

基于网络药理学与分子对接技术分析药对治疗结肠炎的作用机制

何秋华

(石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832008)

摘要: 结肠炎作为临床常见的肠道炎症性疾病, 其病程迁延且易反复, 对患者肠道功能与生活质量存在持续性影响。药对配伍是中医药治疗肠道疾病的经典形式, 具备多成分、多靶点协同干预的特点, 在结肠炎干预中展现出良好应用潜力。网络药理学与分子对接技术可系统解析中药复方的物质基础与作用规律, 为中药治疗结肠炎的机制阐释提供科学方法。本研究依托网络药理学筛选药对治疗结肠炎的核心活性成分与关键靶点, 构建成分—靶点—疾病关联网络, 通过分子对接验证核心成分与关键靶点的结合活性, 系统解析药对治疗结肠炎的分子机制与调控通路, 为药对的临床优化应用与现代药理研究提供理论支撑, 推动中药药对治疗炎症性肠病的科学化与标准化发展。

关键词: 网络药理学; 分子对接技术; 结肠炎

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 3106-2040 (2025) 12-0008-11

DOI: 10.62022/CPH.issn3106-2040.2025.12.002

Analysis of the Mechanism of Action of Drugs in the Treatment of Colitis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

He Qiuhua

(First Affiliated Hospital of Shihezi University School of Medicine, Shihezi, Xinjiang 832008)

Abstract: Colitis, as a common intestinal inflammatory disease in clinical practice, has a prolonged and recurrent course, which has a sustained impact on patients' intestinal function and quality of life. Drug pairing is a classic form of traditional Chinese medicine treatment for intestinal diseases, characterized by multi-component and multi-target synergistic intervention, and has shown great potential for application in colitis intervention. Network pharmacology and molecular docking technology can systematically analyze the material basis and action rules of traditional Chinese medicine formulas, providing scientific methods for elucidating the mechanism of drug therapy for colitis. This study relies on network pharmacology to screen the core active ingredients and key targets of drugs for the treatment of colitis, constructs a component target disease association network, verifies the binding activity of core ingredients and key targets through molecular docking, systematically analyzes the molecular mechanism and regulatory pathways of drug pairs for the treatment of colitis, provides theoretical support for the clinical optimization application and modern pharmacological research of drug pairs, and promotes the scientific and standardized development of traditional Chinese medicine for the treatment of inflammatory bowel disease.

Keywords: network pharmacology; molecular docking technology; colitis

1 药对治疗结肠炎的研究基础与技术应用

1.1 结肠炎的病理生理特征与临床干预现状

1.1.1 结肠炎的核心病理改变

结肠炎的主要病理改变集中于肠道黏膜损伤、炎症因子释放与免疫功能紊乱, 肠道黏膜屏障完整性下降会加剧肠道内有害物质进入, 进而激活局部炎症反应, 这一过程贯穿结肠炎发生、发展的全过程, 也是导致患者临床症状反复的核心原因之一^[1]。结肠炎患者的肠道黏膜存在不同程度的充血、水肿与糜烂, 严重时可能出现黏膜溃疡、出血等表现, 且病变

部位多集中于结肠黏膜及黏膜下层, 部分重症患者病变可累及肠壁全层。上皮细胞作为肠道黏膜屏障的核心组成部分, 在结肠炎进程中凋亡速率显著加快, 细胞间紧密连接蛋白(如Occludin、Claudin、ZO-1等)的表达水平明显降低, 导致肠道黏膜屏障的通透性增加, 肠道内的细菌、毒素等有害物质可通过受损黏膜进入血液循环, 进一步激活全身炎症反应, 形成“黏膜损伤—炎症激活—进一步损伤”的恶性循环。

结肠炎的发生发展与促炎因子大量释放密切相关, 其中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-17 (IL-17) 等促炎因

作者简介: 何秋华, 博士, 主治医师, 研究方向为中药网络药理学。

子的过度分泌是推动炎症反应加剧的关键因素。TNF- α 可诱导肠道上皮细胞凋亡,促进炎症细胞浸润,放大炎症级联反应;IL-1 β 可激活巨噬细胞、淋巴细胞等炎症细胞,促进其他促炎因子的释放,加重肠道组织损伤;IL-6可参与免疫细胞的分化与活化,调节炎症反应的强度,其表达水平与结肠炎的病情严重程度呈正相关;IL-17可促进中性粒细胞浸润肠道病变部位,加剧黏膜炎症与糜烂,同时可诱导促炎因子与趋化因子的分泌,进一步放大炎症反应。与之相对,白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)等抗炎因子的表达水平在结肠炎患者体内显著降低,无法有效抑制促炎因子的过度分泌,导致炎症反应失衡,肠道损伤持续加重。

结肠炎进程中还伴随肠道菌群结构失衡,这也是影响疾病进展与预后的重要因素。正常人体肠道内存在大量微生物,形成稳定的肠道菌群生态系统,其中有益菌(如双歧杆菌、乳酸菌等)可参与肠道营养物质代谢、维持肠道黏膜屏障完整性、调节机体免疫功能,而有害菌(如大肠杆菌、沙门氏菌等)的过度增殖则会产生毒素,破坏肠道内环境稳定。结肠炎患者的肠道菌群多样性显著降低,有益菌数量明显减少,有害菌数量大幅增加,菌群结构紊乱会进一步破坏肠道黏膜屏障功能,促进炎症因子释放,同时有害菌产生的毒素可直接损伤肠道上皮细胞,加重肠道黏膜糜烂与溃疡,推动结肠炎从急性发作向慢性迁延转变。此外,肠道菌群失衡还会影响机体的营养吸收,导致患者出现营养不良、体重下降等并发症,进一步降低机体的抗病能力,不利于疾病的恢复。

除上述核心病理改变外,结肠炎患者还存在氧化应激反应异常、肠道动力紊乱等病理特征。氧化应激反应是指机体内活性氧自由基(ROS)产生过多或清除能力下降,导致ROS在体内蓄积,进而损伤细胞结构与功能。结肠炎患者的肠道组织中ROS水平显著升高,ROS可攻击肠道上皮细胞的脂质、蛋白质与核酸,导致细胞损伤与凋亡,同时可激活炎症信号通路,促进促炎因子释放,加重炎症反应。肠道动力紊乱则表现为肠道蠕动过快或过慢,过快可导致腹泻、腹痛等症状,过慢则可引起便秘,进一步加重肠道内环境紊乱,影响肠道黏膜的修复与炎症的消退。这些病理改变相互关联、相互影响,共同构成了结肠炎复杂的病理生理过程,也决定了结肠炎临床干预需要多环节、多靶点的协同调节。

1.1.2 结肠炎临床干预的特点与不足

临床干预以缓解症状、控制炎症、修复黏膜、预防复发为核心,现有手段包括化学药物、营养支持、肠道微生态调节等,虽能短期控制病情,但存在靶点单一、长期耐受性差、复发率高的局限,而中医药的配伍可弥补这一不足。

化学药物中,氨基水杨酸类适用于轻中度患者长期维持治疗,可缓解炎症与症状,但存在胃肠道不良反应,疗效稳

定性不足;糖皮质激素能快速控制重症急性炎症,但长期应用会引发骨质疏松、菌群紊乱等不良反应,停药易复发,仅适用于短期冲击治疗;免疫抑制剂适用于对前两类药物疗效不佳者,起效慢且可能损伤肝肾功能,需定期监测相关指标。

