

# 基于网络药理学探讨桃红大将逐瘀汤加减 治疗便秘的作用机制

吴碧兰,孔秀莲,朱云中,陈 钰,高 凤,潘小凤

(广西中医药大学第一附属医院神经外科,广西 南宁 530023)

**摘要:**目的 基于网络药理学探讨桃红大将逐瘀汤加减治疗便秘的作用机制。方法 采用 TCMSP 数据库检索和筛选桃红大将逐瘀汤加减的中药活性化合物及其靶点;运用 GeneCards 和 OMIM 数据库筛选出与便秘相关的基因,将其与药物靶点交集获得靶基因并构建活性化合物-靶基因网络。利用 String 数据库构建靶基因的 PPI 网络,并筛选出关键基因;再对靶基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。**结果** 桃红大将逐瘀汤加减有 82 个活性化合物作用于 227 个基因,与疾病相关的基因有 4663 个,通过交集得到 177 靶基因;其中 ALB、AKT1、IL6、JUN、CASP3、VEGFA、IL1B、EGFR、PTGS2、MYC 等 10 个基因是关键基因,主要富集在 169 个 GO 条目以及 IL-17 信号通路、TNF 信号通路等 158 个 KEGG 通路中。**结论** 桃红大将逐瘀汤加减主要通过 ALB、AKT1、IL6 等基因及 IL-17 信号通路和 TNF 信号通路调节肠道蠕动功能,达到治疗便秘目的。

**关键词:**便秘;桃红大将逐瘀汤;信号通路;活性化合物

中图分类号:R256.35

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.09.005

文章编号:1006-1959(2023)09-0030-05

## Mechanism of Modified Taohong Dajiang Zhuyu Decoction in the Treatment of Constipation Based on Network Pharmacology

WU Bi-lan,KONG Xiu-lian,ZHU Yun-zhong,CHEN Yu,GAO Feng,PAN Xiao-feng

(Department of Neurosurgery,the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine,  
Nanning 530023,Guangxi,China)

**Abstract:****Objective** To investigation the mechanism of modified Taohong Dajiang Zhuyu decoction in the treatment of constipation based on network pharmacology.**Methods** TCMSP database was used to search and screen the active compound and target of modified Taohong Dajiang Zhuyu decoction. Genes related to constipation were screened by GeneCards and OMIM database, and target genes were obtained by intersection with drug targets, and active compound target gene network was constructed. PPI network of target genes was constructed using String database, and key genes were selected out. GO and KEGG enrichment analysis was done for target genes.**Results** There were 82 active compounds acting on 227 genes, 4663 genes related to disease, 177 target genes were delivered by intersection. Ten genes including ALB, AKT1, IL6, JUN, CASP3, VEGFA, IL1B, EGFR, PTGS2 and MYC were key genes, which were mainly enriched in 169 GO items and 158 KEGG pathways including IL-17 signaling pathway and TNF signaling pathway.**Conclusion** Modified Taohong Dajiang Zhuyu decoction mainly regulates intestinal peristalsis through ALB, AKT1, IL6 and OTHER genes as well as IL-17 signaling pathway and TNF signaling pathway, thus achieving the objective of treating constipation.

**Key words:** Constipation;Taohong Dajiang Zhuyu decoction;Signal pathway;Active compounds

便秘(constipation)是由于大肠功能紊乱,结肠传输功能低下,内容物在肠腔传输缓慢导致的一种胃肠道疾病,其病因尚不明确,可能与长期起居不规律、饮食过于精细、缺少运动等相关。目前对该病尚无有效的根治方法,因此被 WHO 确定成国际性难治疾病。西医治疗主要以促进胃肠动力、调节胃肠菌群为主,但远期效果较不理想,甚至部分药物易产生耐药性,而继续服用则有增加腹泻的

