

## 丁香茄乙酸乙酯部位防治酒精性胃溃疡的药效评价

向西, 郭辉, 龚曼, 张阳, 代丽萍\*, 许二平\*  
(河南中医药大学 中医药科学院, 药学院, 郑州 450046)

**[摘要]** 目的:探究丁香茄乙酸乙酯部位(IM-EA)防治酒精性胃溃疡(GU)的可行性,并采用网络药理学结合动物实验探究其发挥疗效的作用机制。方法:将40只SD大鼠适应性喂养7d后随机分为空白组、模型组、雷尼替丁组(2.7 mg·kg<sup>-1</sup>)、IM-EA低(DL, 30 mg·kg<sup>-1</sup>)和高(DH, 60 mg·kg<sup>-1</sup>)剂量组。预防性给药1周后,采用盐酸无水乙醇(150 mmol·L<sup>-1</sup>)复制酒精性GU大鼠模型,采用苏木素-伊红(HE)染色、高碘酸-希夫染色(PAS)初步评估IM-EA防治GU的疗效。根据ADMET属性筛选IM-EA先导化合物,采用SwissTarget平台获取IM-EA先导化合物的潜在作用靶标;通过DisGeNET、OMIM和GeneCards数据库收集GU疾病相关靶标,与IM-EA潜在作用靶标相映射获取IM-EA防治GU潜在作用靶标。采用STRING数据库构建靶标蛋白-蛋白质相互作用(PPI)网络以筛选枢纽靶标,采用DAVID平台对交集靶标进行生物功能注释以探讨IM-EA防治GU的潜在作用机制,采用Autodock Vina软件进行计算机模拟初步验证。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)含量和胃组织中前列腺素E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、超氧化物歧化酶(SOD)含量,采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测胃组织中丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路的枢纽蛋白:Jun、细胞外调节蛋白激酶(ERK)和p38的相对表达量。结果:动物实验结果表明,与空白组比较,模型组大鼠胃组织损伤明显,胃黏液分泌显著减少。与模型组比较,各给药组大鼠胃组织溃疡面积均显著减小( $P<0.01$ ),胃组织病理学状态和胃黏液分泌得到改善,IM-EA防治GU确有疗效。经ADMET性质筛选获得16个IM-EA先导化合物,映射257个IM-EA防治GU潜在作用靶标,肿瘤坏死因子(TNF)、蛋白激酶B1(Akt1)、细胞肿瘤抗原p53(TP53)、表皮生长因子受体(EGFR)和ERK等靶标为PPI网络的枢纽节点。生物功能注释和分子对接结果提示MAPK信号通路可能在IM-EA防治GU的过程中起关键作用,与VEGF信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/Akt信号通路和NF- $\kappa$ B信号通路在抗炎、抗氧化和损伤修复等方面协同生效。药理实验进一步验证发现,与空白组比较,模型组大鼠血清中IL-6含量极显著升高( $P<0.01$ ),TNF- $\alpha$ 具升高趋势;模型组大鼠胃组织中MMP-9含量极显著升高( $P<0.01$ ),SOD含量明显降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,IM-EA各给药组血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量、胃组织中MMP-9、PGE<sub>2</sub>含量均极显著降低( $P<0.01$ ),胃组织中SOD含量极显著升高( $P<0.01$ )。与空白组比较,模型组大鼠胃组织中磷酸化(p)-p38、p-Jun、p-ERK显著上调( $P<0.01$ ),p38、Jun显著上调( $P<0.01$ );与模型组比较,IM-EA给药组胃组织中p-p38、p-Jun、p-ERK、p38则显著下调( $P<0.01$ ),Jun、ERK相对表达量明显上调( $P<0.05$ )。结论:丁香茄乙酸乙酯部位有较好的防治酒精性胃损伤的功效,可能通过MAPK通路介导抗炎、抗氧化和损伤修复等机制发挥作用。

**[关键词]** 丁香茄; 胃溃疡; 网络药理学; 作用机制; 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路

**[中图分类号]** R2-0;R33;R289;R318.14;R57 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)07-0105-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20230141 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail//11.3495.R.20230111.1538.006.html>

**[网络出版日期]** 2023-01-12 09:39:07

## Efficacy Evaluation of Ethyl Acetate Fraction of *Ipomoea muricatum* in Prevention and Treatment of Alcoholic Gastric Ulcer

XIANG Xi, GUO Hui, GONG Man, ZHANG Yang, DAI Liping\*, XU Erping\*

(School of Pharmacy, Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**[收稿日期]** 2022-11-08

**[基金项目]** 河南省中医药文化与管理研究重点课题(TCM2021013);河南省中医药科学研究专项课题(20-21ZY1027);崔应民全国名老中医药专家传承工作室项目(国中医药人教函[2022]75号);河南省高校创新团队支持计划项目(23IRTSTHN028)