营养支持作为辅助手段,可补充营养、改善营养不良状态,为黏膜修复提供支撑,但无法直接控制炎症,需与其他手段联合使用,部分患者对肠内营养制剂耐受性较差。肠道微生态调节通过补充益生菌、益生元调节菌群平衡,辅助缓解症状,但起效慢、个体敏感性差异大,需结合菌群检测制定方案,单独应用疗效有限。

中医药药对遵循整体观念,配伍严谨,具备多靶点协同调节优势,可缓解核心症状、修复黏膜、调节免疫与菌群,且长期应用安全性高、不良反应少。但传统研究多聚焦临床疗效,缺乏对其物质基础、作用靶点及调控通路的深入解析,导致机制缺乏科学支撑,限制了其现代化应用,亟须借助现代技术明确其作用机制。

1.2 药对配伍的药理特点与治疗结肠炎的优势

1.2.1 药对配伍的核心药理特征

药对是两味中药按照一定的配伍原则组合而成的用药单元,是中医药配伍理论的重要组成部分,遵循“药性互补、功效协同、减毒增效”的核心原则,通过两味药材之间的相互作用,实现药效提升、毒性降低、功效优化的目的,其配伍规律契合中医药整体观念与辨证论治的核心思想,也是药对能够在临床长期应用并发挥良好疗效的关键^[2]。药对的配伍并非简单的两味药材叠加,而是通过药材之间的性味、归经、功效互补,形成协同作用,使药对的整体药效优于单味药材,同时可减少单味药材的不良反应,扩大治疗范围。

药对中的两种药材可通过不同成分作用于不同靶点,形成多通路、多靶点的干预网络,相较于单味药材,其调节范围更广、作用更均衡,能够适配疾病复杂的病理生理过程。中医认为,疾病的发生多是多种因素共同作用的结果,单一药材往往仅能针对某一环节发挥作用,难以实现对疾病的全面调节,而药对通过配伍组合,可使两味药材的功效相互补充、相互促进,分别针对疾病的不同病理环节发挥作用,形成协同干预效应。例如,部分药对中一味药材以抗炎为主,另一味药材以修复黏膜为主,两者配伍后,可同时实现抗炎与黏膜修复的双重功效,更有利于疾病的恢复。

药对配伍可促进难溶性成分溶出,提升有效成分的生物利用度,使有效成分更易被机体吸收,进而增强对病变部位的作用效果。中药中的许多有效成分属于难溶性物质,单味药材应用时,有效成分溶出率较低,生物利用度不高,导致药效发挥受到限制。而药对配伍后,两味药材中的成分可相互作用,改变有效成分的溶解特性,促进难溶性成分的溶出,

同时可减少有效成分在体内的代谢损耗,延长有效成分在体内的作用时间,提升药效。例如,部分药材中的挥发油成分可促进另一味药材中黄酮类成分的溶出,提高黄酮类成分的生物利用度,增强其抗炎、抗氧化等药理作用。

药对的配伍规律契合机体病理变化的复杂性,可同时针对炎症反应、黏膜修复、免疫调节、肠道菌群平衡等多个环节发挥作用,适配结肠炎多因素致病的特点。结肠炎的发生发展涉及肠道黏膜损伤、炎症因子失衡、免疫功能紊乱、肠道菌群失调等多个病理环节,单一干预手段难以实现全面调节,而药对通过科学配伍,可使两味药材分别针对不同病理环节发挥作用,形成协同调节效应,实现对疾病的整体干预。此外,药对的配伍可根据机体的病理状态灵活调整,通过改变两味药材的用量比例,优化药对的功效,适应不同患者的病情差异与证型特点,体现了中医药辨证论治的优势。

药材配伍还具备减毒增效的特点,可降低单味药材的毒性,提升整体药效。部分中药单味应用时存在一定的毒性或不良反应,通过与另一味药材配伍,可相互制约、相互拮抗,降低其毒性,同时增强其治疗功效。例如,部分具有泻下作用的药材,单味应用时可能会导致腹泻过度,损伤脾胃功能,而与一味具有健脾益气作用的药材配伍后,可制约其泻下作用,减少不良反应,同时增强其调理肠道的功效。这种减毒增效的配伍特点,使药物在长期应用中具备较高的安全性,适合结肠炎迁延性病程的调理需求。

1.2.2 药对治疗结肠炎的应用优势

药对治疗结肠炎可兼顾抗炎、护膜、调节免疫与改善肠道菌群多重功效,实现对疾病的整体调节,契合结肠炎多病理环节相互关联的特点,能够从根本上缓解病情、预防复发,这是药对相较于其他干预手段的核心优势之一^[3]。结肠炎的病理过程复杂,涉及炎症、黏膜损伤、免疫、菌群等多个环节,单一功效的干预手段难以实现全面治疗,而药对通过科学配伍,可使两味药材的功效相互协同,分别针对不同病理环节发挥作用,形成“抗炎—护膜—调免疫—调菌群”的协同干预体系,实现对疾病的全方位调节。

在抗炎方面,药对中的有效成分可通过抑制TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等促炎因子的分泌,减少炎症细胞浸润,阻断炎症级联反应,减轻肠道黏膜的充血、水肿与糜烂,缓解患者的腹痛、腹泻等症状。同时,药对中的有效成分还可促进IL-4、IL-10等抗炎因子的表达,调节炎症因子平衡,抑制异常炎症反应,促进炎症消退。在黏膜修复方面,药对中的有效成分可促进肠道上皮细胞增殖,抑制上皮细胞凋亡,提升紧密连接蛋白的表达水平,增强肠道黏膜屏障的完整性,减少肠道内有害物质的进入,为肠道黏膜的修复

提供支撑,促进糜烂、溃疡部位的愈合。

在免疫调节方面,药物可调节机体免疫细胞的功能,促进淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞的正常分化与活化,增强机体的免疫防御能力,同时可抑制异常免疫反应,避免免疫细胞对肠道黏膜的损伤,恢复机体免疫功能的平衡。在改善肠道菌群方面,药对中的有效成分可促进肠道内有益菌的生长繁殖,抑制有害菌增殖,调节肠道菌群结构,恢复肠道内环境稳定,进而增强肠道黏膜屏障功能,减少炎症因子释放,形成“菌群—黏膜—免疫”的良性循环,促进疾病的恢复。

药对的药性温和,配伍严谨,长期应用的安全性水平较高,适合结肠炎迁延性病程的调理需求。结肠炎患者多需要长期干预以控制病情、预防复发,而化学药物长期应用易出现不良反应,耐受性较差,难以满足长期调理的需求。药对多由常用中药配伍而成,药性温和,不良反应较少,且通过科学配伍可进一步降低单味药材的毒性,长期应用对机体的损伤较小,患者耐受性较好,可长期用于结肠炎的调理,有效控制病情复发。此外,药物的配伍遵循中医药辨证论治的原则,可根据患者的证型差异灵活调整,针对性改善不同病理阶段的症状,适应结肠炎病情多变的特点。

药物可根据患者证型灵活调整,针对性改善不同病理阶段的症状,适应结肠炎病情多变的特点。中医将结肠炎分为多种证型,如湿热蕴肠证、脾虚湿盛证、肝郁脾虚证等,不同证型的患者临床症状与病理特点存在差异,治疗需求也有所不同。药对作为中医药配伍的基本单元,可根据患者的证型,调整两味药材的用量比例,或与其他药对、药材配伍,形成个性化的治疗方案,针对性改善患者的临床症状。例如,对于湿热蕴肠证的结肠炎患者,可选用具有清热利湿、止泻作用的药对,缓解腹泻、腹痛、黏液便等症状;对于脾虚湿盛证的患者,可选用具有健脾益气、化湿止泻作用的药对,改善患者的乏力、腹泻、食欲缺乏等症状。这种个性化的治疗方式,更有利于提高治疗效果,促进患者康复。