风险,停药后依然会便秘<sup>[1-4]</sup>。由于西药疗效的局限性,因此探索中药治疗便秘是临床研究的重点。中药治疗便秘历史悠久,在缓解患者症状、减少复发等方面具有独特优势。桃红大将逐瘀汤作为我院骨科常见组方用药,主要用于治疗急性腰痛症疼痛,具有活血化瘀、行气消胀、泻热通便的功效,对预防便秘也有一定的疗效<sup>[5,6]</sup>。故而在临床应用中对其组方适当加减(大黄、厚朴、枳实、桃仁、红花)可取得一定的临床疗效,但关于其具体作用机制尚不明确。因此,本研究通过网络药理学方法,分析桃红大将逐瘀汤加减的主要活性化合物及其治疗便秘的基因和通路,以期阐明该组方中的作用机制提供理论基础。

基金项目:广西自治区中医药局(自筹)课题(编号:GZZC2020060)。

作者简介:吴碧兰(1982.9-),女,广西宾阳人,本科,主管护师,主要从事外科护理相关工作

## 1 资料与方法

1.1 活性化合物及其作用靶点的筛选 利用中草药系统药理平台 TCMSPP 数据库(<http://tcmsppw.com/tcmspp.php>)分别检索桃红大承气汤加减中“大黄”“厚朴”“枳实”“桃仁”“红花”5 味中药的活性化合物,筛选出同时满足的口服生物利用度(OB)>30%和类药性 DL>0.18 化合物作为候选的活性化合物;接着,通过 TCMSPP 数据库中的 Related Targets 功能预测出候选的活性化合物作用靶点;并利用基因蛋白注释信息数据库 UniProt(<https://www.uniprot.org/>)对筛选出的靶点注释上基因信息。

1.2 疾病相关基因及中药治疗的靶基因筛选 使用检索词为“constipation”分别在 GeneCards 数据库(<http://www.Gene-cards.org/>)和 OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)中筛选出与便秘相关的基因。为了提高准确度,在 GeneCards 数据库中选择满足“Score>1”条件的基因;然后,使用 Rv64 3.6.1 软件中“VennDiagram”包,使中药活性化合物作用的靶点和疾病相关的基因相交,重叠部分即为桃红大承气汤加减的活性化合物治疗便秘的直接作用靶基因;最后,再通过 Cytoscape3.6.1 软件构建中药的活性化合物-靶基因关系网络图,筛选出关键的活性化合物。

1.3 靶基因蛋白互作网络的构建和关键基因的筛选 采用检测蛋白之间相互作用的数据库 String 平台构建靶基因的 PPI 网络,然后将网络导入到用 Cytoscape3.6.1 软件,通过“cytoHubba”插件对 PPI 网络进行拓扑学分析,得到各个基因表达蛋白之间的关系信息,筛选出较为重要的关键基因。

1.4 靶基因的 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析 GO 功能注释和 KEGG 富集途径可对相关基因数据集中的表达数据进行处理、分析以及注释,以便理解基因作用于疾病的潜在机制。其中,GO 功能注释主要揭示的是基因所涉及的生物过程(BP)、细胞组成(CC)和分子功能(MF),而 KEGG 富集分析主要揭示的是基因所参与的信号通路。使用 Rv64 3.6.1 中“Bioconductor”包对靶基因进行 GO 功能注释和 KEGG 富集分析,设置  $P<0.05$ ,并利用“ggplot2”包绘制出较为显著的 GO 和 KEGG 富集柱状图。

## 2 结果

2.1 桃红大承气汤加减中 5 味中药的活性化合物及其作用靶点 通过 TCMSPP 数据库对 5 味中药进

行搜索和筛选,除去重复的部分共获得独立活性化合物 82 个(3 个重复),其中大黄 16 个、厚朴 2 个、枳实 22 个、桃仁 23 个、红花 22 个,这些活性化合物可作用 227 个靶点。

