<https://genecards.weizmann.ac.il/v3/>)；Cytoscape3.6.1 软件 (<http://www.cytoscape.org>)；Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>)；STRING 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>)；Perl 5.23.3 软件 (<https://www.perl.org/>)；R 3.5.3 软件 (<https://www.r-project.org/>)；PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)；ChemBioDraw Ultra 14.0 软件；AutoDock Vina 软件 (<http://vina.scripps.edu/download.html>)；PyMOL 软件 (<https://pymol.org/>)。

1.2 白术-白芍药对活性成分筛选 利用 TCMSP 数据库，根据口服吸收度 $OB \geq 30\%$ 和类药性 $DL \geq 0.18$ 的原则筛选白术-白芍药对的化学成分，同时结合文献报道确定白术-白芍药对的化学成分，统一保存为 .mol2 格式文件。

1.3 活性成分及作用靶点筛选 采用 TCMSP 数据库收集白术-白芍药对的潜在作用靶点，蛋白质数据库 UniProt 将靶点名转换成对应的基因名。在人类基因数据库 GeneCards 中以“Intestinal stress syndrome”为关键词，检索 IBS 相关靶基因。通过 R 软件“VennDiagram”程序包将药对中活性成分靶基因与 IBS 相关靶基因映射筛选出共同作用靶点，确定为白术-白芍药对抗 IBS 的作用靶点。

1.4 药对-成分-靶点-疾病网络图构建 构建“药对-成分”“成分-靶点”“靶点-疾病”“成分靶点-疾病靶点”的相互作用关系。打开 Cytoscape 3.6.1 软件，“File→Import→Network→File”和“Node→From ID List File”功能，构建白术-白芍药对-活性成分-靶点-IBS 网络图。（网络图中，节点表示药对、成分、靶点和疾病，边代表药对-成分-靶点-疾病的相互作用）。

1.5 蛋白相互作用网络构建与分析 为明确白术-白芍药对抗 IBS 靶点之间的相互作用，将筛选得到白术-白芍药对蛋白靶点导入 STRING 数据库，限定蛋白种类为“Homo sapiens”，最低相互作用阈值设为“Medium confidence (0.400)”，其他参数保持默认设置。进行蛋白相互作用分析，构建其靶蛋白相互作用 (PPI) 网络。借助 R 软件计算参与互作靶点蛋白的度值 (Degree)，并根据度值大小对互作靶点蛋白进行排序。选取度值大于均值的靶点作为核心靶点蛋白。

1.6 靶点 GO 功能富集和 KEGG 通路分析 通过 R 软件“colorspace”“stringi”“clusterProfiler”“pathview”“DOSE”程序包，选择物种为 organism = “hsa”，设置 $P < 0.05$ 从“org. Hs. eg. db”数据库进行 GO 功能富集和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 信号通路分析，保存结果。通过靶点投射到个通路中的个数及其在每个通路蛋白中的占比 (百分率)，筛选白术-白芍药对主要抗 IBS 的信号通路。

1.7 分子对接和靶点验证 为了进一步验证白术-白芍活性成分与其作用靶点在几何和能量上的匹配程度，通过 PDB 数据库下载目的靶点蛋白 3D 结构，ChemBioDraw Ultra 14.0 软件绘制活性成分 2D 结构，保存为 .mol2 格式。运用 AutoDock Vina 进行分子对接，其结果以结合自由能的高低作为与化合物结合程度的评价标准，一般化合物分子与受体结合的构象稳定时能量比较低，发生的作用可能性大，对接结果越可靠。

2 结果

2.1 白术-白芍活性成分筛选结果 根据 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的原则筛选白芍-白术药对活性成分共 20 种，其中白芍 13 种活性成分，白术 7 种活性成分，各活性成分信息如表 1。结合文献报道^[9-12]，白术-白芍药对潜在活性成分有内酯类（白术内酯 I、白术内酯 II、白术内酯 III、4，15-二羟基环氧白术内酯）及挥发油类（苍术酮）。