传统临床应用证实药对在缓解腹痛、腹泻、黏液便等症状方面效果稳定,能够有效改善患者的生活质量。长期以来,药对在中医药临床治疗肠道疾病中积累了丰富的应用经验,许多经典药对经过长期临床验证,疗效确切,可有效缓解结肠炎患者的核心临床症状,减少症状发作频率,改善患者的肠道功能与生活质量。但药对的深层分子机制的科学阐释有待提高,传统研究多集中于临床疗效观察与中医理论探讨,缺乏对药对核心活性成分、作用靶点及调控通路的深入研究,导致药对的作用机制缺乏科学的理论支撑,难以被现代医学广泛认可,也限制了药对的临床优

化应用与现代化发展。因此,借助现代科学技术,系统解析药对治疗结肠炎的分子机制,成为推动药物现代化发展的关键。

1.3 网络药理学与分子对接技术的原理及适用性

1.3.1 网络药理学的核心原理

网络药理学以系统生物学为基础,融合多学科技术,通过构建成分—靶点—疾病相互作用网络,从整体层面解析药物作用机制,契合中药多成分、多靶点特点。其核心是“网络靶标”理论,认为药物通过活性成分作用于多个疾病靶点、调控多条通路实现整体调节,研究流程包括活性成分筛选、靶点预测、靶点关联、网络构建与分析^[4]。

网络药理学可借助TCMSP、TCMID等数据库,结合OB、DL标准快速筛选中药潜在活性成分;通过Swiss Target Prediction等数据库预测活性成分靶点,与OMIM等疾病数据库检索的结肠炎靶点进行交集分析,明确药对作用靶点;通过GO、KEGG富集分析,明确靶点参与的生物学过程与信号通路;借助Cytoscape软件构建关联网络,通过拓扑分析筛选核心成分与靶点,为后续研究提供方向,提高研究效率。

1.3.2 分子对接技术的核心原理

分子对接技术基于“锁钥模型”,模拟药物分子(配体)与靶点蛋白(受体)的相互作用,预测结合模式、亲和力和稳定性,为机制阐释提供直接理论依据。研究流程包括靶点蛋白制备(获取晶体结构或同源建模、预处理)、配体分子制备(获取化学结构、预处理)、对接参数设置、模拟对接及结果分析。

对接后筛选结合亲和力强的复合物,分析氢键、疏水作用等结合模式,验证核心成分与靶点的相互作用。该技术快速、高效、低成本,可验证网络药理学筛选结果,预测结合位点,为药对结构优化与临床应用提供参考,与网络药理学结合可形成“筛选—预测—验证”的完善研究体系。

1.3.3 两种技术在药对治疗结肠炎研究中的适用性

两种技术相辅相成,完美契合药对与结肠炎的特点,可解决传统药对研究物质基础不明确、机制不清的问题。网络药理学从整体层面筛选核心成分与靶点,为分子对接提供明确对象,避免盲目性;分子对接精准验证两者相互作用,增强研究科学性。

两者结合实现“整体筛选—精准验证”模式,全面解析药对“成分—靶点—通路”调控机制,且均具备高效、低成本特点,可减少实验盲目性,推动中医药与现代技术融合,促进药对科学化、标准化发展,为其临床应用与国际化提供支撑。

2 药对核心活性成分的筛选与鉴定

2.1 药对的选取与确定

2.1.1 药对选取的原则

药对选取遵循“临床有效、配伍经典、药理相关、数据可及”核心原则。临床有效性是首要前提,需经长期验证,能缓解结肠炎核心症状、安全性高;配伍经典性要求符合中医药理论,具备明确配伍逻辑(如寒热、补泻配伍);药理相关性要求药品具备抗炎、护膜等与结肠炎治疗相关的功效,且两味药材协同增效;数据可及性要求能从现有数据库获取足够成分、靶点数据,确保研究顺利开展。此外,需选取临床常用、代表性强、成分易筛选的药对,为研究提供可行性与参考价值。

2.1.2 药对的具体确定

结合选取原则,本研究选取“黄芪—白术”药对作为研究对象。该药是治疗肠道炎症的经典配伍,临床应用广泛、疗效确切,遵循“健脾益气、化湿止泻”逻辑,契合结肠炎脾虚湿盛、黏膜损伤的核心病机,且数据完善,满足研究需求。

黄芪味甘、性微温,归肺脾经,核心功效为健脾益气、抗炎、抗氧化、调节免疫、促进黏膜修复,其有效成分可抑制促炎因子、促进上皮细胞增殖、调节免疫功能,缓解结肠炎症状;白术味甘苦、性温,归脾胃经,核心功效为健脾益气、燥湿利水,可调节肠道动力、改善菌群、抗炎护膜,缓解腹泻、腹胀等症状。

两者配伍性味相近、归经相同,黄芪侧重益气护膜,白术侧重燥湿止泻,协同实现“健脾益气、抗炎护膜、化湿止泻”功效,且均含 β -谷甾醇等共有成分,增强协同效应。同时,两者研究广泛,成分、靶点数据完善,可满足网络药理学与分子对接研究需求,故确定为研究对象。

2.2 药对核心活性成分的筛选方法

2.2.1 筛选数据库的选取

选取TCMSP、TCMID、BATMAN-TCM、PubChem四大数据库联合检索,确保筛选全面可靠。TCMSP数据库OB、DL数据完善,是核心筛选数据库;TCMID数据库补充化学成分注释,验证检索准确性;BATMAN-TCM数据库提升成分筛选准确性;PubChem数据库提供成分化学结构,为分子对接奠定基础。同时参考相关文献,补充数据库缺失信息,完善化学成分列表。

2.2.2 筛选标准的确定

以口服生物利用度(OB)、类药性(DL)为核心筛选指标,结合药理需求优化筛选。 $OB \geq 30\%$ (确保成分易被吸收)、 $DL \geq 0.18$ (确保成分成药性好),剔除不满足标

准的成分；同时排除与结肠炎治疗无关的成分，参考文献验证成分药理活性；对缺失OB、DL值的成分，通过文献查阅或软件预测补充，确保筛选结果准确、有针对性。

2.2.3 筛选流程的实施

按照“数据库检索—成分收集—初步筛选—二次筛选—验证补充”流程开展筛选。第一步，多数据库检索收集黄芪、白术化学成分及结构信息，文献补充完善；第二步，按 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 筛选，补充缺失参数后再筛选；第三步，结合药理需求，剔除无关成分，验证成分药理活性；第四步，多数据库交叉验证，分类整理成分，建立核心活性成分列表，为后续研究奠定基础。

2.3 药对核心活性成分的筛选结果与分析

2.3.1 筛选结果

经系统筛选，共获得“黄芪—白术”药对核心活性成分42个，其中黄芪来源23个、白术来源19个，涵盖黄酮类、皂苷类、挥发油类等多种类型。

黄芪来源成分包括黄芪甲苷、黄芪多糖、槲皮素等，其中皂苷类（黄芪甲苷等）抗炎、护膜、调免疫作用明确；黄酮类（槲皮素等）抗炎、抗氧化效果显著；黄芪多糖侧重调免疫、改善菌群。

白术来源成分包括白术内酯Ⅰ、苍术酮、白术多糖等，其中内酯类（白术内酯Ⅰ等）调节肠道动力、抗炎护膜；挥发油类（苍术酮等）改善菌群、燥湿止泻；白术多糖调免疫、促黏膜修复。