2.2 桃红大承气汤加减治疗便秘靶基因的筛选 在 GeneCards 和 OMIM 数据库中筛选出了 4663 个与便秘相关的基因,将这 4663 个基因与 227 个中药作用的靶点交集,得到 177 个重叠的基因,即为桃红大承气汤加减治疗便秘的靶基因,见图 1。

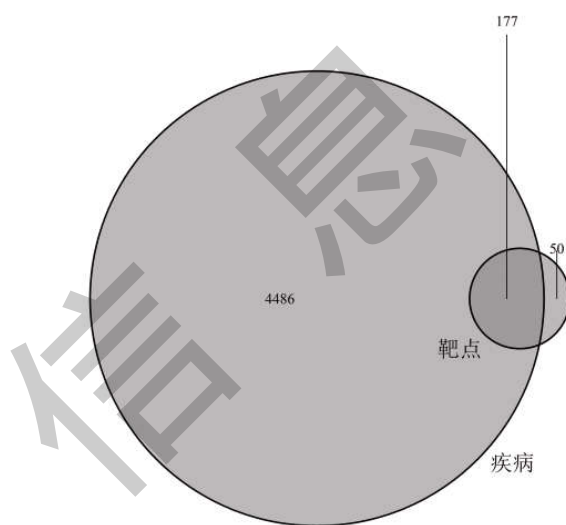


图 1 桃红大承气汤加减与便秘相关基因交集的韦恩图

2.3 中药活性化合物-靶基因网络的构建与分析 结合每一个中药的活性化合物可作用的靶点和筛选出的靶基因,准备好由活性化合物与靶基因关系的文件,导入 Cytoscape3.6.1 软件构建活性化合物-靶基因的网络(图 2),通过网络拓扑学分析,根据“degree”得分,筛选出较为重要的活性化合物 3 个: MOL000098 (quercetin, 槲皮素, 分值 116 分)、MOL000006 (luteolin, 木犀草素, 分值 48 分)、MOL000422 (kaempferol, 山奈酚, 分值 43 分)。

2.4 靶基因 PPI 网络的构建及关键基因的筛选 将交集得到的 177 个靶基因输入在线数据库 String,通过分析得到网络有 177 个节点和 3553 条关系边(图 3)。将 PPI 网络用软件中的插件“cytoHubba”进行拓扑学分析,根据“degree”得分,筛选出 10 个较为重要的关键基因(图 4),分别为 ALB、AKT1、IL6、JUN、CASP3、VEGFA、IL1B、EGFR、PTGS2、MYC。

