

· 基础研究 ·

基于网络药理学的甘草治疗溃疡性
结肠炎作用机制研究[△]

李晴霞, 康念欣, 袁炎炎, 刘永刚*, 谭鹏*

北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

[摘要] **目的:** 采用网络药理学方法探讨甘草治疗溃疡性结肠炎的作用机制。**方法:** 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)筛选甘草的活性成分并检索出活性成分的作用靶点; 通过CTD数据库查询与溃疡性结肠炎相关的靶点; 采用UniProt数据库、Cytoscape 3.7.2软件构建成分-靶点、靶点蛋白相互作用和成分-靶点-生物学通路网络。**结果:** 通过筛选, 得到甘草中92个活性成分, 相应靶点227个, 其中与溃疡性结肠炎相关的靶点41个, 主要包括肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-6(IL-6)、丝裂原活化蛋白激酶3(MAPK3)、血管内皮生长因子A(VEGFA)等; 这41个靶点主要涉及IL-17、阿米巴病、炎症性肠病等28条生物学通路。**结论:** 甘草治疗溃疡性结肠炎是多成分、多靶点、多途径相互作用的结果, 为其进一步深入研究提供参考。

[关键词] 甘草; 溃疡性结肠炎; 网络药理学; 肿瘤坏死因子; 白细胞介素-6; 丝裂原活化蛋白激酶3; 血管内皮生长因子A

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2021)03-0464-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20200307005

**Study on Pharmacological Mechanism of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Used for
Treatment of Ulcerative Colitis by Network Pharmacology Approach**

LI Qing-xia, KANG Nian-xin, YUAN Yan-yan, LIU Yong-gang*, TAN Peng*

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

[Abstract] **Objective:** To explore the pharmacological mechanism of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma on ulcerative colitis by network pharmacology. **Methods:** The active ingredients and corresponding targets of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma were collected by using traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP). The disease-related genes were retrieved from CTD database. Then the corresponding targets were mapped to the set of disease-related genes to obtain intersection targets. The UniProt database and Cytoscape 3.7.2 software was used to build "ingredients-targets" network, protein interaction network and "ingredients-targets-pathway" network. **Results:** A total of 92 active ingredients and 227 potential drug targets of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma were obtained according to the screening conditions. There were 41 targets related to ulcerative colitis, such as tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), mitogen-activated protein kinase (MAPK3), vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and so on, among the 227 potential drug targets. Glycyrrhizae Radix et Rhizoma exerted its effects on ulcerative colitis mainly by acting on 28 signal pathways, such as IL-17, amoebiasis, inflammatory bowel disease (IBD) and so on. **Conclusion:** Glycyrrhizae Radix et Rhizoma treats ulcerative colitis through multi-ingredient, multi-target and multi-pathway interaction. This study explores the pharmacological mechanism of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma on ulcerative colitis and has a certain reference value for the research and development of new drugs.

[Keywords] Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; ulcerative colitis; network pharmacology; tumor necrosis factor; interleukin-6; mitogen activated protein kinase 3; vascular endothelial growth factor A

[△] [基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2020071620211)

* [通信作者] 刘永刚, 研究员, 研究方向: 中药化学; E-mail: liuyg0228@163.com

谭鹏, 副教授, 研究方向: 中药炮制机制研究; E-mail: tanpengtem@163.com

溃疡性结肠炎(UC)是一种消化系统常见的难治性、非特异性慢性炎症性肠道炎症疾病,病变主要位于结肠的黏膜层,以溃疡为主,大多会涉及直肠和远端结肠,也可能会向近端扩展,导致溃疡遍布整个结肠。UC 以腹泻、腹痛、血便为主要临床症状,其病因较为复杂,尚未完全阐明。目前,UC 的发病机制被认为与饮食、肠道微生物结构、遗传等多种因素有关,但中医认为其多由脾胃功能失调、湿热内蕴,与气血搏结、化为脓血所致,与中医学中的“痢疾”“肠癖”相近^[1]。UC 主要发生在 30~40 岁,其治疗难度较大、易反复发作,病程可长达几十年甚至伴随终生^[2]。UC 患者由于慢性炎症反复发作,结肠癌的患病概率也逐渐升高,病程 30 年的 UC 患者结肠癌变的几率达到 30%^[3-4]。越来越多的研究表明,UC 的常规化学药物治疗效果不够理想,而中药的优势在于能够控制其发作次数和间隔时间,缓解患者的临床症状^[5]。