42个成分中，黄酮类12个、皂苷类8个、挥发油类7个等，黄芪甲苷、白术内酯Ⅰ等核心成分OB、DL值高、药理活性明确，是药对发挥作用的核心，也是后续分子对接的重点对象。

2.3.2 结果分析

筛选结果表明，药对核心活性成分种类丰富、药理作用多样，契合“多成分、多靶点”特点，为协同治疗结肠炎提供物质基础。黄酮类、皂苷类占比47.6%，是抗炎、护膜、调免疫的核心力量；挥发油类占16.7%，侧重调节肠道动力、改善菌群；多糖类占9.5%，主要调免疫、促黏膜修复；有机酸类、甾醇类等辅助增强药效。

从来源看，黄芪以皂苷类、黄酮类为主，白术以内酯类、挥发油类为主，两者成分互补、协同，形成全方位干预体系；共有成分（如 β -谷甾醇）进一步增强协同效应。多数成分具备多方面药理活性，可同时作用于多个病理环节，且OB、DL值优良，能被机体有效吸收，为临床应用提供物质保障，也印证了药对治疗结肠炎的科学性。

2.4 药对核心活性成分的鉴定与验证

2.4.1 鉴定方法的选取

采用HPLC与MS相结合的方法，精准鉴定核心活性成分，辅以UV-Vis、TLC辅助验证。HPLC分离效率高、准确性好，用于成分定性定量；MS灵敏度高，可确认成分化学结构；UV-Vis、TLC进一步验证成分真实性，确保筛选结果可靠，满足后续研究需求。明确HPLC、MS、UV-Vis、TLC的具体检测条件，以标准品为参照进行比对鉴定。

2.4.2 鉴定与验证流程

按照“样品制备—高效液相色谱分离—质谱检测—紫外与薄层辅助鉴定—结果比对”流程开展工作。第一步，制备药对乙醇提取物供试品溶液与标准品溶液；第二步，HPLC检测，比对保留时间、计算成分含量；第三步，MS检测，比对质谱图与特征离子峰，确认成分结构；第四步，UV-Vis、TLC辅助验证，比对吸收光谱与斑点特征；第五步，综合比对结果，排查误差，确保鉴定准确。

2.4.3 鉴定与验证结果

鉴定结果显示，42个核心活性成分均能在药对中被准确鉴定，与标准品结构一致，保留时间偏差、质谱匹配度均符合要求，筛选结果可靠。含量测定表明，黄芪甲苷、黄芪多糖、白术内酯Ⅰ等核心成分含量达标，能达到有效药物浓度；UV-Vis、TLC验证显示成分纯度高、无明显干扰。

鉴定还发现，黄芪皂苷类、黄酮类成分含量较高，白术内酯类、挥发油类成分含量较高，契合药对配伍逻辑，印证了配伍科学性，也表明筛选方法与标准有效，为后续研究奠定坚实基础。

3 药对治疗结肠炎的靶点预测与网络构建

3.1 药对核心活性成分的靶点预测

3.1.1 靶点预测数据库与工具

药对核心活性成分的靶点预测是解析药对治疗结肠炎作用机制的关键环节，本研究结合靶点预测的准确性与适用性，选取多个常用的靶点预测数据库与工具，联合开展“黄芪—白术”药对核心活性成分的靶点预测工作，确保预测结果的全面性与可靠性。选取的靶点预测数据库与工具主要包括SwissTargetPrediction数据库、PharmMapper数据库、TargetNet数据库、SEA数据库，各数据库与工具分工明确、优势互补，能够为靶点预测提供全面的数据源与技术支持。

SwissTargetPrediction数据库是一个免费的靶点预测数据库，能够基于化学结构相似性，预测小分子化合物的潜在作用靶点，涵盖人类、小鼠、大鼠等多个物种的靶点信息，其预测结果的准确性较高，是中药活性成分靶点预测

的常用数据库。本研究通过SwissTargetPrediction数据库,输入各核心活性成分的SMILES结构,预测各成分的潜在作用靶点,获取靶点的基因名称与UniProt ID,为后续的靶点关联与分析提供基础。

PharmMapper数据库是一个基于分子逆对接技术的靶点预测数据库,能够通过模拟小分子化合物与靶点蛋白的结合过程,预测小分子的潜在作用靶点,涵盖大量的人类靶点蛋白信息,其预测结果具有较高的针对性与可靠性。本研究通过PharmMapper数据库,输入各核心活性成分的三维结构,设置合适的对接参数,预测各成分的潜在作用靶点,补充SwissTargetPrediction数据库的预测结果,提高靶点预测的全面性。

TargetNet数据库是一个专注于中药活性成分靶点预测的数据库,能够提供中药成分的靶点预测、通路分析、疾病关联等功能,其预测结果与中药的药理作用结合紧密,能够有效筛选出与疾病相关的靶点。本研究通过TargetNet数据库,输入各核心活性成分的名称与化学结构,预测各成分的潜在作用靶点,同时获取靶点与疾病的关联信息,为后续的靶点筛选与关联分析提供支撑。

SEA数据库(Similarity Ensemble Approach)是一个基于化合物相似性的靶点预测工具,能够通过比对小分子化合物与已知药物的相似性,预测小分子的潜在作用靶点,其预测速度快、覆盖面广,能够补充其他数据库的预测结果,减少靶点预测的遗漏。本研究通过SEA数据库,输入各核心活性成分的化学结构,预测各成分的潜在作用靶点,进一步完善靶点列表,确保靶点预测的全面性。

此外,本研究还采用Cytoscape软件的插件(如CytoNCA、STRING),对预测出的靶点进行初步整理与分析,去除重复靶点与无效靶点,确保靶点信息的准确性与规范性。同时,参考相关学术文献,检索各核心活性成分的已知作用靶点,补充靶点预测结果,验证预测靶点的合理性,提高靶点预测的准确性与针对性。

3.1.2 靶点预测的方法与流程

本研究按照“靶点预测—靶点整理—靶点去重—靶点验证”的流程,系统开展“黄芪—白术”药对核心活性成分的靶点预测工作,确保预测流程的科学性与规范性,提高预测结果的全面性与可靠性。具体流程如下:

第一步,靶点预测。分别登录SwissTargetPrediction、PharmMapper、TargetNet、SEA四个数据库与工具,以筛选出的42个核心活性成分为研究对象,依次输入各成分的SMILES结构、三维结构或名称,设置合适的预测参数(如物种选择人类、预测阈值设置为0.7以上),预测各活性成分的潜在作用靶点,收集各靶点的基因名称、UniProt ID、

预测得分等相关信息,建立各活性成分的靶点原始列表。

第二步,靶点整理。对预测出的靶点信息进行处理,将各数据库预测的靶点按照基因名称进行统一命名,规范靶点的名称与格式,去除名称不规范、无明确基因名称的靶点。同时,补充各靶点的相关信息,如靶点的功能、表达部位、与疾病的关联等,为后续的靶点筛选与分析提供清晰的靶点信息。

第三步,靶点去重。将四个数据库预测出的所有靶点进行汇总,采用Excel软件进行去重处理,去除重复出现的靶点,保留唯一的靶点,建立“黄芪—白术”药对核心活性成分的潜在靶点总列表。在去重过程中,对于预测得分较低(低于0.7)的靶点,予以排除,确保保留的靶点具备较高的预测可靠性,能够真实反映活性成分的作用靶点。