**[第一作者]** 向西,在读硕士,从事方剂的配伍规律及其机制研究,E-mail:Anor-ing@hactcm.edu.cn

**[通信作者]** \*许二平,教授,主任医师,博士生导师,从事经典名方的配伍规律及机制研究,E-mail:xuerping0371@163.com;

\*代丽萍,教授,博士生导师,从事中药品质评价与开发,E-mail:liping\_dai@hactcm.edu.cn

**[Abstract] Objective:** To investigate the feasibility of ethyl acetate fraction of *Ipomoea muricatum* (IM-EA) in the prevention and treatment of alcoholic gastric ulcer (GU) and explore its mechanism of action based on network pharmacology and experimental verification. **Method:** Forty SD rats were randomly divided into a control group, a model group, a ranitidine group ( $2.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), and low- and high-dose IM-EA groups ( $30, 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) after adaptive feeding for 7 days. The GU model was replicated by hydrochloric acid in absolute ethanol ( $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in rats after prophylactic administration for one week. Hematoxylin-eosin (HE) staining and periodic acid-Schiff (PAS) staining were used to preliminarily evaluate the efficacy of IM-EA in the prevention and treatment of GU. Lead compounds of IM-EA were screened out by ADMET, and the SwissTarget platform was used to identify the potential targets for these compounds. GU-related targets were collected through DisGeNET, OMIM, and GeneCards databases, which were mapped to potential IM-EA targets to obtain the potential targets of IM-EA against GU. The STRING database was used to construct the protein-protein interaction (PPI) network to screen the hub targets, and the DAVID platform was used to annotate the biological functions of common targets to explore the underlying mechanism of IM-EA against GU. Autodock Vina software was used for the preliminary verification of the computer simulation. The serum levels of tumor necrosis factor (TNF) -  $\alpha$  and interleukin (IL) -6 and the content of prostaglandin  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), and superoxide dismutase (SOD) in the gastric tissues were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The relative expression levels of core proteins in the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway, such as Jun oncoprotein, extracellular signal-regulated kinase (ERK), and p38, in the gastric tissues were detected by Western blot. **Result:** As revealed by the results of animal experiments, compared with the control group, the model group showed significantly damaged gastric tissues and reduced secretion of gastric mucus. Compared with the model group, the groups with drug intervention showed reduced ulcer areas in the gastric tissues ( $P < 0.01$ ) and improved gastric histopathological status and gastric mucus secretion, suggesting that IM-EA was effective in the prevention and treatment of GU. Sixteen lead compounds of IM-EA were screened out by ADMET, and 257 potential targets of IM-EA against GU were obtained. The hub nodes in the PPI network included targets of TNF- $\alpha$ , protein kinase B1 (Akt1), tumor protein 53 (TP53), epidermal growth factor receptor (EGFR), and ERK. Biological functional annotation and molecular docking results suggested that the MAPK signaling pathway potentially played a key role in the prevention and treatment of GU by IM-EA, which was synergistic with the vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway, phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt signaling pathway, and nuclear factor (NF) -  $\kappa\text{B}$  signaling pathway in anti-inflammation, anti-oxidation, and damage repair. The pharmacological experiment results showed that compared with the control group, the model group showed increased serum IL-6 content ( $P < 0.01$ ), an increasing trend of TNF- $\alpha$  content, increased MMP-9 content in the gastric tissues ( $P < 0.01$ ), and decreased SOD content ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the IM-EA groups showed decreased TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in the serum and  $\text{PGE}_2$  and MMP-9 levels in the gastric tissues ( $P < 0.01$ ), and increased SOD content in the gastric tissues ( $P < 0.01$ ). Compared with the control group, the model group showed up-regulated expression of p-p38, p-Jun, and p-ERK in the gastric tissues ( $P < 0.01$ ) and up-regulated p38 and Jun ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the IM-EA groups showed down-regulated p-p38, p-Jun, p-ERK, and p38 in the gastric tissues ( $P < 0.01$ ) and up-regulated relative expression of Jun and ERK ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** IM-EA has a remarkable effect in the prevention and treatment of alcoholic gastric injury, which may be achieved through the mechanisms of anti-inflammation, anti-oxidation, and wound repair mediated by the MAPK signaling pathway.

**[Keywords]** *Ipomoea muricatum*; gastric ulcer; network pharmacology; mechanism of action; mitogen activated protein kinase (MAPK) signaling pathway

胃溃疡(GU)是一种常见的消化道炎症性疾病,以慢性、周期性和节律性的上腹部疼痛为主要临床特征<sup>[1]</sup>。数据统计显示,我国GU发病率约6.06%,远高于欧美国家(2.00%~2.30%)<sup>[2-3]</sup>。GU如不及时治疗,可诱发出血、穿孔和梗阻等多种并发症,甚至迁延为胃癌,严重危害人类健康<sup>[4-5]</sup>。幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*)感染、非甾体类抗炎药的长期使用和无序饮酒、抽烟等应激是GU发病的重要诱因,随着*H. pylori*根除治疗和非甾体类消炎药替代药物的研究取得进展,无序饮酒等应激成为当今GU发病的主要诱因<sup>[6]</sup>,犹以急性大量饮酒造成的急性胃溃疡损伤最为常见。现有治疗GU单体药物如质子泵抑制剂、H<sub>2</sub>受体阻断剂等单体药物有呕吐、过敏和心律不齐等多种不良反应。大量临床和实验发现中草药,特别是药食同源天然植物治疗GU疗效卓著,可有效避免单体药物产生的不良反应<sup>[7]</sup>。因此,从药食同源天然植物探寻综合防治GU的组分药物成为该领域研究的热点和潜在突破点。

丁香茄(*Ipomoea muricatum*)为旋花科月光花属,是中国少数民族常用的药食同源植物,其首载于宋·唐慎微所著的《证类本草》:“其叶如醋细,研治小儿火焰丹,消赤肿”;《救荒本草》亦有记载:“叶可作蔬”。对其进行文献考证发现,丁香茄临床常用于胃脘痛的治疗,如《中国药材标准名录》载:“壮药,叶可用于胃脘痛”。根据文献及本课题组前期相关研究表明,丁香茄乙酸乙酯部位(IM-EA)具有较好的镇痛、抗炎、抗氧化和血管保护等功效<sup>[8-9]</sup>。但对于古籍记载的胃脘痛的治疗尚未见相关报道。因此,本研究首先建立酒精性GU大鼠模型,对丁香茄防治GU的药效进行评价,以期获得防治酒精性GU有效药物提供参考。