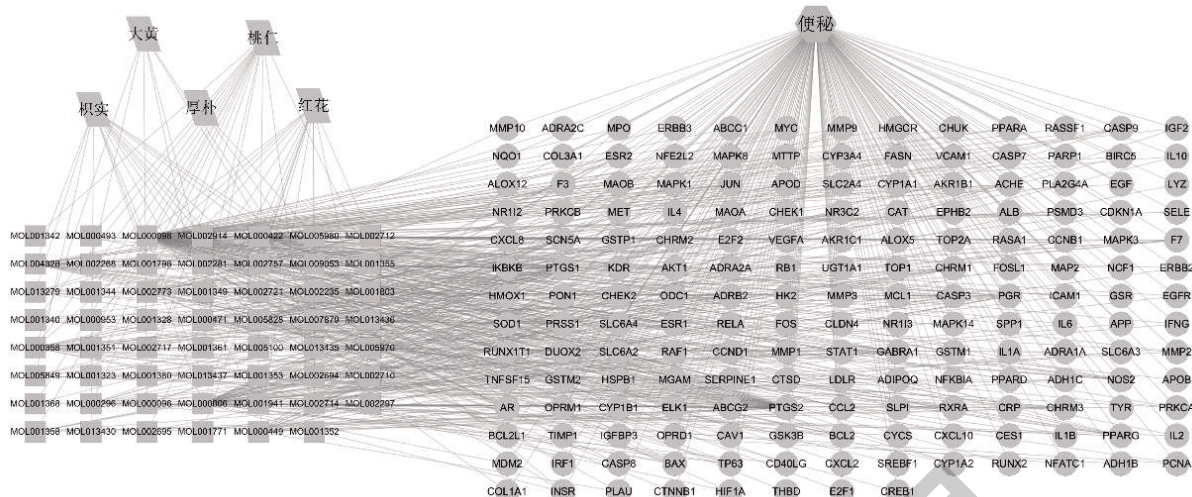


图 2 中药活性化合物-靶基因网络

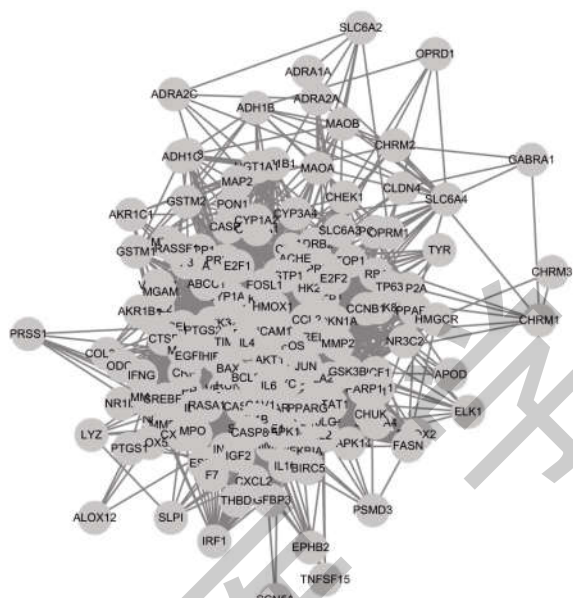


图 3 桃红大承逐瘀汤加减作用的 177 个靶基因的 PPI 互作网络图

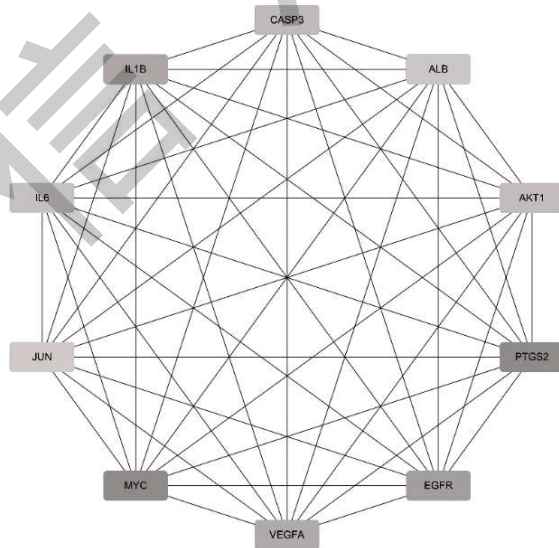


图 4 靶基因的 PPI 网络中的关键基因

2.5 GO 和 KEGG 富集分析 利用 RxBio 3.6.1 中“Bioconductor”包对 177 个靶基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,结果显示 GO 共有 169 个富集条目,KEGG 共有 158 个富集条目,分别绘制出前 20 个较为显著的富集条目的柱状图(图 5、图 6)。GO 富集分析显示,177 个靶基因在 nuclear receptor activity、transcription factor activity、direct ligand regulated sequence-specific DNA binding、steroid hormone recep-

tor activity(核受体活性、转录因子活性、直接配体调节的序列特异性 DNA 结合、类固醇激素受体活性)中显著富集;KEGG 富集分析显示,177 个靶基因显著富含在 AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications、IL-17 signaling pathway、TNF signaling pathway (AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路)等。