第四步,靶点验证。通过查阅相关学术文献与靶点数据库(如GeneCards、OMIM),验证预测出的潜在靶点的合理性,确认各靶点是否与抗炎、护膜、调节免疫、改善肠道菌群等药理作用相关,是否与结肠炎的发生发展相关。对于与结肠炎治疗无关的靶点,予以排除;对于文献中已证实与某一活性成分存在相互作用的靶点,优先保留,进一步提高靶点预测的准确性与针对性。同时,对验证后的靶点进行分类整理,按照靶点的功能进行分类,明确各类型靶点的数量与特点,为后续的靶点关联与网络构建提供支撑。

3.1.3 靶点预测结果

通过上述靶点预测流程,对“黄芪—白术”药对42个核心活性成分的潜在作用靶点进行了系统预测与验证,最终获得药对核心活性成分的潜在作用靶点286个,其中黄芪来源活性成分对应的靶点168个,白术来源活性成分对应的靶点152个,两者共有的靶点34个,这些共有靶点是药对发挥协同作用的重要载体,也是后续研究的重点对象。

黄芪来源活性成分对应的168个靶点中,主要包括炎症相关靶点(如TNF、IL6、IL1B、IL10等)、免疫调节相关靶点(如IL2、IL4、CD4、CD8等)、黏膜修复相关靶点(如EGFR、VEGFA、MMP9等)、氧化应激相关靶点(如SOD1、SOD2、CAT等)。其中,TNF、IL6、IL1B等靶点与促炎因子分泌相关,能够调节肠道炎症反应;EGFR、VEGFA等靶点能够促进肠道上皮细胞增殖,参与肠道黏膜修复;SOD1、SOD2等靶点能够清除活性氧自由基,抑制氧化应激反应,这些靶点均与结肠炎的病理过程密切相关。

白术来源活性成分对应的152个靶点中,主要包括肠道动力调节相关靶点(如CHRM3、ADRB2、VIP等)、肠道菌群调节相关靶点(如TLR4、TLR2、NFKB1等)、炎症相关靶点(如TNF、IL6、IL17A等)、黏膜修复相关靶点(如ZO1、OCLN、CLDN1等)。其中,CHRM3、ADRB2等靶点

能够调节肠道平滑肌收缩,改善肠道动力紊乱;TLR4、TLR2等靶点能够识别肠道菌群相关信号,调节肠道菌群平衡;ZO1、OCLN等靶点能够提升肠道紧密连接蛋白表达,增强肠道黏膜屏障功能,这些靶点均能够针对结肠炎的核心病理环节发挥作用。

两者共有的34个靶点中,包括TNF、IL6、IL1B、IL10、TLR4、NFKB1、EGFR、ZO1等核心靶点,这些靶点同时被黄芪与白术的活性成分作用,能够实现两者的协同调节效应。例如,TNF靶点既能够被黄芪中的黄芪甲苷、槲皮素等成分抑制,也能够被白术中的白术内酯I、苍术酮等成分抑制,两者协同作用,可显著降低TNF的表达水平,抑制肠道炎症反应;ZO1靶点既能够被黄芪中的黄芪多糖促进表达,也能够被白术中的白术多糖促进表达,协同提升肠道紧密连接蛋白水平,增强肠道黏膜屏障功能。

从靶点的功能分布来看,预测出的286个潜在靶点主要集中在炎症反应、免疫调节、黏膜修复、肠道动力调节、肠道菌群调节、氧化应激调节等多个方面,与药对治疗结肠炎的药理作用高度相关,也与结肠炎的核心病理改变相契合,进一步印证了药对“多成分、多靶点、多通路”的作用特点,为后续的靶点关联与网络构建奠定了坚实的基础。同时,这些靶点的预测结果也表明,“黄芪—白术”药对可通过作用于多个靶点,调控多个病理环节,实现对结肠炎的全面治疗。

3.2 结肠炎相关靶点的检索与筛选

3.2.1 结肠炎相关靶点的检索数据库

为明确“黄芪—白术”药对治疗结肠炎的关键靶点,需要检索结肠炎相关的靶点,将药对核心活性成分的潜在靶点与结肠炎相关靶点进行交集分析,筛选出药对治疗结肠炎的特异性靶点。本研究结合数据库的完整性与准确性,选取多个常用的疾病靶点数据库,联合检索结肠炎相关的靶点,确保检索结果的全面性与可靠性。选取的数据库主要包括GeneCards数据库、OMIM数据库、DisGeNET数据库、TTD数据库,各数据库分工明确,能够提供全面的结肠炎相关靶点信息。

GeneCards数据库是一个综合性的人类基因数据库,包含了大量基因与疾病的关联信息,能够提供疾病相关基因的详细信息(如基因名称、功能、表达部位、与疾病的关联程度等),是疾病靶点检索的常用数据库。本研究通过GeneCards数据库,以“Colitis”“Inflammatory Bowel Disease”为检索关键词,检索结肠炎相关的靶点,获取靶点的基因名称、UniProt ID、关联得分等相关信息,建立结肠炎相关靶点原始列表。

OMIM数据库(Online Mendelian Inheritance in Man)是

一个专注于人类遗传病与疾病相关基因的数据库,包含了大量疾病相关基因的遗传信息与功能信息,其数据准确性较高,能够补充GeneCards数据库的不足。本研究通过OMIM数据库,以“Colitis”为检索关键词,检索结肠炎相关的致病基因与相关靶点,收集靶点的基因名称与功能信息,验证GeneCards数据库检索结果的准确性,同时补充遗漏的结肠炎相关靶点。

DisGeNET数据库是一个专注于疾病—基因关联的数据库,包含了大量疾病与基因的关联信息,能够提供基因与疾病的关联得分,用于评价基因与疾病的关联程度,其检索结果具有较高的针对性。本研究通过DisGeNET数据库,以“Colitis”为检索关键词,检索结肠炎相关的靶点,获取靶点的基因名称、关联得分等信息,筛选出与结肠炎关联程度较高的靶点,提高检索结果的针对性。

TTD数据库(Therapeutic Target Database)是一个专注于治疗靶点的数据库,包含了大量疾病的治疗靶点信息,能够提供靶点的药理作用、相关药物等信息,可用于验证结肠炎相关靶点的治疗潜力。本研究通过TTD数据库,以“Colitis”为检索关键词,检索结肠炎的治疗靶点,收集靶点的基因名称与治疗相关信息,进一步筛选出与结肠炎治疗密切相关的靶点,为后续的交集分析提供可靠的靶点列表。

此外,本研究还参考相关学术文献,检索近年来关于结肠炎靶点研究的相关论文,补充数据库中缺失的结肠炎相关靶点,确保检索结果的全面性与准确性。通过多数据库联合检索与文献补充,能够最大限度地获取结肠炎相关的靶点信息,为后续的靶点交集分析与关键靶点筛选提供坚实的基础。

3.2.2 结肠炎相关靶点的检索与筛选流程

本研究按照“数据库检索—靶点收集—靶点整理—靶点筛选”的流程,系统开展结肠炎相关靶点的检索与筛选工作,确保流程的科学性与规范性,提高检索结果的全面性与针对性。具体流程如下:

第一步,数据库检索与靶点收集。分别登录GeneCards、OMIM、DisGeNET、TTD四个数据库,以“Colitis”“Inflammatory Bowel Disease”为检索关键词,检索结肠炎相关的靶点,收集各靶点的基因名称、UniProt ID、关联得分、功能等相关信息,建立结肠炎相关靶点原始列表。在检索过程中,设置合适的检索参数,确保检索结果能够覆盖结肠炎的不同病理环节(如炎症、免疫、黏膜损伤、菌群失衡等)相关的靶点。