中草药具有多成分、多靶标、多机制系统协同生效的特点。网络药理学作为一门将生物信息学、计算机大数据和多向药理学等多学科融合的策略,其大数据网络拓扑分析的方法与中草药发挥疗效的多机制特点相吻合。故本次研究在确认IM-EA防治酒精性GU确有疗效的基础上,采用网络药理学构建IM-EA防治GU的“成分-靶标-通路”网络以探讨IM-EA发挥疗效的潜在机制,并在动物模型对上述预测结果进行药理实验验证,以期对丁香茄防治酒精性GU的临床应用提供数据支撑。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级雄性SD大鼠,6~8周龄,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,合格证号SCXK

(鲁)2019-0003。此次动物实验经河南中医药大学伦理委员会审核(伦理学编号DWLL202009058)。动物按相关规定饲养,室温(22±2)°C,湿度55%~60%,12 h明暗交替。

**1.2 药物** 丁香茄叶采自河南省商丘市民权县,经河南中医药大学代丽萍教授鉴定为旋花科植物丁香茄 *Ipomoea muricatum* 的叶。精确称量干燥丁香茄叶 17.0 kg,粉碎,采用 10 倍量 70% 乙醇冷凝回流提取 2 次,每次 2 h,合并滤液后减压浓缩得粗浸膏。将粗浸膏水溶分散后采用乙酸乙酯萃取,减压浓缩干燥,获得乙酸乙酯部位干膏 810 g,得率为 4.76%<sup>[8]</sup>。

**1.3 试剂** 盐酸雷尼替丁胶囊(江西新赣江药业,批号 20191102);浓盐酸(洛阳化学试剂厂,批号 20190501);p38、Jun、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(美国 CST 公司,批号分别为 8690、3270、4370、4970);肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、前列腺素 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20210528、20210528、20210528、20210527、20210528);苏木素-伊红(HE)染液套装、PAS 染液套装(武汉 Servicebio 公司,批号分别为 G1003、G1008)。

**1.4 仪器** Sorvall ST 16R 型高速低温离心机(美国 Thermo Fisher 公司);Mini-PROTEAN®Tetra 型电泳仪、Mini Trans-Blot®型电泳转印槽、ChemiDoc 成像系统(美国 Bio-Rad 公司);iMark 型多功能酶标仪(美国 BioTek 公司);JB-P5 型包埋机(武汉俊杰公司);RM2016 型病理切片机(上海徠卡公司)。

## 2 方法

### 2.1 IM-EA 防治 GU 的网络药理学研究

**2.1.1 IM-EA 相关成分及靶标筛选** IM-EA 化合物由河南省豫产道地药材综合开发利用工程技术研究中心提供<sup>[8]</sup>,采用 Discovery Studio 软件预测化合物的 ADMET 性质,筛选 IM-EA 的先导化合物。采用 SwissTarget 平台<sup>[10]</sup>(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)获取各化合物的潜在作用靶标,选择存为数据集 IM-EA。

**2.1.2 IM-EA 防治 GU 靶标筛选** 以“Gastric ulcer”为主题词、检索 DisGeNET<sup>[11]</sup>(<https://www.disgenet.org/>)、OMIM<sup>[12]</sup>(<https://www.omim.org/>)和 GeneCards<sup>[13]</sup>(<https://www.genecards.org/>)数据库收集 GU 疾病相关靶标。采用 UniProt 数据库<sup>[14]</sup>

(<https://www.uniprot.org/>)将药物的潜在作用靶标和疾病靶标名称统一转换为 Gene Symbol,并将各数据收集的疾病靶标取并集后去重,存为数据集 GU。将数据集 GU 与数据集 IM-EA 映射,获得 IM-EA 防治 GU 的潜在作用靶标,存为数据集 IM-GU。

**2.1.3 IM-EA 防治 GU 靶标蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建** 将 IM-GU 上传至 STRING 数据库<sup>[15]</sup>(<https://string-db.org/>)获取 PPI 网络数据,并将其导入 Cytoscape 3.9.1 软件<sup>[16]</sup>进行网络拓扑分析。借助 CytoNCA 插件<sup>[17]</sup>以介数中心性值(BC)和度值(Degree)的中位数为指标筛选 Hitbubs 枢纽网络及 hub genes。

**2.1.4 IM-EA 防治 GU 靶标的生物功能注释** 采用 DAVID 平台<sup>[18]</sup>(<https://david.ncifcrf.gov/>)对 IM-EA 防治 GU 靶标进行生物功能注释,包括京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路、GO 注释的生物过程(BP)和分子功能(MF)。借助 KEGG Mapper 工具<sup>[19]</sup>梳理各通路数据,以  $P < 0.01$  为条件截取  $P$  值较小的 20 位注释结果进行可视化展示。

**2.1.5 成分-靶标-通路网络构建** 根据 2.1.4 项中富集的 KEGG 信号通路信息及通路相关靶标反向筛选 2.1.1 项中靶标所涉及的药物成分,并采用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“成分-靶标-通路”网络。借助 CytoNCA 插件进行网络拓扑分析,以评估 IM-EA 防治 GU 的主要潜在活性成分及其潜在作用靶标。

**2.1.6 计算机模拟验证-分子对接** 综合评估并筛选 PPI 网络和“成分-靶点-通路”网络中的枢纽靶标为受体,通过 PDB 数据库<sup>[20]</sup>(<https://www.rcsb.org/>)下载相关受体蛋白 pdb 格式文件,采用 PyMOL2.5 软件进行去除原配体、去水和加氢等降噪处理。采用 ChemBioDraw 软件绘制 IM-EA 先导化合物结构并保存为 Mol2 文件。采用 Autodock vina 软件<sup>[21]</sup>进行分子对接计算机模拟验证。通常认为结合能  $< -4.25 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  ( $1 \text{ cal} \approx 4.184 \text{ J}$ ) 时,认为分子配体与蛋白受体具有自发结合的活性;认为结合能  $< -5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  时,具有较好的结合活性;结合能  $< -7.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  时,提示具有强烈的结合活性<sup>[22]</sup>。采用 R 软件包 clusterProfiler (version 4.6.0)<sup>[23]</sup>绘制热图可视化展示。