甘草是豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的根及根茎,具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳等功效^[6]。研究表明,甘草除具有镇痛、镇咳、抗炎、抗变态反应、增强机体免疫功能等作用外,还具有抗溃疡的作用^[7]。有学者统计了治疗 UC 的中药,频次最高的前 3 味中就有甘草^[8]。Takhshid 等^[9]研究表明,甘草提取物可降低结肠炎性反应和水肿。Liu 等^[10]研究表明,甘草对 UC 具有抗炎的作用。目前,主要是从单一成分或单一靶点对甘草治疗 UC 的作用机制进行研究。中药是通过多成分作用于多靶点,调控多条通路来达到治疗疾病的目的,从单方面研究很难阐明其作用的整体性与系统性。网络药理学是一种研究传统药物的新模式,以计算机技术为基础,将系统生物学和多向药理学的方法加以整合,探讨中药活性成分、靶点、生物学通路及疾病之间的关系,从而在整体水平上阐明中药药效的作用机制。因此,本研究借助网络药理学方法,通过建立“成分-靶点-信号通路”网络,从整体角度探讨甘草治疗 UC 的作用机制,为甘草治疗 UC 的进一步研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 甘草入血活性成分筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP),以“甘草”为关键词检索,得到甘草中的化学成分,再以口服生物利用度(OB)≥30%及类药性(DL)≥0.18 为条件筛选活性成分。

1.2 成分-靶点网络构建

通过 TCMSP 查询筛选出的化合物作用靶点。所得的靶点输入 UniProt 数据库,使用 UniProtKB 查询靶蛋白对应靶基因的规范名称。将成分-靶点关联信息上传到 Cytoscape 3.7.2 软件,构建甘草成分-靶点网络。

1.3 UC 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

通过 CTD(comparative toxicogenomics database)数据库找出与 UC 相关的基因。采用 Venny 2.1 软件选取甘草活性成分作用靶点与 UC 相关基因的交集,上传至在线 STRING 10.0 软件,得到交集蛋白之间的 PPI 数据。将 PPI 数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件,构建 PPI 网络图。

1.4 京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

将筛选出的交集蛋白导入 Cytoscape 3.7.2 软件,利用软件中的 ClueGO 插件进行 KEGG 通路富集分析。

1.5 成分-靶点-信号通路网络构建

将筛选出的交集蛋白及相关联的甘草成分相互作用信息上传到 Cytoscape 3.7.2 软件中,构建与 UC 相关的甘草成分-靶点网络图。再将筛选出的交集蛋白与 KEGG 富集得到的信号通路关联信息导入 Cytoscape 3.7.2 软件中,构建出 UC 相关靶点-通路网络图。利用 Cytoscape 3.7.2 软件中的 Merge 功能将以上 2 种网络合并,得出成分-靶点-信号通路网络图。