2.2 白术-白芍药对活性成分和 IBS 的交集靶点 利用上述 TCMSP 数据库编号找出白术-白芍药对活性成分对应靶点 48 种，通过 GeneCards 数据库搜集得到 IBS 1 578 个相关靶点。通过 R 软件“VennDiagram”程序包绘制韦恩图，并得到白术-白芍活性成分靶点与 IBS 靶点共有靶点 29 个。

2.3 白术-白芍活性成分-靶点-IBS 网络图构建与分析 将“2.2”得到的 29 个交集靶点根据 TCMSP 编号和 UniProt 编号反向筛选白术-白芍的活性成分共 12 种，分别为（3S，5R，8R，9R，10S，14S）-3，17-二羟-4，4，8，10，14-五甲基-2，3，5，6，7，9 六氢-1H-环戊二烯并 [α] 菲-15，16-二酮、3β-乙酰氧基苍术酮、芍药苷、（3S，8S，9S，10R，13R，14S，17R）-10，13-二甲基-17- [(2R，5S) -5-丙-2-辛烷-2-基] -2，3，4，5-7，8，9，11，12，14，15，16，17-十二氢-1H-环戊二烯并 [α] 菲-3-醇、(+) -儿茶素、β-谷甾醇、谷甾醇、山柰酚、丁子香酚、白术内酯 I、苍术酮、4，15-二羟基环氧白术内酯。将 29 个共有靶点和 12 个活性成分导入到 Cytoscape3.6.1 软件中构建白术-白芍药对活性成分-靶点-IBS 网络图，其中 43 个节点、88 条边。见图 1。

2.4 共有靶点相互作用分析 通过 STRING 数据库，对白术-白芍作用靶点和肠应激综合征作用靶点的共有靶点进行蛋白相互作用分析。PPI 结果显示，29 个共有靶点相互作用连线有 139 条，PPI 网络平均度值 Degree 为 9.93，超过平均度值的靶点有 14 个，可认为是白术白芍抗 IBS 的核心靶点，分别有 IL6、MAPK8、CASP3、ESR1、RELA 等，按度值大小排序前 20。见图 2。

表 1 白术-白芍药对中活性成分

药材	TCMSP 编号	名称	OB/%	DL
白芍	MOL001910	11 α ,12 α -环氧-3 β ,23-二羟基-30-去甲齐墩果-20(28)-烯-28,12 β -内酯	64.77	0.38
	MOL001918	芍药苷元	87.59	0.37
	MOL001919	(3S,5R,8R,9R,10S,14S)-3,17-二羟基-4,4,8,10,14-五甲基-2,3,5,6,7,9-六氢-1H-环戊二烯并[α]菲-15,16-二酮	43.56	0.53
	MOL001921	芍药新苷	49.12	0.8
	MOL001924	芍药苷	53.87	0.79
	MOL001925	异芍药苷	68.18	0.4
	MOL001928	芍药内酯苷	66.64	0.33
	MOL001930	苯甲酰芍药苷	31.27	0.75
	MOL000211	丁子香酚	55.38	0.78
	MOL000358	β -谷甾醇	36.91	0.75
	MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75
	MOL000422	山柰酚	41.88	0.24
	MOL000492	(+)-儿茶素	54.83	0.24
	MOL000020	12-千里光光酰基-8-顺式白术三醇	62.4	0.22
	MOL000021	14-乙酰基各里光酰基-8-反式白术三醇	60.31	0.31
	MOL000022	14-乙酰基-12-千里光酰基-8-顺式白术三醇	63.37	0.3
白术	MOL000028	α -香树素	39.51	0.76
		(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-二甲基-17-[(2R,5S)-5-丙-2-辛烷-2-基]-2,3,4,5-7,8,9,11,12,14,15,16,17-	36.23	0.78
	MOL000033	十二氢-1H-环戊二烯并[α]菲-3-醇		
	MOL000049	3 β -乙酰氧基苍术酮	54.07	0.22
	MOL000072	8 β -乙氧基苍术内酯Ⅲ	35.95	0.21