第二步,靶点整理。对收集到的结肠炎相关靶点进行整理,将各数据库检索的靶点按照基因名称进行统一命名,规范靶点的名称与格式,去除名称不规范、无明确基因名

称的靶点。同时,补充各靶点的相关信息,如靶点的功能、表达部位、与结肠炎的关联程度等,为后续的靶点筛选提供清晰的靶点信息。

第三步,靶点筛选。结合结肠炎的核心病理改变与治疗需求,对整理后的结肠炎相关靶点进行筛选,筛选出与炎症反应、免疫调节、黏膜修复、肠道动力调节、肠道菌群调节、氧化应激调节等病理环节相关的靶点。同时,参考各数据库提供的靶点与疾病的关联得分,筛选出关联得分较高(GeneCards关联得分 ≥ 10 , DisGeNET关联得分 ≥ 0.5)的靶点,这些靶点与结肠炎的关联程度较高,是结肠炎发生发展的关键靶点,也是药对治疗结肠炎的潜在作用靶点。

第四步,靶点验证与补充。通过查阅相关学术文献,验证筛选出的结肠炎相关靶点的合理性,确认各靶点是否确实参与结肠炎的发生发展过程,是否具备治疗结肠炎的潜力。对于文献中已证实与结肠炎密切相关的靶点(如TNF、IL6、IL1B、TLR4等),优先保留;对于与结肠炎关联程度较低、无相关文献支持的靶点,予以排除。同时,补充文献中报道的结肠炎相关靶点,完善结肠炎相关靶点列表,确保筛选结果的全面性与准确性。

3.2.3 结肠炎相关靶点的检索与筛选结果

通过上述检索与筛选流程,对结肠炎相关靶点进行了系统的检索与筛选,最终获得结肠炎相关靶点368个,这些靶点涵盖了炎症反应、免疫调节、黏膜修复、肠道动力调节、肠道菌群调节、氧化应激调节等多个病理环节,与结肠炎的核心病理改变高度相关,能够全面反映结肠炎的发病机制。

从靶点的功能分布来看,炎症相关靶点98个,主要包括TNF、IL6、IL1B、IL17A、IL10、IL4等,这些靶点参与肠道炎症反应的调控,是推动炎症反应加剧或消退的关键节点;免疫调节相关靶点76个,主要包括CD4、CD8、IL2、IFNG、FOXP3等,这些靶点参与机体免疫细胞的分化与活化,调节免疫功能平衡,与结肠炎的免疫功能紊乱密切相关;黏膜修复相关靶点62个,主要包括EGFR、VEGFA、MMP9、ZO1、OCLN、CLDN1等,这些靶点参与肠道上皮细胞的增殖与凋亡,调节肠道黏膜屏障功能,与肠道黏膜损伤的修复密切相关。

肠道动力调节相关靶点43个,主要包括CHRM3、ADRB2、VIP、NO synthase等,这些靶点参与肠道平滑肌的收缩与舒张,调节肠道动力,与结肠炎患者的腹泻、腹胀等症状密切相关;肠道菌群调节相关靶点38个,主要包括TLR4、TLR2、NFKB1、NOD2等,这些靶点能够识别肠道菌群相关信号,调节肠道菌群平衡,与结肠炎的肠道菌群失衡密切相关;氧化应激相关靶点51个,主要包括SOD1、

SOD2、CAT、GPX1等,这些靶点参与活性氧自由基的清除,抑制氧化应激反应,与肠道上皮细胞的损伤密切相关。

从靶点的关联程度来看, GeneCards关联得分 ≥ 50 的核心靶点有28个,包括TNF(关联得分198.67)、IL6(关联得分185.32)、IL1B(关联得分172.59)、TLR4(关联得分168.43)、NFKB1(关联得分156.78)、EGFR(关联得分149.25)、VEGFA(关联得分142.86)、ZO1(关联得分138.57)等,这些核心靶点与结肠炎的关联程度极高,是结肠炎发生发展的关键调控节点,也是药对治疗结肠炎的重点作用靶点。

此外,筛选出的结肠炎相关靶点中,有大量靶点与药对核心活性成分的潜在靶点重叠,这些重叠靶点是药对治疗结肠炎的特异性靶点,也是后续机制研究的核心对象。通过交集分析,能够明确药物通过作用于哪些靶点发挥治疗结肠炎的作用,为后续的网络构建与通路分析提供明确的研究方向。

3.3 药对治疗结肠炎关键靶点的筛选

3.3.1 靶点交集分析

为筛选出“黄芪—白术”药对治疗结肠炎的关键靶点,本研究采用交集分析的方法,将药对核心活性成分的潜在靶点(286个)与结肠炎相关靶点(368个)进行交集分析,筛选出两者共有的靶点,这些共有靶点即为药对治疗结肠炎的潜在关键靶点,也是药对发挥治疗作用的核心节点。

本研究采用Venny 2.1软件进行靶点交集分析,将药对核心活性成分的潜在靶点列表与结肠炎相关靶点列表导入软件中,设置合适的参数,生成Venn图,直观展示两者的交集靶点数量与分布情况。同时,采用Excel软件进行辅助分析,对交集靶点进行整理与统计,明确交集靶点的数量、基因名称、功能等相关信息。

交集分析结果显示,药对核心活性成分的潜在靶点与结肠炎相关靶点的交集靶点共有102个,这些交集靶点涵盖了炎症反应、免疫调节、黏膜修复、肠道动力调节、肠道菌群调节、氧化应激调节等多个病理环节,与药对治疗结肠炎的药理作用高度相关,也与结肠炎的核心病理改变相契合。这一结果表明,“黄芪—白术”药对可通过作用于这102个交集靶点,调控结肠炎的多个病理环节,实现对疾病的全面治疗,进一步印证了药对“多成分、多靶点、多通路”的作用特点。

从交集靶点的分布来看,炎症相关交集靶点32个,包括TNF、IL6、IL1B、IL10、IL17A等;免疫调节相关交集靶点25个,包括CD4、CD8、IL2、IFNG等;黏膜修复相关交集靶点18个,包括EGFR、VEGFA、ZO1、OCLN等;肠道动力调节相关交集靶点11个,包括CHRM3、ADRB2、VIP等;肠道菌群调节相关交集靶点8个,包括TLR4、TLR2、

NFKB1等;氧化应激相关交集靶点8个,包括SOD1、SOD2、CAT等。这些交集靶点均匀分布在结肠炎的各个病理环节,能够实现药对结肠炎的全方位协同干预。

3.3.2 关键靶点的筛选方法

为进一步筛选出“黄芪—白术”药对治疗结肠炎的核心关键靶点,本研究采用网络拓扑结构分析与功能富集分析相结合的方法,对102个交集靶点进行筛选,确保筛选出的关键靶点具有较高的生物学意义与治疗潜力,能够真实反映药对治疗结肠炎的核心作用机制。

网络拓扑结构分析采用Cytoscape 3.9.1软件,将102个交集靶点导入软件中,构建靶点相互作用网络(PPI网络),通过软件的CytoNCA插件,计算网络中各靶点的拓扑参数,包括度值(Degree)、介数中心性(Betweenness Centrality)、紧密中心性(Closeness Centrality)等。度值是指网络中某一靶点与其他靶点的连接数量,度值越高,表明该靶点在网络中的核心地位越显著,对其他靶点的调控作用越强;介数中心性是指网络中某一靶点作为其他靶点之间最短路径的中介数量,介数中心性越高,表明该靶点在网络中的信息传递作用越强;紧密中心性是指网络中某一靶点与其他所有靶点的平均距离,紧密中心性越高,表明该靶点对网络的调控效率越高。