## 2.2 IM-EA 防治 GU 的药理学实验验证

**2.2.1 动物分组与模型复制** 将 40 只 SD 大鼠适应性喂养 7 d 后随机分为空白组、模型组[1%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)]、雷尼替丁组( $2.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、

IM-EA 低剂量组( $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )和 IM-EA 高剂量组( $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。灌胃剂量按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  计算,早晚各 1 次,自由饮食,预防性给药 1 周。取材前,禁食 24 h、禁水 12 h。末次灌胃 1 h 后,模型组、雷尼替丁组和 IM-EA 低、高剂量组按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  灌胃给予  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸无水乙醇造模<sup>[24-25]</sup>,空白组同剂量灌胃 1% CMC-Na。造模 60 min 后,腹腔注射 20% 乌拉坦溶液进行麻醉、解剖,经腹主动脉采集血液样品,静置 1 h 后  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min(离心半径 7 cm,下同),取上清, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。胃组织沿胃大弯剪开于生理盐水中漂洗后展开内壁采集图像;单个组织样品分为两部分,一部分以 4% 多聚甲醛浸泡保存,另一部分液氮焯后  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

**2.2.2 胃溃疡指数和溃疡损伤抑制率测定** 参考文献中方法<sup>[26]</sup>,采用 Image pro 软件对 2.2.1 项所得样本图像进行胃组织的溃疡指数测定,计算溃疡抑制率。溃疡指数 = 胃溃疡面积/胃总面积  $\times 100\%$ ; 溃疡抑制率 = (模型组溃疡指数 - 给药组溃疡指数)/模型组溃疡指数  $\times 100\%$ 。

**2.2.3 HE 和 PSA 染色** 参照文献<sup>[27]</sup>方法分别进行 HE 和 PAS 染色。将经 4% 多聚甲醛固定的胃组织进行脱水、洗脱、石蜡包埋,然后切成  $5 \mu\text{m}$  厚切片, $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温干燥 2 h 后进行 HE 和 PAS 染色。

**2.2.4 血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量测定**  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存的血清为供试品,严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作测定血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量。

**2.2.5 胃组织中 MMP-9、PGE<sub>2</sub> 和 SOD 含量测定** 取  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存的胃组织, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  生理盐水洗净后,吸水纸吸干。称取各样本组织适量,10 倍量 RIPA 裂解液  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  研磨后冰上反应 30 min, $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温离心 15 min,取上清,即为待测样本。测定过程严格按照相关试剂盒说明书操作。

**2.2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测胃组织中 p38、Jun、ERK 蛋白表达** 总蛋白样本提取同 2.2.5 项,1:4 加入 5 $\times$ 蛋白缓冲液,煮沸 10 min,即为供试品。按传统方法即 SDS-PAGE 凝胶电泳、半干转膜法、5% 牛血清蛋白封闭 2 h、一抗  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  过夜、TBST 溶液漂洗、二抗孵育 1 h、化学荧光成像等步骤测定 MAPK 通路中 p38、Jun、ERK 蛋白表达水平, $\beta$ -actin 为内参。采用 Image J 软件定量分析各条带的灰度值,将磷酸化蛋白、目标蛋白与  $\beta$ -actin 内参的灰度值的平均值相除矫正后,以空白组为背景进行归一化处理,而后进行组间比较,评估各组大鼠胃组织中的 MAPK 通路蛋白的表达情况。

**2.2.7 统计学方法** 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采用两独立样本 *t* 检验,多组之间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 IM-EA 先导化合物及作用靶标筛选结果** 课题组前期分离并指认的 IM-EA 成分经 ADMET 性质筛选后,获得 16 个先导化合物,包括脂肪酸、黄酮苷和木脂素类等(见增强出版附加材料)。经 SwissTarget 平台反向钓靶获得 IM-EA 先导化合物的潜在作用靶标 383 个。

**3.2 IM-EA 防治 GU 靶标的获取** 将各数据库收集的 GU 疾病相关靶标取并集除重,最终保留 4 359 个疾病相关靶标,其中 DisGeNET 平台 136 个,OMIM 511 个、GeneCards 5 028 个。将 IM-EA 化合物潜在作用靶标与 GU 疾病相关靶标映射后获得 257 个共同靶标(见增强出版附加材料)。

**3.3 PPI 网络的构建及 hub genes 筛选** IM-EA 防治 GU 潜在作用靶标的 PPI 网络由 257 个节点、3 023 条边组成,包含 2 个游离节点(CA6、ST6GAL1),平均节点度值为 23.5,富集系数  $P < 1 \times 10^{-16}$ ,平均局部聚类系数为 0.482。借助 CytoNCA 插件筛选获得 Hitbubs 核心网络。肿瘤坏死因子(TNF)、蛋白激酶 B1(Akt1)、肿瘤抑制蛋白 P53(TP53)、表皮生长因子受体(EGFR)、丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)、热休克蛋白 A1(HSP90AA1)和前列腺素内过氧化物合酶 2(PTGS2)等靶标为网络的枢纽节点(hub genes)。Hitbubs 网络中 TNF\_TP53 (BC=99.77)、TNF\_PPARG (BC=98.62)、TNF\_HSP90AA1 (BC=89.00)、PTGS2\_TP53 (BC=86.60) 和 TNF\_MAPK1 (BC=82.03) 等边中心性较高。见增强出版附加材料。