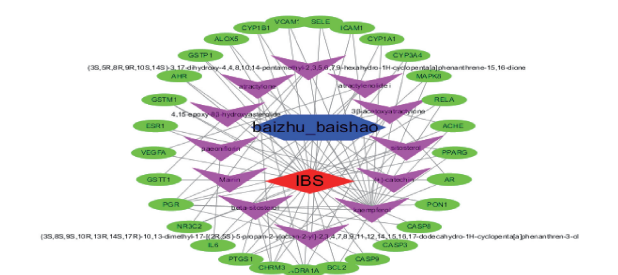


图 1 白术-白芍药对-成分-靶点-通路-IBS 网络

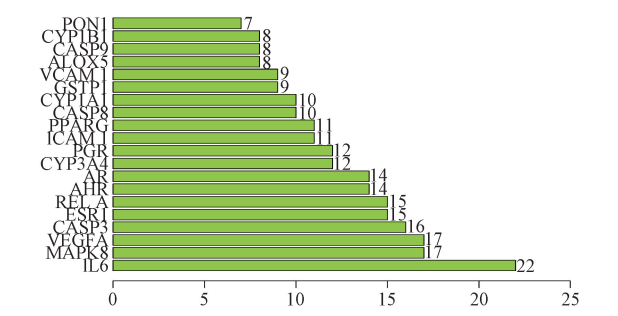


图 2 蛋白-蛋白相互作用网络

2.5 GO 功能富集和 KEGG 通路分析 GO 分析结果显示, 29 个交集靶点的生物途径主要包括 nuclear receptor activity (核受体活性)、transcription factor activity (转录因子活性)、steroid hormone receptor activity (类固醇激素受体活性)、steroid binding (类固醇结合)、cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process (半胱氨酸型内肽酶活性参与细胞凋亡过程) 等, 见图 3。对 29 个靶点进行

KEGG 通路分析, 发现 $P<0.05$ 的白术-白芍治疗 IBS 所涉及的信号通路有 49 条, 主要与炎症、肿瘤坏死、动脉粥样硬化、细胞凋亡等相关。显著性程度最高前 3 条分别为 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications (糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路)、TNF signaling pathway (TNF 信号通路)、Fluid shear stress and atherosclerosis (流体剪切应力和动脉粥样硬化), 见图 4。

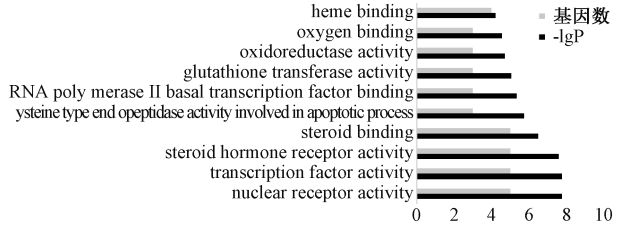


图 3 白术-白芍药对对 IBS 作用靶点的 GO 分析结果

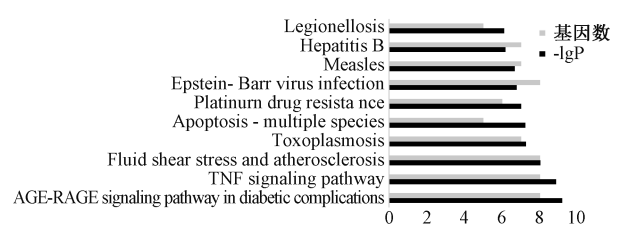


图 4 白术-白芍药对对 IBS 作用靶点的 KEGG 分析结果

2.6 分子对接及靶点筛选 为了进一步分析白术-白芍药对抗 IBS 的作用关系, 借助 AutoDock Vina 分子对接软件, 采用柔性配体和刚性受体半柔性对接方法, 通过调整格点数目和中心位置寻找活性口袋 (配体分子与受体结合位点),