2 结果

2.1 甘草入血活性成分筛选

利用 TCMSP 筛选出甘草入血活性成分共 92 种,见表 1(仅列出其中 20 项)。

2.2 甘草成分-靶点网络构建

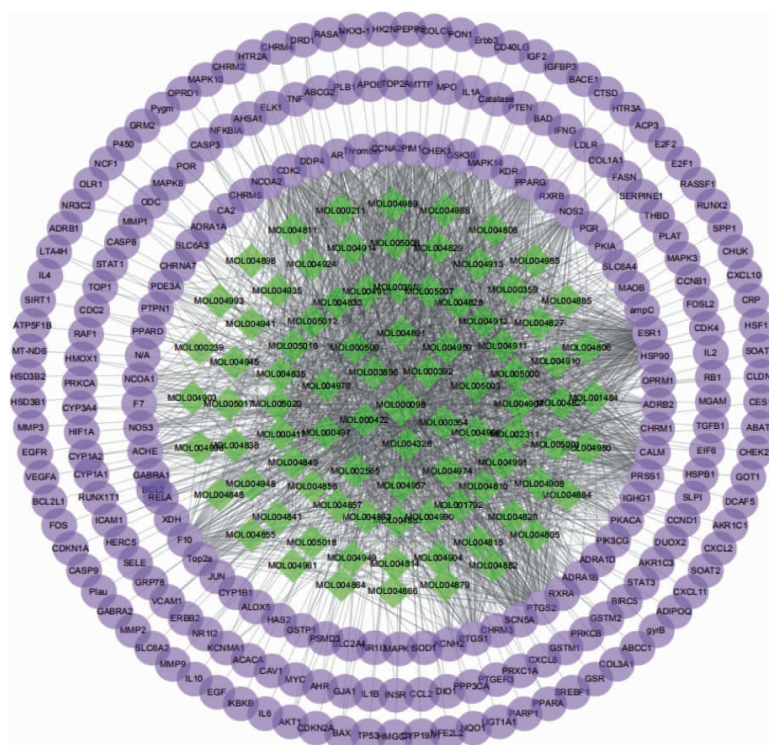
利用 TCMSP 查询与活性成分相关的靶蛋白,并使用 UniProtKB 查询出靶蛋白对应靶基因的规范名称,部分活性成分的靶点信息见表 2。最终将成分-靶点的关联数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件,得出甘草成分-靶点网络图(图 1)。成分-靶点网络中共有 319 个节点、1765 条边。甘草中共筛选出 92 个化合物。与节点相连的边越多,节点的度值越高。度值较高的节点位于网络中心,在网络中的作用较强,该节点的形状也相应较大。其中槲皮素有 152 个作用靶点,芒柄花黄酮有 39 个作用靶点。此外,网络中度值较高的成分还有山柰酚、异鼠李素、柚皮素等。这些具有较多靶点的成分可能是甘草发挥药理作用的核心成分。从甘草成分-靶点网络图中可以得出,甘草是通过多成分、多靶点发挥药理作用,符合中药治疗疾病的系统性和整体性。

表 1 甘草部分活性成分

MOL ID	成分	OB/%	DL
MOL000211	丁子香酚(mairin)	55.38	0.78
MOL002311	甘草酚(glycyrol)	90.78	0.67
MOL002565	美迪紫檀素(medicarpin)	49.22	0.34
MOL000354	异鼠李素(isorhamnetin)	49.60	0.31
MOL000359	谷甾醇(sitosterol)	36.91	0.75
MOL000392	芒柄花黄素(formononetin)	69.67	0.21
MOL000417	毛蕊异黄酮(calycosin)	47.75	0.24
MOL000422	山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24
MOL004328	柚皮素(naringenin)	59.29	0.21
MOL004814	异槲皮酚(isotrifoliol)	31.94	0.42
MOL004833	菜豆异黄酮(phaseolinosoflavan)	32.01	0.45
MOL004835	刺果甘草查耳酮(glypallichalcone)	61.60	0.19
MOL004855	甘草酮(licoricone)	65.38	0.47
MOL004856	甘草素 A(gancaonin A)	51.08	0.40
MOL004857	甘草素 B(gancaonin B)	48.79	0.45
MOL004860	甘草苷 E(licorice glycoside E)	32.89	0.27
MOL004879	甘氨酸(glycyrin)	52.61	0.47
MOL004882	甘草香豆酮(licocoumarone)	33.21	0.36
MOL004883	甘草异黄酮(licoisoflavone)	41.61	0.42
MOL004885	甘草异黄酮酮(licoisoflavanone)	52.47	0.54