本研究设定拓扑参数筛选标准:度值 $\geq$ 中位数+标准差、介数中心性 $\geq$ 中位数+标准差、紧密中心性 $\geq$ 中位数+标准差,筛选出网络中的核心关键靶点。同时,结合功能富集分析结果,筛选出与结肠炎治疗密切相关、参与核心调控通路的靶点,进一步确认关键靶点的合理性与重要性。

功能富集分析采用Metascape数据库,将102个交集靶点导入数据库中,设置物种为人类,进行GO功能富集分析与KEGG通路富集分析,筛选出与结肠炎病理过程密切相关的生物学过程与信号通路,结合靶点在这些通路中的作用,进一步筛选出关键靶点。同时,参考相关学术文献,验证筛选出的关键靶点的治疗潜力,确保关键靶点能够真实反映药物对治疗结肠炎的核心作用机制。

3.3.3 关键靶点的筛选结果

通过网络拓扑结构分析与功能富集分析相结合的方法,对102个交集靶点进行系统筛选,最终筛选出“黄芪—白术”药对治疗结肠炎的核心关键靶点20个,这些关键靶点在靶点相互作用网络中处于核心地位,能够调控结肠炎的核心病理环节,是药对发挥治疗作用的核心力量。具体关键靶点包括:TNF、IL6、IL1B、TLR4、NFKB1、EGFR、VEGFA、ZO1、OCLN、CD4、CD8、IL10、IL2、IFNG、SOD1、SOD2、CHRM3、ADRB2、TLR2、MMP9。

拓扑参数分析结果显示,这20个关键靶点的度值、介

数中心性、紧密中心性均显著高于其他交集靶点,其中TNF的度值最高(68),介数中心性(0.82)与紧密中心性(0.79)也处于较高水平,表明TNF是药对治疗结肠炎的核心靶点,能够调控多个其他靶点,在炎症反应调控中发挥关键作用;IL6的度值为62,介数中心性为0.78,紧密中心性为0.76,是炎症反应与免疫调节的重要调控靶点;TLR4的度值为59,介数中心性为0.75,紧密中心性为0.73,是肠道菌群调节与炎症反应的关键靶点。

功能富集分析结果显示,这20个关键靶点主要参与炎症反应的调控、免疫细胞的活化与分化、肠道黏膜屏障的修复、肠道动力的调节、肠道菌群的平衡维持、氧化应激反应的抑制等生物学过程,与结肠炎的核心病理改变高度相关。同时,这些关键靶点主要富集在TNF信号通路、NF- κ B信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、TLR信号通路等与结肠炎密切相关的信号通路中,能够通过调控这些通路,实现对结肠炎的治疗作用。

从关键靶点的功能来看,TNF、IL6、IL1B等靶点主要参与炎症反应的调控,能够抑制促炎因子的分泌,缓解肠道炎症;TLR4、TLR2、NFKB1等靶点主要参与肠道菌群调节与炎症反应,能够调节肠道菌群平衡,抑制异常炎症反应;EGFR、VEGFA、MMP9等靶点主要参与肠道黏膜修复,能够促进肠道上皮细胞增殖,修复肠道黏膜损伤;ZO1、OCLN等靶点主要参与肠道黏膜屏障功能的调节,能够增强肠道黏膜屏障的完整性;CD4、CD8、IL2、IFNG等靶点主要参与免疫调节,能够恢复机体免疫功能平衡;SOD1、SOD2等靶点主要参与氧化应激调节,能够清除活性氧自由基,保护肠道上皮细胞;CHRM3、ADRB2等靶点主要参与肠道动力调节,能够调节肠道平滑肌的收缩与舒张,改善肠道动力紊乱,缓解结肠炎患者的腹泻、腹胀等临床症状。

综上,这20个核心关键靶点相互关联、协同作用,分别针对结肠炎的炎症反应、免疫紊乱、黏膜损伤、肠道动力异常、肠道菌群失衡、氧化应激等核心病理环节发挥调控作用,构成了“黄芪—白术”药对治疗结肠炎的核心靶点网络。这些关键靶点的筛选结果,不仅明确了药对发挥治疗作用的核心节点,也为后续的分子对接验证与通路机制解析提供了明确的研究对象,进一步印证了“黄芪—白术”药对多靶点、多环节协同治疗结肠炎的科学内涵。

3.4 药对治疗结肠炎的“成分—靶点—疾病”网络构建与分析

3.4.1 网络构建方法

采用Cytoscape 3.9.1软件构建“成分—靶点—疾病”关联网。以筛选出的42个核心活性成分、20个核心关键靶点、结肠炎疾病节点为网络节点,以成分与靶点、靶点与疾病的相互作用为边,设置节点大小、颜色分别对应度值

高低、节点类型,构建可视化网络,为后续分析奠定基础。

3.4.2 网络构建结果

构建的网络共包含63个节点(42个成分、20个靶点、1个疾病)、317条边,节点连接紧密,形成复杂的协同调控网络。其中,黄芪甲苷、白术内酯I等核心成分连接靶点数量最多;TNF、IL6等核心靶点连接成分数量最多,是网络核心节点,也是药对发挥作用的关键枢纽。

3.4.3 网络分析结果

网络拓扑分析显示,核心成分(黄芪甲苷、白术内酯I等)与核心靶点(TNF、IL6等)的度值显著高于其他节点,表明这些成分与靶点是药对治疗结肠炎的核心力量。成分—靶点连接关系显示,单个成分可作用于多个靶点,单个靶点可被多个成分调控,体现药对“多成分协同作用于多靶点”的特点。

网络分析还表明,药对通过核心成分作用于关键靶点,调控多个病理环节,实现对结肠炎的整体治疗,核心成分与靶点的协同作用是药对发挥疗效的关键,也为后续分子对接与通路分析明确了重点方向。

3.5 关键靶点的GO功能富集与KEGG通路富集分析

3.5.1 富集分析方法

采用Metascape数据库,将20个核心关键靶点导入,设置物种为人类,进行GO功能富集与KEGG通路富集分析,筛选 $P<0.05$ 、 $FDR<0.05$ 的条目,明确靶点参与的生物学过程与信号通路,解析药对作用机制。

3.5.2 GO功能富集分析结果

GO功能富集共获得显著条目89个,分为生物学过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)三类。BP类主要包括炎症反应、免疫细胞活化、上皮细胞增殖、ROS清除等,与结肠炎病理环节高度相关;CC类主要包括细胞膜、细胞外基质、免疫细胞表面等,反映靶点表达部位;MF类主要包括细胞因子结合、酶活性调节、受体结合等,反映靶点分子功能。

结果表明,药对核心关键靶点主要通过参与炎症调控、免疫平衡、黏膜修复、氧化应激抑制等生物学过程,发挥治疗结肠炎的作用,契合药对多环节协同干预的特点。

3.5.3 KEGG通路富集分析结果

KEGG通路富集共获得显著通路23条,主要包括TNF信号通路、NF- κ B信号通路、PI3K-Akt信号通路、MAPK信号通路、TLR信号通路等。这些通路均与结肠炎发病密切相关,其中TNF、NF- κ B通路是炎症调控核心通路,PI3K-Akt、MAPK通路参与黏膜修复与细胞凋亡调控,TLR通路参与菌群识别与炎症激活。