对白术-白芍药对中 12 种活性成分与 29 个交集靶点进行了 348 次对接,结果显示结合自由能均小于-6 kcal/mol。相关文献[13]报道,化合物和靶标之间结合自由能小于-5 kcal/mol被认为具有较好作用。因此,将对接结果按结合自由能由小到大进行排序,筛选出 6 个排名靠前的分子,分别为(3*S*, 5*R*, 8*R*, 9*R*, 10*S*, 14*S*)-3, 17-二羟基-4, 4, 8, 10, 14-五甲基-2, 3, 5, 6, 7, 9-六氢-1*H*-环戊二烯并[α]菲-15, 16-二酮、 β -谷甾醇、芍药苷、(+)-儿茶素、谷甾醇和丁香香帖,对应 7 个靶点分别为 CYP3A4、PTGS1、AhR、CASP3、CASP9、AChE 和 PON1,见表 2。此外,文献报道白术-白芍治疗 IBS 的有效成分白术内酯 A、4, 15-二羟基环氧白术内酯、苍术酮与 29 个靶点对接结果显示,白术内酯 A、4, 15-二羟基环氧白术内酯与靶点 PTGS1 对接结合自由能最低,两者均为-8.8 kcal/mol;苍术酮与 AChE 结合自由能最低为-8.6 kcal/mol。

在能量匹配的基础上,进一步使用 PyMoL 软件对表 2

表 2 白术-白芍主要活性成分-作用靶点分子对接示结果

编号	PDB ID	靶点	化合物	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
1	1PQ2	CYP3A4	β -谷甾醇	-10.3
2	1CQE	PTGS1	(3 <i>S</i> , 5 <i>R</i> , 8 <i>R</i> , 9 <i>R</i> , 10 <i>S</i> , 14 <i>S</i>)-3, 17-二羟基-4, 4, 8, 10, 14-五甲基-2, 3, 5, 6, 7, 9-六氢-1 <i>H</i> -环戊二烯并[α]菲-15, 16-二酮	-10.0
3	5NJ8	AhR	β -谷甾醇	-9.9
4	5NJ8	AhR	芍药苷	-9.8
5	1CP3	CASP3	谷甾醇	-9.8
6	1V04	PON1	(3 <i>S</i> , 5 <i>R</i> , 8 <i>R</i> , 9 <i>R</i> , 10 <i>S</i> , 14 <i>S</i>)-3, 17-二羟基-4, 4, 8, 10, 14-五甲基-2, 3, 5, 6, 7, 9-六氢-1 <i>H</i> -环戊二烯并[α]菲-15, 16-二酮	-9.7
7	1CP3	CASP3	β -谷甾醇	-9.7
8	1CQE	PTGS1	(+)-儿茶素	-9.7
9	2AR9	CASP9	丁香香帖	-9.6
10	1F8U	AChE	(+)-儿茶素	-9.6

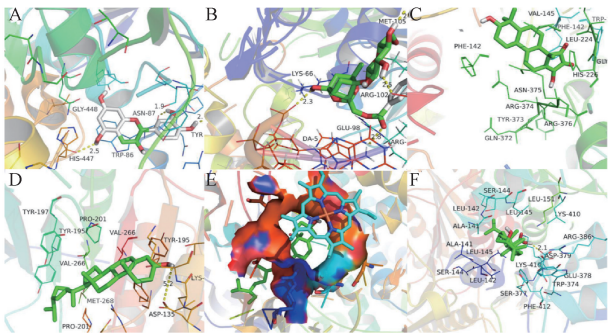


图 5 白术-白芍主要化学成分与具体靶点对接示结果

3 讨论

IBS 为消化内科常见的慢性病之一,白术-白芍药对作为君-臣配伍药方用于治疗 IBS 等胃肠道功能紊乱患者有着独特的优势^[14]。现代药理学表明^[15-16],白术主要含有挥发油类、多糖类、黄酮类等活性成分,具有修复胃黏膜、抗炎、免疫调节等药理作用,对机体胃肠道系统、免疫系统等疾病有一定治疗作用。白芍主要有萜类、苷类、黄酮类和多糖类活性成分,具有抗炎、抗菌、抗自身免疫疾病等药理作用^[17]。本研究运用网络药理学结合分子对接技术分