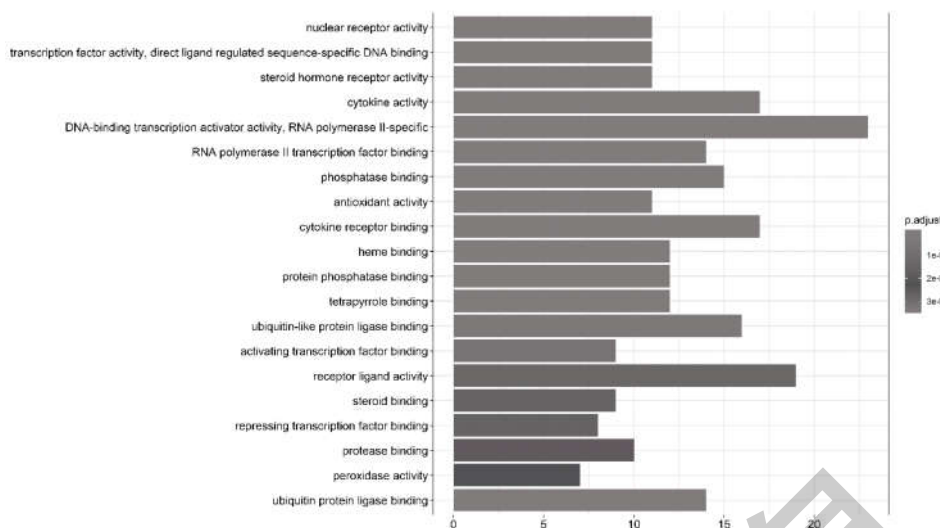


图 5 177 个靶基因的 GO 富集柱状图

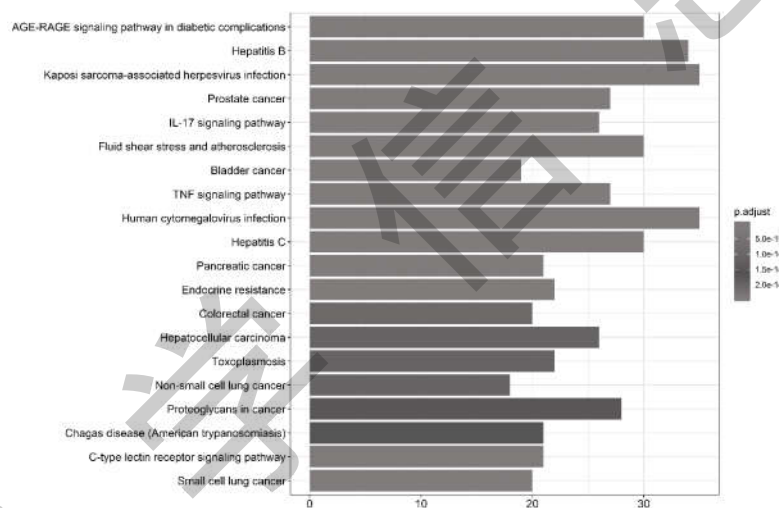


图 6 177 个靶基因的 KEGG 富集柱状图

### 3 讨论

便秘属于中医“大便难”“脾约”等范畴。血瘀是便秘关键病因,血瘀与糟粕内停与肠道日久,蕴结成毒,损伤气血,毒害肠络,形成“久病血瘀,瘀毒损络”的病机<sup>[7-9]</sup>。有研究表明<sup>[5,6]</sup>,桃红大将逐瘀汤切中其病机,运用其预防便秘有一定的疗效。本研究在桃红大将逐瘀汤基础上化裁,去除槟榔、生姜,加入厚朴、枳实,取小承气汤去痞、满之功,达到活血化瘀、行气消胀、泻热通便的目的。

本研究初步筛选出桃红大将逐瘀汤加減中有 82 个活性化合物,有 55 个活性化合物可直接作用于与便秘相关的基因,其中槲皮素、木犀草素和山奈酚等有效成分发挥着重要作用,它们均属于具有抗炎、抗癌和抗氧化等作用的黄酮类化合物。槲皮素