表 2 甘草活性成分部分靶点信息

MOL ID	靶点	基因
MOL001484	前列腺素 G/H 合酶 1	PTGS1
MOL001484	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3	CHRM3
MOL001484	β_2 肾上腺素能受体	ADRB2
MOL001484	热休克蛋白 90	HSP90
MOL001792	雌激素受体 1	ESR1
MOL001792	胺氧化酶 [含黄素] B	MAOB
MOL001792	钠依赖性 5-羟色胺转运体	SLC6A4
MOL001792	cAMP 依赖性蛋白激酶抑制剂 α	PKIA
MOL000211	孕酮受体	PGR
MOL002311	诱导型一氧化氮合酶	NOS2
MOL002311	血管内皮生长因子受体 2	KDR
MOL002311	丝裂原活化蛋白激酶 14	MAPK14
MOL002311	糖原合成酶激酶-3 β	GSK3B
MOL000239	雄激素受体	AR
MOL000239	钙调素	CALM
MOL000239	核受体辅活化子 2	NCOA2
MOL000239	胰蛋白酶-1	PRSS1
MOL002565	α -1D 肾上腺素能受体	ADRA1D
MOL002565	CGMP 抑制 3', 5'-环磷酸二酯酶 A	PDE3A
MOL002565	细胞周期素-A2	CCNA2

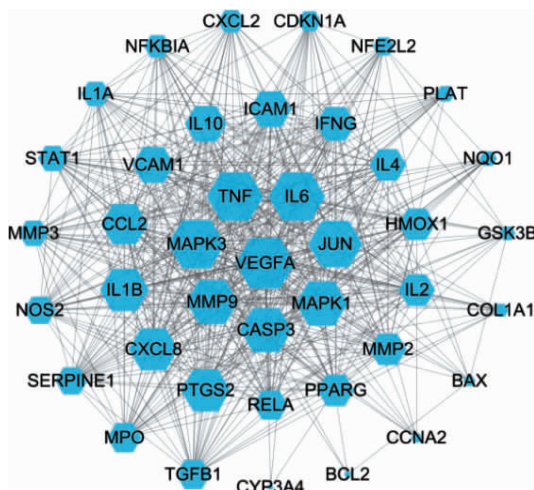


注：绿色四边形代表甘草活性成分；紫色圆形代表作用靶点。

图 1 甘草成分-靶点网络

2.3 PPI 网络构建

在 CTD 数据库中输入疾病名称“溃疡性结肠炎”，找出 UC 相关的蛋白 114 个。其中 41 个与甘草成分作用靶点相同，为甘草成分作用靶点与 UC 相关蛋白的交集蛋白。将 41 个交集蛋白上传至在线 STRING 10.0 软件，得到交集蛋白之间的相互作用关系。将相互作用关系数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件，构建 PPI 网络，见图 2。图中包括 41 个交集蛋白节点(蓝色六边形)及 535 条边。由图 2 可以看出，与其他靶点有较多相互作用的靶点为肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-6(IL-6)、丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)及血管内皮生长因子 A(VEGFA)等。