析白术-白芍药对治疗 IBS 的作用机制,以期对白术-白芍药对治疗 IBS 提供了细胞分子层面的参考。在白术-白芍药对活性成分筛选中,部分化合物分子对 IBS 的关键靶点显示具有高度活性,如 β -谷甾醇、芍药苷、(+)-儿茶素、丁香香帖、3 β -乙酰氧基苍术酮、白术内酯 A、苍术酮、4, 15-二羟基环氧白术内酯等。据报道, β -谷甾醇可能通过抑制 NF- κ B 信号通路的活化,并抑制与炎症相关的 MCP-1、IL-1 β 、IL-6 等细胞因子和环氧酶 COX-2 mRNA 的表达,具有较好的抗急性结肠炎活性^[18]。内脏高敏感性是 IBS 主要发病机制之一,芍药苷可以通过显著改善类胰蛋白酶引起的肠上皮细胞屏障功能紊乱,降低内脏的高敏感性,同时,芍药苷可以通过抑制 NF- κ B 信号通路降低 IL-1 β 诱导所致的 Caco-2 肠上皮细胞炎症反应^[19]。儿茶素和槲皮素通过抑制 TLR4-MYD88 介导的 NF- κ B 和 MAPK 信号通路的激活而协同抗炎作用^[20]。葛飞等^[21]通过实验研究发现金荞麦提取物主要活性成分(儿茶素、表儿茶素等)在溃疡性结肠炎模型小鼠体内的组织分布的浓度较正常组高,同时,指出金荞麦提取物可显著抑制溃疡性结肠炎小鼠结肠组织中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α mRNA 表达,进而发挥其抗炎效应。白术内酯 A、4, 15-二羟基环

中的 β -谷甾醇、(3*S*, 5*R*, 8*R*, 9*R*, 10*S*, 14*S*)-3, 17-二羟基-4, 4, 8, 10, 14-五甲基-2, 3, 5, 6, 7, 9-六氢-1*H*-环戊二烯并[α]菲-15, 16-二酮、芍药苷、谷甾醇、丁香香帖、(+)-儿茶素进行了结构匹配分析,结果发现,(+)-儿茶素可通过与 ASN-87、HIS-447、TYR-72 形成氢键、与 TRP-86 形成 π - π 共轭,使结构趋于稳定,见图 5A;芍药苷可通过与 LYS-66、GLU-98、ARG-102、MET-105 形成氢键,降低体系能量,较为稳定,见图 5B;(3*S*, 5*R*, 8*R*, 9*R*, 10*S*, 14*S*)-3, 17-二羟基-4, 4, 8, 10, 14-五甲基-2, 3, 5, 6, 7, 9-六氢-1*H*-环戊二烯并[α]菲-15, 16-二酮可通过 HIS-226、LEU-224、GLY-225 残基上的双键与 PTGS1 受体产生静电排斥作用,使结构趋于稳定,见图 5C;谷甾醇可通过 ASP-135 与 CASP3 产生氢键使结构趋于稳定,见图 5D; β -谷甾醇与 CYP3A4 可通过形成较稳定的空间结构是体系能量降低,见图 5E;CASP9 残基可通过包裹丁香香帖使两者体系能量降低见图 5F。

析白术-白芍药对治疗 IBS 的作用机制,以期对白术-白芍药对治疗 IBS 提供了细胞分子层面的参考。在白术-白芍药对活性成分筛选中,部分化合物分子对 IBS 的关键靶点显示具有高度活性,如 β -谷甾醇、芍药苷、(+)-儿茶素、丁香香帖、3 β -乙酰氧基苍术酮、白术内酯 A、苍术酮、4, 15-二羟基环氧白术内酯等。据报道, β -谷甾醇可能通过抑制 NF- κ B 信号通路的活化,并抑制与炎症相关的 MCP-1、IL-1 β 、IL-6 等细胞因子和环氧酶 COX-2 mRNA 的表达,具有较好的抗急性结肠炎活性^[18]。内脏高敏感性是 IBS 主要发病机制之一,芍药苷可以通过显著改善类胰蛋白酶引起的肠上皮细胞屏障功能紊乱,降低内脏的高敏感性,同时,芍药苷可以通过抑制 NF- κ B 信号通路降低 IL-1 β 诱导所致的 Caco-2 肠上皮细胞炎症反应^[19]。儿茶素和槲皮素通过抑制 TLR4-MYD88 介导的 NF- κ B 和 MAPK 信号通路的激活而协同抗炎作用^[20]。葛飞等^[21]通过实验研究发现金荞麦提取物主要活性成分(儿茶素、表儿茶素等)在溃疡性结肠炎模型小鼠体内的组织分布的浓度较正常组高,同时,指出金荞麦提取物可显著抑制溃疡性结肠炎小鼠结肠组织中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α mRNA 表达,进而发挥其抗炎效应。白术内酯 A、4, 15-二羟基环