可通过抑制炎症因子及细胞因子的反应起到预防肠道黏膜损伤的作用,从而改善便秘症状<sup>[10]</sup>;同样,山奈酚也具有控制肠道细胞过量表达炎症因子及相关蛋白的作用<sup>[11]</sup>。木犀草素可通过降低 NO 的含量而发挥抗炎作用<sup>[12]</sup>。由于 NO 进入胃肠道平滑肌细胞,可使其收缩被抑制,导致胃肠蠕动变慢引起便秘的发生<sup>[13]</sup>,因此木犀草素通过抑制细胞因子的表达改善肠道蠕动,进而功能起到治疗便秘的作用。

本研究进一步分析桃红大将逐瘀汤加減直接作用的 177 个便秘相关基因,得到 ALB、AKT1、IL6、JUN、CASP3、VEGFA、IL1B、EGFR、PTGS2、MYC 等 10 个较为重要的基因。ALB 是编辑表达成白蛋白的基因,其主要在肝脏中合成,在体内发挥结合和运输生物活性分子的作用<sup>[14]</sup>,而肠道蠕动功能与 ALB 的

含量呈正比,当 ALB 较少时肠蠕动明显较弱<sup>[15]</sup>,提高 ALB 水平可有效改善便秘<sup>[16]</sup>。AKT 是一种人类丝氨酸-苏氨酸激酶,是 AGC 蛋白激酶家族的成员<sup>[17,18]</sup>,而 AKT1 是多种人类恶性肿瘤通路的关键因子,肿瘤通路可通过抑制 Cajal 间质细胞的表达,进而使胃肠动力减弱<sup>[19-21]</sup>。IL6 是由多种细胞产生具有多效性作用的炎性因子,通过转录激活子-3 引起肠道炎性反应,而抑制肠道中的炎性反应可改善肠蠕动功能<sup>[22]</sup>。

另外,本研究对靶基因进行富集分析可知,桃红大将逐瘀汤加减治疗便秘主要通过核受体活性、转录因子活性、直接配体调节的序列特异性 DNA 结合、类固醇激素受体活性等发挥作用,并参与 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路、TNF 信号通路等起到调节作用。其中,IL-17 信号通路是一条重要的炎性反应通路,而 TNF 信号通路为关键的肿瘤通路,它们均可引起肠道黏膜损伤,从而导致肠蠕动减弱,通过药物控制该通路可有效缓解便秘。

综上所述,本研究运用网络药理学的方法,检索筛选桃红大将逐瘀汤加减的活性化合物及其治疗便秘的靶基因,再进行 GO 和 KEGG 富集分析,预测出桃红大将逐瘀汤加减中的主要有效成分槲皮素、木犀草素和山奈酚,通过影响 ALB、AKT1、IL6 等靶基因,调节 IL-17 信号通路、TNF 信号通路来抑制炎症反应,调控肠道蠕动功能,从而达到治疗便秘的目的。

#### 参考文献:

- [1] 许秀芬,李金萍,杨敏,等.中西药合用治疗老年慢性便秘临床观察[J].实用中医药杂志,2020,36(7):879-880.
- [2] Naseer M,Poola S,Uraz S,et al.Therapeutic Effects of Prebiotics on Constipation: A Schematic Review [J].Curr Clin Pharmacol,2020,15(3):207-215.
- [3] Zhu L,Ma Y,Deng X.Comparison of acupuncture and other drugs for chronic constipation: A network meta-analysis[J].PLoS One,2018,13(4):e0196128.
- [4] 林琳,陈颖.慢性便秘治疗药物临床试验设计和评价考虑要点[J].中国临床药理学杂志,2022,38(11):1287-1292.
- [5] 钟远鸣,李智斐,许建文,等.桃红大将逐瘀汤对急性腰痛症疼痛缓解及便秘预防的疗效观察 [J]. 广西中医学院学报,2009,12(1):3-5.
- [6] 黎启福,黄志锋,冼海庭,等.桃红大将逐瘀汤加减方治疗胸腰椎骨折早期并发症 73 例[J].实用中医药杂志,2018,34(6):664-665.
- [7] 陈萌,于永锋,张斯瑶,等.化瘀通便汤对慢传输型便秘大鼠结肠 Cajal 间质细胞及相关蛋白表达调节作用的实验研究[J].时珍国医国药,2022,33(5):1056-1059.