注：蓝色六边形代表交集蛋白。

图 2 甘草治疗 UC 的 PPI 网络

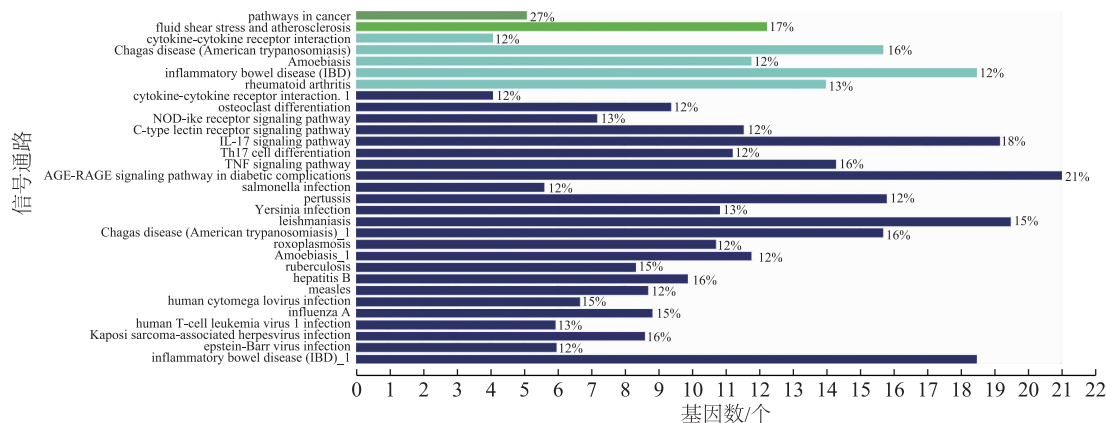
2.4 KEGG 通路富集分析

利用 Cytoscape 3.7.2 软件中 ClueGO 插件对甘

草作用靶点与 UC 相关蛋白的交集蛋白进行 KEGG 通路富集分析。将所涉及的 41 种蛋白质导入 Cytoscape 3.7.2 软件，通过 KEGG 富集分析探讨甘草治疗 UC 所涉及的信号通路。通过分析发现，这些靶点共涉及 IL-17 信号通路(IL-17 signaling pathway)、阿米巴病(Amoebiasis)信号通路、炎症性肠病(inflammatory bowel disease)通路、癌症信号通路(pathways in cancer)、流体剪切力与动脉粥样硬化(fluid shear stress and atherosclerosis)、细胞因子与细胞因子受体的相互作用(cytokine-cytokine receptor interaction)等 28 条信号通路。这些信号通路与 UC 密切相关，具体信息见图 3。