氧白术内酯可以抑制 AChE、His 所致大鼠离体回肠痉挛作用，促进肠道运动^[9-11]；白术挥发油类主要为苍术酮，可以促进胃肠蠕动^[12]。丁子香酚、3β-乙酰氧基苍术酮等化合物药理作用研究未见详细报道。

对白术-白芍药对活性成分作用于 IBS 的 29 个作用靶点进行了 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析。GO 分析包括了生物过程、细胞组成和分子功能 3 个部分，该分析发现白术-白芍药对可以对细胞信号转导、细胞免疫及细胞凋亡等生物过程起调控作用，涉及细胞膜、核、质、细胞器膜及细胞空间，通过与类固醇结合、转录因子活性，序列特异性 DNA 结合等分子功能产生活性，其中 AhR、AChE、CYP3A4、CASP 等多个靶点在被富集出的重要生物学过程中协同起效。在 KEGG 分析的过程中，糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化等多条信号转导通路 with IBS 存在一定的关联性。AGEs 及其受体 RAGE 结合可以调控 IL-6、TNF-α 等多种基因表达，用于调控过度炎症反应和自身免疫^[22]。苏绍红等^[23]研究发现芍药总苷可调控 TNF-α 信号通路，减少相关炎症因子的表达。

此外，对蛋白相互作用中度值较大的靶点与白术、白芍活性成分进一步做能量和结构互补分析发现，β-谷甾醇与 CYP3A4 靶点有强烈的结合活性，芍药苷与 AhR 靶点有较好的结合活性，(+) -儿茶素与 AChE 靶点有一定的结合活性。AChE 是胃肠道神经系统中最主要的神经递质，可以结合胃肠平滑肌上的 M 受体，导致胃肠平滑肌膜发生去极化，膜细胞 Ca²⁺内流增加，兴奋肠道平滑肌，使其收缩幅度、张力和蠕动幅度大大增加^[24]。副交感神经通过 AChE 及其水解酶，在调控炎症反应中起重要作用^[25]。AhR 是一种配体激活的转录因子，可以参与机体免疫反应，对炎性细胞因子 IL-6、TNF-α、IL-1β 及炎症趋化因子具有重要的调控作用^[26]。CYP3A4 是人体内催化外源化合物氧化反应的主要代谢酶，其可以氧化 AhR 配体，而 AhR 的过度降解会导致肠免疫功能下降，增加肠道感染的易感性^[27]。提示白术-白芍药对中 β-谷甾醇、芍药苷、(+) -儿茶素等活性成分可能通过调节 CYP3A4、AChE、AhR 等相关靶点达到治疗 IBS 的作用。

综上所述，本研究结果显示白术-白芍药对的 12 个活性成分作用于 29 个靶点，涉及 49 条信号通路。基于分子对接技术进一步筛选得到匹配程度较高的 6 种成分与 7 个靶点，并初步探究了白术-白芍药对治疗 IBS 的作用机制，为后续从白术-白芍药对中提取有效药物成分治疗 IBS 提供了科学理论基础，也为论证中药复方的科学性提供了参考。中药成分的复杂以及现阶段对中药复方认识的局限，基于系统药理学和生物信息学对白术-白芍药对的认识仍存在很多不足，因此，对白术-白芍药对治疗 IBS 的作用机制研究仍需要进一步的药理学实验验证。

参考文献：

[1] Sherwin L A B. Laypersons knowledge and perceptions of irrita-
1360

ble bowel syndrome as potential barriers to care[J]. *J Adv Nurs*, 2018, 74(2): 1199-1207.

[2] Adam D, James K. Irritable bowel syndrome[J]. *Medicine*, 2019, 47(6): 350-353.

[3] 韩亚飞, 王允亮, 李军祥. 腹泻型肠易激综合征的发病机制及中药干预研究进展[C] //第三十届全国中西医结合消化系统疾病学术会议论文集. 郑州: 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会, 2018, 286.