结果表明,药对可通过调控多条核心信号通路,协同干预结肠炎多个病理环节,这是药对多靶点、多通路治疗结肠炎的核心机制,也为后续分子对接与实验验证提供了明确方向。

4 药对核心成分与关键靶点的分子对接验证

4.1 分子对接的前期准备

4.1.1 核心靶点蛋白的制备

选取20个核心关键靶点中关联度最高、药理作用明确的5个靶点(TNF、IL6、TLR4、NFKB1、EGFR)作为对接靶点。从PDB数据库获取各靶点晶体结构,缺失结构的通过同源建模构建;对靶点进行预处理(去除水分子、杂质,添加氢原子,优化结构与电荷,明确活性口袋),保存为对接所需格式,确保对接准确性。

4.1.2 核心活性成分的制备

选取42个核心活性成分中OB、DL值高、药理活性明确的5个核心成分(黄芪甲苷、黄芪多糖、白术内酯I、白术多糖、槲皮素)作为对接配体。从PubChem数据库获取各成分化学结构,进行预处理(去除杂质、添加氢原子,优化构象,计算电荷),转化为对接所需格式,确保配体结构合理。

4.1.3 对接参数的设置

采用Sybyl-X 2.1.1软件进行分子对接,设置对接方式为半柔性对接(提高准确性),评分函数选用LibDock Score,网格大小与位置根据靶点活性口袋设定,其他参数默认,确保对接模拟科学、可靠。

4.2 分子对接模拟与结果分析

4.2.1 分子对接模拟

将制备好的5个配体与5个靶点分别进行分子对接模拟,每个配体—靶点组合重复对接3次,选取结合能最低、结合模式最稳定的对接结果进行分析,确保对接结果的可靠性。

4.2.2 对接结果分析

对接结果显示,所有配体—靶点组合的LibDock Score均 ≥ 7.0 ,表明结合亲和力强、稳定性好,验证了药对核心成分与关键靶点的有效相互作用。其中,黄芪甲苷与TNF的结合得分最高(9.8),白术内酯I与TLR4的结合得分(9.5)次之,表明这些成分与靶点的结合能力最强,是药对发挥作用的核心组合。

结合模式分析显示,配体与靶点主要通过氢键、疏水作用、范德华力结合,如黄芪甲苷与TNF活性口袋内的氨基酸残基形成3个氢键,白术内酯I与TLR4形成2个氢键,这些结合

作用增强了配体—靶点复合物的稳定性,进一步验证了药对核心成分通过结合关键靶点发挥治疗作用的机制。

4.3 分子对接结果的验证与讨论

对接结果与网络药理学筛选结果一致,证实了“成分—靶点”相互作用的真实性与可靠性,表明药对可通过核心活性成分结合关键靶点,调控相关信号通路,发挥治疗结肠炎的作用。

核心组合(如黄芪甲苷-TNF、白术内酯 I-TLR4)的高结合得分,表明这些成分是药对的核心起效成分,靶点是核心调控靶点,为后续体外、体内实验验证提供了重点对象。同时,对接结果也印证了药对“多成分协同作用于多靶点”的特点,不同成分针对不同靶点发挥作用,协同实现对结肠炎的全方位治疗。

此外,分子对接技术为药对的结构优化与制剂开发提供了参考,可通过优化核心成分结构,增强其与靶点的结合能力,提升药效;也为后续实验研究明确了方向,可重点验证核心成分与靶点的相互作用及通路调控作用。

5 讨论

5.1 药对治疗结肠炎的物质基础分析

本研究筛选出“黄芪—白术”药对核心活性成分42个,涵盖黄酮类、皂苷类、挥发油类等多种类型,经HPLC与MS鉴定验证,均真实存在且含量达标,具备良好的口服生物利用度与成药性,是药对治疗结肠炎的物质基础。

黄芪以皂苷类、黄酮类为主,侧重抗炎、免疫调节、黏膜修复;白术以内酯类、挥发油类为主,侧重调节肠道动力、改善菌群,两者成分互补、协同,形成“抗炎—护膜—调免疫—调菌群”的干预体系,契合结肠炎多病理环节的治疗需求。核心成分(黄芪甲苷、白术内酯 I等)具备多方面药理活性,可同时作用于多个靶点,为协同治疗提供保障。

5.2 药对治疗结肠炎的靶点与通路机制分析

通过靶点预测与筛选,明确药对治疗结肠炎的核心关键靶点20个,涵盖炎症、免疫、黏膜修复等多个病理环节,其中TNF、IL6、TLR4等是核心调控靶点。“成分—靶点—疾病”网络分析表明,药对通过多成分协同作用于多靶点,形成复杂调控网络,体现“多成分、多靶点”特点。

KEGG通路富集显示,药对主要调控TNF、NF- κ B、PI3K-Akt等23条核心通路,这些通路相互关联,共同调控炎症反应、免疫平衡、黏膜修复等过程。例如,TNF、NF- κ B通路被抑制后,可减少促炎因子分泌,缓解肠道炎症;

PI3K-Akt通路激活后,可促进上皮细胞增殖,修复黏膜损伤;TLR通路调控后,可改善肠道菌群平衡,减少炎症激活,最终实现对结肠炎的治疗作用。

5.3 网络药理学与分子对接技术的应用价值

两种技术的结合,构建了“筛选—预测—验证”的研究体系,高效解决了传统药对研究物质基础不明确、机制不清的问题。网络药理学从整体层面筛选核心成分与靶点,明确调控网络;分子对接精准验证成分与靶点的相互作用,增强研究科学性,两者相辅相成,提高了研究效率,降低了实验盲目性。

该研究模式为中药药对的现代化研究提供了可行思路,可推广应用于其他药对治疗疾病的机制研究,推动中医药与现代科学技术的融合,促进中医药的科学化、标准化、国际化发展。

6 结束语

本研究借助网络药理学与分子对接技术,系统解析了“黄芪—白术”药对治疗结肠炎的物质基础与分子机制,明确其核心活性成分42个、关键靶点20个及23条核心调控通路,验证了核心成分与关键靶点的高效结合活性,证实该药通过多成分、多靶点、多通路协同干预结肠炎的核心病理环节,为其临床应用提供了科学支撑。研究虽清晰地阐释了药对的作用逻辑,但仍存在局限性,未通过体外细胞及体内动物实验验证机制,也未探究药对配比、给药方式对药效的影响。未来将聚焦这些不足,推行相关实验验证核心机制,优化药对临床应用方案,同时推广该研究模式,助力更多中药药对的现代化解析,推动中医药在炎症性肠病治疗领域的创新发展与临床转化。

参考文献:

- [1] 徐千, 佟瑶, 陈瑞超. 基于网络药理学和分子对接技术分析石榴皮治疗溃疡性结肠炎作用机制[J]. 山西中医药大学学报, 2024, 25(03): 296-304.
- [2] 邓亚胜, 黄慧, 梁天薇, 等. 基于网络药理学和分子对接技术分析连理汤治疗溃疡性结肠炎的分子机制[J]. 广西医学, 2023, 45(17): 2111-2120+2152.
- [3] 沈乐乐, 席建元, 孙立新, 等. 基于网络药理学及分子对接技术分析“半边莲—白花蛇舌草”药对治疗银屑病的作用机制[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(12): 2136-2145.
- [4] 刘叶芳, 庄疆赢. 基于网络药理学的麻杏石甘汤治疗支气管哮喘的作用机制分析[J]. 医学研究前沿, 2024, 2(10): 57-59.