**3.4 IM-EA 防治 GU 靶标的生物功能注释及“成分-靶标-通路”网络** 通过 DAVID 平台富集得到 IM-EA 防治 GU KEGG 通路 159 条,除泛癌通路、代谢通路等广泛通路外,内分泌拮抗、PI3K/Akt、脂质和动脉硬化、EGFR、Ras 和活性氧激活的致癌信号通路等信号通路为 IM-EA 防治 GU 较为密切的通路。涉及对脂多糖的应答、对细胞钙离子的稳态调节、对炎症反应的调控、MAPK 活性的调控等 569 种生物过程;Akt 激活、雌激素受体激活、药物捕获等 151 种分子功能。见增强出版附加材料。

通过 KEGG Mapper 工具对各通路数据逐一梳理后发现 *P* 值较小的前 20 条通路可以涵盖绝大部

分通路信息,故采纳 *P* 值较小的前 20 条通路构建“成分-靶标-通路”网络并绘制简要机制图(见增强出版附加材料)。“成分-靶标-通路”网络由 126 个节点、807 条边构成。网络中度值较高的化合物为 IM2、IM11 和 IM9;度值较高的靶标为 PIK3CA、MAPK1、PIK3CD、PIK3CB、MAPK3 和 Akt1、Akt2 等。其中核心靶标 PIK3CA、PIK3CD 和 PIK3CB 同为 PI3K 的亚型<sup>[28]</sup>,与化合物 IM11、IM13、IM14 和 IM15 相关。Akt1、Akt2 同为鸟苷酸环化酶家族(RAC)成员,为 IM3 作用靶点。MAPK1、MAPK3 为 ERK 亚型,为 IM9 作用靶点,而 ERK 为 MAPK 信号通路的 3 个枢纽基因之一。同时,与血管新生密切相关的蛋白 EGFR 同为 IM9 成分作用靶点。

**3.5 分子对接结果** AutoDock 软件是一款基于“诱导契合”模型、用于预测小分子与蛋白的结合构象和结合自由能的计算机模拟软件<sup>[29]</sup>。共获得 180 组对接结果,其中结合能  $< -5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  共有 124 组,结合能  $< -7.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$  共有 9 组,以 Jun 与 IM12 结合能最低( $-7.80 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )。如热图所示,MAPK 信号通路的节点蛋白 ERK、p38、Jun 与各成分结合更为紧密,VEGF 信号通路中上游蛋白如 HRAS、EGFR 与 IM-EA 各成分契合较好,而末端因子如 MMP-9 则相对较低,提示 IM-EA 相关成分可能主要作用于前端损伤的预防。同时,IM-EA 相关成分与 PI3K 和 mTOR 契合较好,而通路的末端因子如 Caspase-3、TNF 等较 PI3K 结合能低,IM-EA 防治 GU 的抗炎作用的发挥,可能与 PI3K/Akt 等前端通路相关,而非直接抑制炎症因子的释放。因此推测,由 HRAS 等应激激活 MAPK 和 VEGF 通路介导组织损伤过程,进一步诱导 PI3K/Akt 介导的炎症调节可能是 IM-EA 防治 GU 的主要机制。在药物成分方面,IM10、IM13、IM14 等成分与各靶标契合度较好,IM9 与 Jun、ERK、p38 和 PI3K 有较高的契合度,为“成分-靶标-通路”网络的结果提供了理论支撑,简要机制图见增强出版附加材料。

**3.6 对大鼠胃组织形态学的影响** 空白组大鼠胃黏膜红润光泽,皱襞规整无异状。与空白组比较,模型组大鼠胃组织出现大面积暗红色出血、水肿等损伤症状,提示造模成功。与模型组比较,各给药组大鼠胃组织损伤面积显著缩小、出血症状显著改善,溃疡指数显著降低( $P < 0.01$ )。见表 1、图 1。

**3.7 对大鼠胃组织病理学变化的影响** HE 染色结果显示,空白组大鼠胃黏膜结构完整,腺体排列规则,无水肿、出血。与空白组比较,模型组大鼠胃黏

表1 IM-EA对GU大鼠胃组织溃疡指数和溃疡抑制率的影响 (n=6)

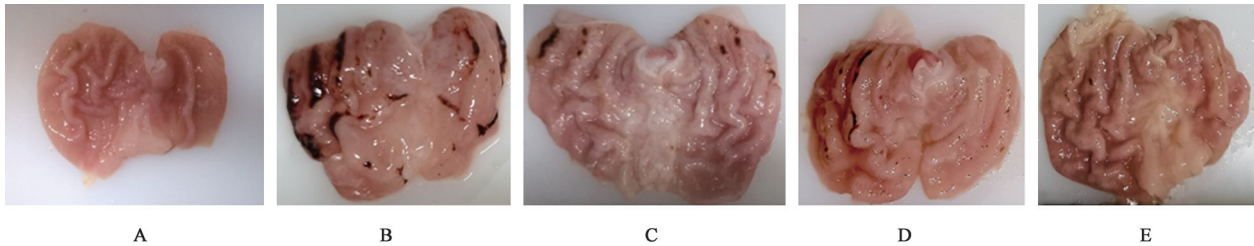
Table 1 Effect of IM-EA on ulcer index and ulcer inhibition rate in GU rats (n=6)

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	溃疡指数( $\bar{x}\pm s$ )	溃疡抑制率/%
空白组			
模型组		21.89±4.05 <sup>1)</sup>	100.00
雷尼替丁组	2.7	6.08±4.46 <sup>2)</sup>	72.22
IM-EA低剂量组	30	10.88±2.38 <sup>2)</sup>	50.30
IM-EA高剂量组	60	3.45±1.58 <sup>2)</sup>	84.24

注:与空白组比较<sup>1)</sup>P<0.01;与模型组比较<sup>2)</sup>P<0.01(表2同)