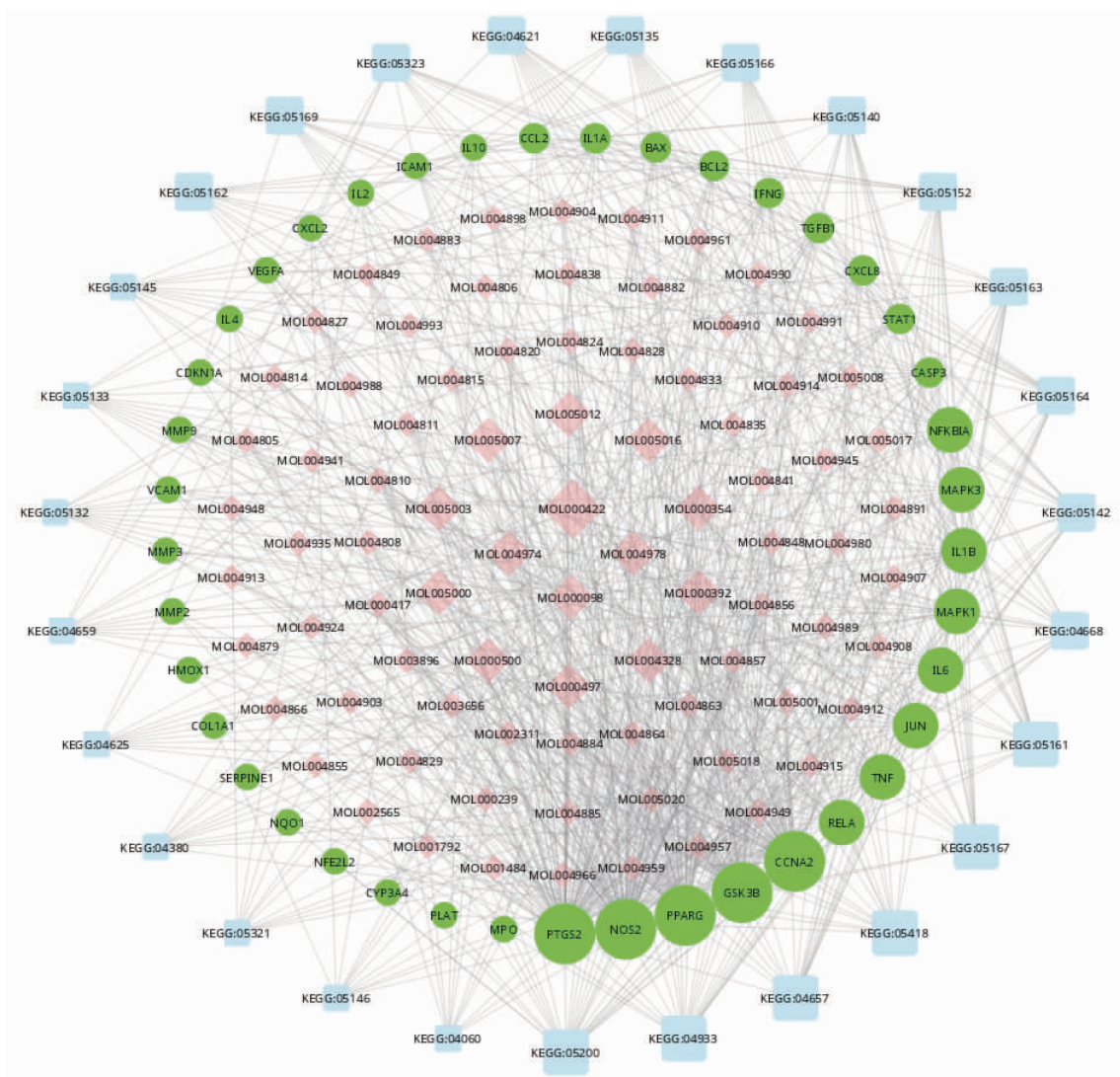
2.5 成分-靶点-信号通路网络

利用 Cytoscape 3.7.2 软件中的 Merge 功能将甘草活性成分与交集蛋白及代谢通路之间相互作用关系合并，构建出甘草活性成分-作用靶点-代谢通路网络，见图 4。图 4 中包括甘草活性成分 84 种、UC 相关靶点 41 个、信号通路 28 条。筛选出的甘草活性成分的作用靶点分布在不同的信号通路，相互协调，通过调控不同的信号通路发挥治疗 UC 的作用。成分-靶点-信号通路网络显示，甘草中有槲皮素、山柰酚、芒柄花黄素、异鼠李素等 84 个活性成分与 TNF、IL-6、MAPK3、VEGFA、前列腺素 G/H 合酶 2(PTGS2)、一氧化氮合酶 2(NOS2)、过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPARG)、糖原合成酶激酶-3 β (GSK3B)等 41 个 UC 相关蛋白存在较强的相互作用。通过网络富集发现，这些靶点主要集中在 IL-17 信号通路、阿米巴病信号通路及炎症性肠病通路等 28 条信号通路，参与调控 UC 病理过程的不同环节。



注：基因数表示导入的基因与该信号通路相关的个数；柱上的数字表示与该信号通路相关的导入基因占所有与该信号通路相关基因的百分比。

图 3 甘草治疗 UC 作用靶点 KEGG 信号通路可视化结果



注：粉红色四边形代表甘草活性成分；绿色圆形代表共有靶点；淡蓝色矩形代表信号通路。

图4 甘草治疗 UC 成分-靶点-信号通路网络

3 讨论

本研究采用网络药理学方法，初步建立了甘草治疗 UC 的成分、作用靶点及相关联的生物学通路网络。利用 TC MSP、CTD 等数据库研究发现，甘草中共含有 92 个活性成分，存在 227 个靶点。这 227 个靶点中共有 41 个靶点与 UC 相关，而 92 种化学成分中有 84 种与 UC 相关。将与 UC 相关靶点进行 KEGG 通路富集，结果发现，这些靶点涉及 28 条生物学通路，参与调控 UC 病理过程的不同环节。

通过分析成分-靶点-信号通路网络, 预测甘草中参与治疗 UC 的化学成分为槲皮素、芒柄花黄素、山柰酚、异鼠李素、柚皮素等 84 个成分。相关研究

表明, 槲皮素可通过调节细胞因子释放及阻断信号转导子和转录激活子通路的激活而有效抑制炎症反应的发生, 进而治疗 UC^[11]; 芒柄花黄素可通过激活核转录因子 E₂ 相关因子 2(Nrf2) 的表达防止 UC 的发生^[12]。这 84 个活性成分与 41 个 UC 相关蛋白存在较强的相互作用, 通过网络富集发现, 这些靶点主要集中在 IL-17、炎症性肠病通路及阿米巴病信号通路等 28 条信号通路。Ogawa 等^[13]研究发现, 阻断体内 IL-17 活性可增强小鼠 UC 的发展, 表明 IL-17 在 UC 发展中具有抑制作用。另有研究表明, 炎症性肠病可增加大肠癌的风险, 包括 2 种主要的亚型, 即 UC 和克罗恩病^[14-15]。由此可知, 甘草中多种成分通过作用于多个靶点、调控多条生物学通路发挥治疗 UC 的作用, 这也体现出中药治疗疾病的整体