[4] 张子悦, 马书进, 贺新月, 等. 肠易激综合征的发病机制及治疗研究进展[J]. *临床消化病杂志*, 2019, 31(1): 60-63.

[5] 陈卓群, 侯政民, 杨伟钦, 等. 基于中医传承辅助平台探讨刘凤斌治疗肠易激综合征的用药规律[J]. *广州中医药大学学报*, 2017, 34(3): 442-447.

[6] 殷 越, 李冰艳, 历 凯, 等. 论白术-白芍药对“土中泻木”的配伍研究[J]. *中医药信息*, 2017, 34(6): 52-56.

[7] 孙萍萍. 白术-白芍药对治疗肠易激综合征的药效研究[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2015.

[8] 解 静, 高 杉, 李 琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. *中草药*, 2019, 50(10): 2257-2265.

[9] 张奕强, 许实波, 林永成. 白术内酯系列物的胃肠抑制作用[J]. *中药材*, 1999, 22(12): 636-640.

[10] 王 晶, 张世洋, 盛永成, 等. 白术治疗胃肠道疾病药理作用研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(12): 2854-2858.

[11] 彭 腾, 李鸿翔, 邓 赟, 等. 白术内酯类成分及其药理作用研究进展[J]. *中国药房*, 2012, 23(39): 3732-3734.

[12] 顾思浩, 孔维松, 张 彤, 等. 白术的化学成分与药理作用及复方临床应用进展[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(1): 69-73.

[13] Li B J, Rui J Q, Ding X J, *et al.* Exploring the multicomponent synergy mechanism of Banxia Xiexin Decoction on irritable bowel syndrome by a systems pharmacology strategy[J]. *J Ethnopharmacology*, 2019, 233: 158-168.

[14] 王艳宏, 张秋樾, 历 凯, 等. HPLC-PDA 同时测定白术-白芍单味药、药对、复方中 5 种有效成分的含量[J]. *上海中医药杂志*, 2018, 52(4): 101-106.

[15] 张晓娟, 左冬冬. 白术化学成分及药理作用研究新进展[J]. *中医药信息*, 2018, 35(6): 101-106.

[16] 陈 静, 窦德强. 白术性味化学研究[J]. *中药材*, 2019, 425(7): 1702-1708.

[17] 崔 虹, 朱佳茜, 冯秋芳, 等. 中药白芍化学成分及生物活性研究进展[J]. *海峡药学*, 2017, 29(9): 1-5.

[18] 冯思敏, 宁 可, 邵 平, 等. β-谷甾醇和豆甾醇对小鼠急性结肠炎的治疗作用研究[J]. *中国粮油学报*, 2018, 33(12): 80-86.

[19] 李祥鸿, 徐平湘, 葛贝康, 等. 芍药苷对肠易激综合征的作用及肠上皮细胞屏障功能的影响[J]. *国际药学研究杂志*, 2017, 44(10): 958-964.

[20] Li T, Li F, Liu X Y, *et al.* Synergistic anti-inflammatory effects of quercetin and catechin via inhibiting activation of

TLR4-MyD88-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Phytotherapy Research*, 2019, 33(3): 756-767.

[21] 葛 飞. 金荞麦对溃疡性结肠炎的抗炎作用及机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.

[22] 张 涛, 耿 壮, 刘方超, 等. 人脐带间充质干细胞对 I 型糖尿病小鼠皮肤组织 AGEs/RAGE/NF- κ B 信号通路影响的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2019, 27(3): 224-228.

[23] 苏绍红, 张 琳, 张俊峰. 白芍总苷对动脉粥样硬化大鼠 TNF- α / P38MAPK / NF- κ B / RBP4 信号通路及其血清 IL-17, IL-27, IL-33 影响的研究[J]. 新中医, 2019, 51(7): 18-21.

[24] 黄 伟, 张 林. “泻剂结肠”的研究进展[J]. 西南军医, 2015, 17(2): 224-226.

[25] Hod K, Sperber A D, Maharshak N, *et al.* Serum cholinesterase activity is elevated in female diarrhea-predominant irritable bowel syndrome patients compared to matched controls [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018, 30(12): e13464.