膜局部崩解脱落、局灶性出血,黏膜下层大面积积水

肿,其间有明显的纤维组织和中性粒细胞等炎性浸润,血管扩张明显。与模型组比较,雷尼替丁组黏膜结构完整,局部增厚,黏膜下水肿、少量炎性浸润,毛细血管扩张;IM-EA低剂量组黏膜轻微变性,黏膜下水肿,未见明显的血管扩张和炎性浸润;IM-EA高剂量组黏膜结构完整,略有增厚,有黏膜下水肿和炎性浸润、以及血管扩张。各给药组较模型组症状均有改善,见图2。PAS染色结果显示,与空白组比较,模型组胃黏液分泌显著减少。与模型组比较,雷尼替丁组和IM-EA低剂量组胃黏液分泌显著增加,主要富集在黏膜表层;IM-EA高剂量组胃黏液分泌较模型组无显著变化。见图3。



注:A.空白组;B.模型组;C.雷尼替丁组;D.IM-EA低剂量组;E.IM-EA高剂量组(图2-图4同)

图1 IM-EA对酒精性GU模型大鼠胃组织的形态的影响

Fig. 1 Effect of IM-EA on gastric tissue morphology in GU rats

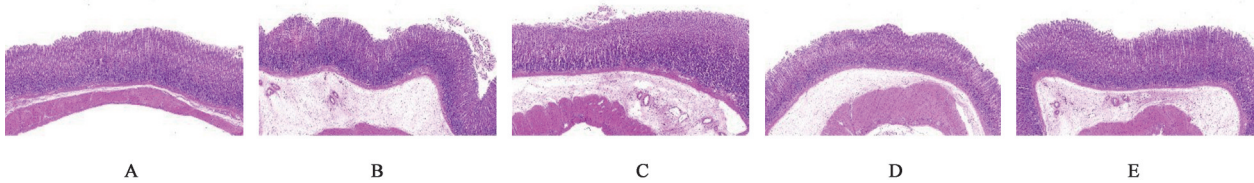


图2 IM-EA对GU模型大鼠胃组织病理学影响(HE,×100)

Fig. 2 Effect of IM-EA on histopathological lesions in GU rats (HE,×100)

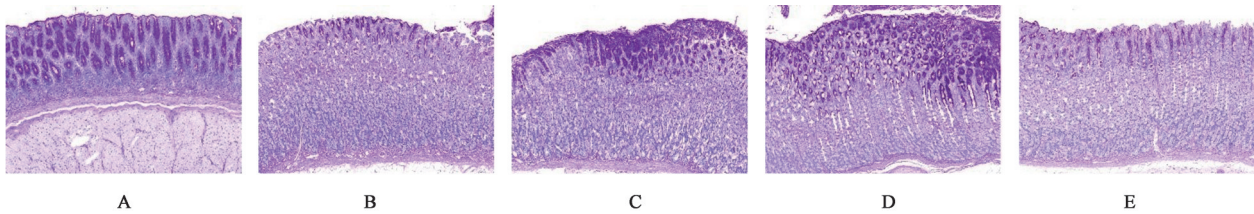


图3 IM-EA对GU模型大鼠胃黏液分泌的影响(PAS,×200)

Fig. 3 Effect of IM-EA on gastric mucus distribution in GU rats (PAS,×200)

3.8 对大鼠血清中TNF-α、IL-6含量的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清IL-6含量显著升高(P<0.01);与模型组比较,IM-EA低、高剂量组大鼠血清中TNF-α、IL-6含量显著降低(P<0.01)。见表2。

3.9 对大鼠胃组织中PGE<sub>2</sub>、MMP-9和SOD水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠胃组织中MMP-9含量显著升高(P<0.01),SOD活性明显降低(P<0.05);与模型组比较,IM-EA低剂量组胃组织中

PGE<sub>2</sub>、MMP-9含量均显著降低(P<0.01),各给药组大鼠胃组织中SOD活性均显著升高(P<0.01)。见表3。

3.10 对大鼠胃组织中的MAPK信号通路相关蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠胃组织中p-p38、p-Jun、p-ERK均明显上调(P<0.05,P<0.01),p-p38/p38、p-Jun/Jun显著上调(P<0.01);与模型组比较,IM-EA各剂量组大鼠胃组织中p-p38、p-Jun、

表2 IM-EA对GU大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6含量的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )  
Table 2 Effect of IM-EA on TNF- $\alpha$  and IL-6 in serum of GU rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/ mg·kg <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$	IL-6
空白组		45.49±0.72	208.60±8.66
模型组		46.14±2.98	375.60±0.31 <sup>1)</sup>
雷尼替丁组	2.7	43.80±2.21	224.40±11.60 <sup>2)</sup>
IM-EA低剂量组	30	41.10±1.59 <sup>2)</sup>	250.30±68.95 <sup>2)</sup>
IM-EA高剂量组	60	41.77±1.03 <sup>2)</sup>	239.60±22.82 <sup>2)</sup>

p-ERK、p-p38/p38 明显下调 ( $P<0.05, P<0.01$ ), p-ERK/ERK 显著上调 ( $P<0.01$ ), IM-EA 高剂量组 p-Jun/Jun 显著上调 ( $P<0.01$ )。见表4和图4。

表3 IM-EA对GU模型大鼠胃组织中PGE2、MMP-9和SOD含量的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of IM-EA on PGE2, MMP-9, and SOD in gastric tissue of GU rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/ mg·kg <sup>-1</sup>	PGE2/ng·L <sup>-1</sup>	MMP-9/ $\mu$ g·L <sup>-1</sup>	SOD/U·mg <sup>-1</sup>
空白组		72.71±5.31	20.58±0.58	10.92±0.43
模型组		74.86±1.28	23.15±0.99 <sup>2)</sup>	9.67±0.34 <sup>1)</sup>
雷尼替丁组	2.7	68.83±3.17 <sup>3)</sup>	22.20±0.69	12.08±0.61 <sup>4)</sup>
IM-EA低剂量组	30	68.75±1.04 <sup>4)</sup>	20.82±0.11 <sup>4)</sup>	17.79±0.93 <sup>4)</sup>
IM-EA高剂量组	60	73.43±3.00	23.98±0.34	11.47±0.63 <sup>4)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ (表4同)