- [8] 陈霞,温伟波,张鹏.理气导滞法对慢传输型便秘小鼠结肠动力的促进作用[J].中成药,2019,41(7):1717-1720.
- [9] 王亮,王鹏达,齐玉珍,等.健脾通便汤治疗慢传输型便秘的临床观察[J].宁夏医学杂志,2019,41(12):1095-1097.
- [10] Kim JE,Lee MR,Park JJ,et al.Quercetin promotes gastrointestinal motility and mucin secretion in loperamide-induced constipation of SD rats through regulation of the mAChRs downstream signal[J].Pharm Biol,2018,56(1):309-317.
- [11] 卞艺斐.马齿苋对实验性肠炎大鼠的保护作用及其机制研究[D].北京:中国农业大学,2018.
- [12] Rakariyatham K,Wu X,Tang Z,et al.Synergism between luteolin and sulforaphane in anti-inflammation [J].Food Funct,2018,9(10):5115-5123.
- [13] 张喻然,王波.济川煎加味联合腹针对慢传输型便秘(脾阳虚型)疗效及对血清 SP 和 NO 水平的干预影响[J].中国中西医结合消化杂志,2018,26(3):238-242.
- [14] Bteich M,Poulin P,Haddad S.The potential protein-mediated hepatic uptake: discussion on the molecular interactions between albumin and the hepatocyte cell surface and their implications for the in vitro-to-in vivo extrapolations of hepatic clearance of drugs [J].Expert Opin Drug Metab Toxicol,2019,15(8):633-658.
- [15] Liang Y,Wang Y,Wen P,et al.The Anti-Constipation Effects of Raffinose-Oligosaccharide on Gut Function in Mice Using Neurotransmitter Analyses, 16S rRNA Sequencing and Targeted Screening[J].Molecules,2022,27(7):2235.
- [16] Chen R,Yin W,Gao H,et al.The effects of early enteral nutrition on the nutritional statuses, gastrointestinal functions, and inflammatory responses of gastrointestinal tumor patients[J].Am J Transl Res,2021,13(6):6260-6269.
- [17] Manning BD,Toker A.AKT/PKB Signaling: Navigating the Network[J].Cell,2017,169(3):381-405.
- [18] Cole PA,Chu N,Salguero AL,et al.AKTivation mechanisms [J].Curr Opin Struct Biol,2019,59:47-53.
- [19] Zhou J,Peng Y,Gao YC,et al.Targeting DNAJC19 overcomes tumor growth and lung metastasis in NSCLC by regulating PI3K/AKT signaling[J].Cancer Cell Int,2021,21(1):338.
- [20] Chen Y,Huang L,Dong Y,et al.Effect of AKT1 (p. E17K) Hotspot Mutation on Malignant Tumorigenesis and Prognosis[J].Front Cell Dev Biol,2020,8:573599.
- [21] 梁红宝,李蕊,姚景春,等.基于网络药理学和分子对接方法研究首荟通便胶囊治疗便秘的作用机制 [J]. 中国中药杂志,2021,46(3):511-519.
- [22] 范文涛,王攀红,王倩.马齿苋多糖对溃疡性结肠炎大鼠肠组织 IL-6/STAT3 及 NF-κB 的影响 [J]. 中国应用生理学杂志,2018,34(3):263-267.

收稿日期:2022-07-04;修回日期:2022-07-21

编辑/杜帆