性与系统性。

本研究从网络药理学角度出发,初步阐述了甘草治疗 UC 的潜在活性成分、可能作用的靶点及发挥药效的生物学通路,初步揭示了甘草治疗 UC 的相关机制,为进一步深入研究其药理作用机制提供参考。本研究只是通过数据挖掘对甘草治疗 UC 的作用机制进行了预测,还需要通过药理和临床实验进一步验证。

参考文献

- [1] KIM Y S, HO S B. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: Recent insights and progress[J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2010, 12(5): 319-330.
- [2] CONRAD K, ROGGENBUCK D, LAASS M W. Diagnosis and classification of ulcerative colitis[J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(4/5): 463-466.
- [3] 李静, 陈卫刚. 肠道菌群治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(24): 4189-4192.
- [4] 赵红伟, 和丽丽, 韩华, 等. 银杏叶提取物对肠炎小鼠肠黏膜屏障的保护作用研究[J]. *重庆医学*, 2017, 46(27): 3763-3766.
- [5] BAUMGART D C, SANDBORN W J. Crohn's disease[J]. *The Lancet*, 2012, 380(9853): 1590-1605.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 302-303.
- [7] 高鸿霞, 邵世和, 王国庆. 中药甘草研究进展[J]. *井冈山医学学报*, 2004, 11(5): 8-11.
- [8] 李鹤, 谢亚娟, 朱亚珍, 等. 中医药治疗溃疡性结肠炎的用药组方规律的文献研究[J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(1): 176-181.
- [9] TAKHSHID M A, MEHRABANI D, AI J, et al. The healing effect of licorice extract in acetic acid-induced ulcerative colitis in rat model[J]. *Comp Clin Pathol*, 2012, 21(6): 1139-1144.
- [10] LIU D Y, GAO L, ZHANG J, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of licorice flavonoids on ulcerative colitis in mouse model[J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(4): 358-368.
- [11] 黄瑞雪. 姜黄素-槲皮素复方自微乳制备与药效学评价[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [12] CAO P. Formononetin ameliorates DSS-induced ulcerative colitis in mice through induction of Nrf2 in colons[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2016, 25(3): 178-188.
- [13] OGAWA A, ANDOH A, ARAKI Y, et al. Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. *Clin Immunol*, 2004, 110(1): 55-62.
- [14] BAI J, LI Y, SHAO T, et al. Integrating analysis reveals microRNA-mediated pathway crosstalk among Crohn's disease, ulcerative colitis and colorectal cancer[J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(9): 2317-2328.
- [15] HEAD K A, JURENKA J S. Inflammatory bowel disease Part 1: Ulcerative colitis-Pathophysiology and conventional and alternative treatment options[J]. *Altern Med Rev*, 2003, 8(3): 247-283.

(收稿日期: 2020-03-07 编辑: 田苗)

(上接第 463 页)

- [14] 苏德民, 沈烈行, 徐瑞军. 土鳖虫的化学成分及药理作用研究进展[J]. *时珍国医国药*, 1997(2): 153.
- [15] 李春梅, 王若光, 尤昭玲, 等. 中药土鳖虫基于 SELDI-TOF 技术的蛋白质组分析[C]//中国中西医结合学会中药专业委员会. 2007 年中华中医药学会第八届中药鉴定学术研讨会、2007 年中国中西医结合学会中药专业委员会全国中药学术研讨会论文集. 长沙: 中国中西医结合学会, 2007: 288-291.
- [16] 万德光, 杨文宇. 基于“品种-质量-药效”相关性的中药动物药品质观[J]. *中国现代中药*, 2019, 21(9): 1127-1136.
- [17] 刘睿, 朱振华, 钱大玮, 等. 基于 nanoLC-LTQ/OrbitrapMS 分析山羊角中蛋白质多肽类物质[J]. *质谱学报*, 2017, 38(1): 109-115.

(收稿日期: 2020-02-19 编辑: 田苗)