表4 IM-EA对GU模型大鼠胃组织中MAPK枢纽蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 4 Effect of IM-EA on activation of core targets of MAPK signalling pathway in gastric tissues ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/ mg·kg <sup>-1</sup>	p-p38/ $\beta$ -actin	p-Jun/ $\beta$ -actin	p-ERK/ $\beta$ -actin	p-p38/p38	p-Jun/Jun	p-ERK/ERK
模型组		1.53±0.11 <sup>1)</sup>	1.41±0.10 <sup>2)</sup>	1.21±0.11 <sup>1)</sup>	1.41±0.10 <sup>2)</sup>	1.43±0.00 <sup>2)</sup>	1.09±0.10
雷尼替丁组	2.7	1.14±0.35	1.58±0.06	1.15±0.09	1.59±0.06	1.71±0.20 <sup>3)</sup>	1.25±0.10
IM-EA低剂量组	30	0.79±0.09 <sup>4)</sup>	0.85±0.10 <sup>4)</sup>	0.88±0.75 <sup>4)</sup>	0.85±0.10 <sup>4)</sup>	1.51±0.00	1.74±0.15 <sup>4)</sup>
IM-EA高剂量组	60	0.69±0.04 <sup>4)</sup>	0.61±0.04 <sup>3)</sup>	0.93±0.07 <sup>4)</sup>	0.61±0.04 <sup>4)</sup>	1.85±0.01 <sup>4)</sup>	1.62±0.13 <sup>4)</sup>

注:设空白组各指标mRNA表达量均为1

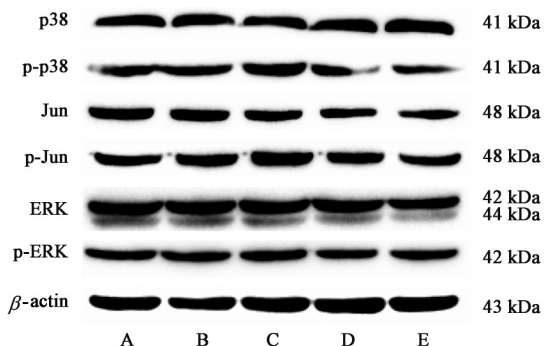


图4 各组大鼠胃组织中MAPK通路蛋白表达电泳  
Fig. 4 Electrophoresis of MAPK pathway protein expression in gastric tissues of rats in each group

#### 4 讨论

现代研究表明,酒精性胃损伤的发生机制与胃黏膜损伤及其诱导的级联炎症反应密切相关<sup>[30-31]</sup>。酒精可抑制胃黏液分泌,改变黏膜的通透性,造成胃部脱水;酒精代谢产物乙醛可损伤胃黏膜;而黏膜上皮和血管的损伤可进一步诱导胃部炎症,炎症因子如中性粒细胞的浸润可产生大量的活性氧离子进一步损伤胃体<sup>[30]</sup>。急性大量饮酒还可促进胃酸/胃泌素分泌,延缓胃排空进程等<sup>[32]</sup>;丁香茄是中国少数民族地区药食两用植物,查阅古籍和文献发现,丁香茄乙酸酯部位具有优良的抗炎和损伤修复功效,与酒精性GU的损伤机制有吻合之处。因而笔者作出假设:IM-EA可能具有防治酒精性胃损伤的功效,进而对此进行药效学研究。

根据中医“未病先防、既病防变、瘥后防复”理论的指导,本次研究采用预防性给药于急性模型的方式探讨IM-EA功效,即预防性给药一周后采用盐酸无水乙醇建立急性酒精性GU大鼠模型以评估IM-EA的有效性。实验结果发现,模型组大鼠胃组织表面出现大面积暗红色出血、水肿等损伤症状;同时微观的HE、PAS染色结果发现,模型组大鼠胃黏膜损伤严重,出现局部崩解脱落、局灶性出血,黏膜下层大面积水肿和炎性浸润,提示本文采用的造模方法切实可行。同模型组比较,IM-EA给药组大鼠的胃内壁较模型组的组织损伤得到明显改善,胃

粘液的分泌得到显著的缓解,表明IM-EA防治急性酒精性GU确有疗效。通常认为药物成分的潜在作用靶标与疾病靶标相映射获取的交集,即为联通药物与疾病的“桥梁”。本次研究在IM-EA防治GU确有疗效的基础上,采用网络药理学策略对IM-EA防治GU的机制进行了理论研究。经ADMET性质筛选获得的16个IM-EA先导化合物,映射257个IM-EA防治GU的潜在作用靶标。对其进行生物功能注释的结果表明,MAPK信号通路可能在IM-EA防治GU的过程中起着关键的调控作用。进一步采用的分子对接计算机模拟验证结果也发现,IM-EA相关成分与MAPK信号通路的节点蛋白ERK、p38、Jun契合更为紧密。据文献报道,酒精可通过多种途径激活MAPK信号通路。酒精性GU可通过诱发炎症级联反应造成胃损伤<sup>[33]</sup>,而炎症可作为损伤因子调控MAPK信号通路,涉及多种损伤修复过程<sup>[34]</sup>。如乙醇可诱导胃黏膜细胞产生氧自由基<sup>[33]</sup>,氧自由基可直接作为刺激源激活MAPK信号通路<sup>[35-36]</sup>。同时还可通过多种途径对胃黏膜产生影响,增加胃黏膜损伤易感性<sup>[37-38]</sup>。网络药理学预测结果与文献报道相吻合,故本次研究从MAPK信号通路调控炎症反应着手进行机制探讨。