[26] 朱俊宇, 范 霞, 梁华平. AhR 调控炎症细胞因子的研究进展[J]. 免疫学杂志, 2017, 33(1): 73-77.

[27] 何 芳, 曾彩雯, 夏春华, 等. 核受体对细胞色素 P450 的调控作用研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2012, 17(10): 1195-1200.

灯心草煅炭炮制工艺的优化

孟则敬, 吕彤彤, 李媛媛, 王 巍, 鞠成国*
(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: **目的** 优化灯心草煅炭炮制工艺。**方法** 采用正交试验结合多指标加权分析方法, 以煅制时间、煅制温度、投药质量与容器容积比为考察因素, 以炭素含量、炮制后得率、饮片外观性状等为评价指标, 优化灯心草煅炭炮制工艺。**结果** 灯心草最佳煅炭工艺为取适量灯心草, 控制投药质量与容器容积之比为 3 g/L, 250 ℃ 密闭煅制 15 min, 待冷后取出。**结论** 该最优方法稳定可行, 可用于灯心草煅炭。

关键词: 灯心草; 灯心炭; 正交试验; 炮制工艺; 煅炭

中图分类号: R283 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)05-1361-05

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2021. 05. 050

中药灯心草为灯心草科植物灯心草 *Juncus effusus* L. 的干燥茎髓^[1]。味甘、淡, 性微寒。归心、肺、小肠经^[2]。具有清心火、利小便的功效, 可治疗心烦失眠、尿少涩痛^[3]。2020 年版《中国药典》收录灯心草及其炮制品灯心炭。灯心炭为净灯心草经过煅炭法制得^[4]。灯心炭饮片呈圆圆柱形的段。表面黑色。体轻, 质松脆, 易碎。气微, 味微涩。灯心炭具有止血生肌的功效, 《本草蒙筌》《神农本草经疏》等古籍记载灯心炭可用于治疗外伤、急性咽喉炎、口舌生疮^[5-7]。现代药理研究表明, 灯心草具有抗炎、抗氧化、降血压、抗焦虑、镇静等作用^[8-12], 经煅制加工后的灯心炭则具有止血、保肝的药理作用^[13]。

目前对灯心炭饮片及煅炭工艺的研究较少, 尚无揭示灯心炭煅制影响因素的研究, 亦无规范煅炭工艺的研究。传统炮制理论认为“大抵血热则行, 血冷则凝……见黑则止”^[14], 即血见黑止, 中药制炭后, 可增强其止血疗伤的功效。现代对炭药的研究表明, 炭素等成分在成炭后含量的增加与止血作用增强密切相关^[15-17]。炭素作为灯心炭发

挥止血活性的有效成分^[13], 具有可吸附色素的物理特性^[18], 可视为衡量炭药饮片质量的重要指标之一^[19-20]。本实验以炭素含量、炮制后得率、饮片外观性状等为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验对煅制工艺进行优化, 以期为今后灯心炭饮片生产的规范化、标准化、工业化提供依据。

1 材料

1.1 仪器 T6 新世纪紫外-可见分光光度计 (北京普析分析仪器有限公司); AE240 型电子分析天平 (十万分之一, 瑞士 Mettler-Toledo 公司); FA1004B 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); DFT-100 型高速万能粉碎机 (浙江温岭市林大机械有限公司); Milli-Q Integral 型纯水仪 (大连烽木源科技有限公司); SHA-C 型台式往复式恒温振荡器 (江苏亿通电子有限公司)。

1.2 试剂与药物 亚甲基蓝色素 (美国赛默飞世尔公司, 批号 MS10301)。灯心草购自安国药材市场, 经辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为灯心草科植物灯心草 *Juncus effusus* L. 的干燥茎髓。磷酸二氢钾 (天津致远化

收稿日期: 2020-03-09

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1707200)

作者简介: 孟则敬 (1996—), 女, 硕士生, 从事中药炮制工艺与原理研究。Tel: (0411) 85890146, E-mail: meng_zj@qq.com

* 通信作者: 鞠成国 (1979—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药炮制工艺与原理。Tel: (0411) 85890146, E-mail: jcg7092357@