酒精性GU可通过诱发炎症级联反应造成胃损伤,TNF- $\alpha$ 和IL-6为其末端炎症因子,其可诱导MMP-9、PGE<sub>2</sub>、SOD等细胞因子的释放<sup>[33]</sup>。MMP-9在炎症级联反应中的细胞外基质的局部蛋白水解和白细胞迁移中起重要作用<sup>[39-41]</sup>,PGE<sub>2</sub>与炎症发生时内皮细胞迁移和血管损伤修复密切相关<sup>[42-43]</sup>,SOD可清除酒精性GU所产生的对机体有害的超氧阴离子自由基损伤。药理实验结果发现,酒精性GU大鼠模型可上调TNF- $\alpha$ 、IL-6、MMP-9和PGE<sub>2</sub>,降低SOD含量;同模型组比较,IM-EA给药组的TNF- $\alpha$ 、IL-6、MMP-9和PGE<sub>2</sub>含量显著降低,胃组织SOD含量显著增加,提示IM-EA可减轻抑制机体炎症反应,减少炎症因子、血管因子及氧化因子的释放,具有显著抗炎、抗氧化的功效,网络药理学理论研究结果得到证实。

TAMAZATO等<sup>[44]</sup>研究发现,p38可通过p53信号通路激活SERPINB5家族基因的表达,而SERPINB5家族基因已被证实可直接或间接抑制血管的新生和代谢。p38的下调,可使血管新生和代谢通路的抑制得到缓解。KAWANAKA等<sup>[45-46]</sup>研究发现,酒精性胃损伤可诱导胃黏膜中p-ERK的上调,大量研究也证实ERK的生物活性对损伤性胃黏

膜的修复有着积极的调节作用。LIU等<sup>[47]</sup>研究发现,Jun的抑制,有利于体细胞向多功能干细胞的转变,有助于组织的损伤修复。本次研究发现,模型组大鼠胃组织中的p-38、p-Jun、p-ERK均显著增加,与文献报道一致。与模型组比较,IM-EA各给药组胃组织中的磷酸化蛋白则均显著降低,提示IM-EA可使p-38、p-Jun、p-ERK的磷酸化过程受阻。在“成分-靶标-通路”网络中,MAPK信号通路相关蛋白MAPK1、MAPK3为IM9(咖啡酸苯乙酯, Ethyl Caffeate)的潜在作用靶标。研究发现,咖啡酸苯乙酯可抑制ERK的活性<sup>[48-49]</sup>。实验结果表明,IM-EA确可调控MAPK信号通路。

中医药具有多成分、多靶标、多机制协同生效的特点,机体内细胞因子、趋化因子和蛋白表达的调控,亦是一个非常复杂的网络,网络药理学研究策略在一定程度上可以理论性的揭示中医药的复杂调控网络。本次研究对IM-EA防治酒精性GU的可行性进行了动物实验,发现其确有疗效。而后采用网络药理学策略构建了“成分-靶标-通路”网络对其发挥疗效的机制进行了理论探讨,发现IM-EA相关成分可能通过MAPK信号通路、PI3K/Akt信号通路、EGFR信号通路、NF- $\kappa$ B等信号通路介导抗炎、抗氧化和损伤修复等机制防治酒精性GU。采用动物体内实验对上述预测结果进行了初步验证,验证结果与网络药理学分析结果吻合。需要注意的是,鉴于个体及单次研究的局限性,本次研究并未能涵盖所有网络药理学的预测机制,还有丰富的理论有待证实,有待更为系统、全面的阐释。希望本次研究结果能为胃损伤疾病的防治和丁香茄药物的深入研发提供新的论证支撑和思路,本研究团队将持续关注丁香茄和胃损伤性疾病的药理研究进展,并在此基础上进行更深入药物成分分析和疾病机制研究。

[致谢] 感谢朱利利研究员和王梦梦对本论文撰稿提供的支持和帮助。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] LANAS A, CHAN F K L. Peptic ulcer disease [J]. Lancet, 2017, 390(10094): 613-624.
- [2] LI Z, ZOU D, MA X, et al. Epidemiology of peptic ulcer disease: Endoscopic results of the systematic investigation of gastrointestinal disease in China [J]. Am J Gastroenterol, 2010, 105(12): 2570-2577.
- [3] LAU J Y, SUNG J, HILL C, et al. Systematic review

- of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: Incidence, recurrence, risk factors and mortality [J]. *Digestion*, 2011, 84(2):102-113.
- [ 4 ] FORD A C, DELANEY B C, FORMAN D, et al. Eradication therapy in *Helicobacter pylori* positive peptic ulcer disease: Systematic review and economic analysis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(9):1833-1855.
- [ 5 ] LUO J, NORDENVALL C, NYREN O, et al. The risk of pancreatic cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease [J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(2):368-372.
- [ 6 ] EISNER F, HERMANN D, BAJAEIFER K, et al. Gastric ulcer complications after the introduction of proton pump inhibitors into clinical routine: 20-year experience [J]. *Visc Med*, 2017, 33(3):221-226.
- [ 7 ] BI W P, MAN H B, MAN M Q, et al. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(45):17020-17028.
- [ 8 ] 白岩松, 池军, 张玲霞, 等. 丁香茄叶乙酸乙酯部位化学成分及抗炎活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(12):2011-2018.
- [ 9 ] 刘雅琳, 龚曼, 苏成福, 等. 丁香茄生物碱对人非小细胞肺癌体外作用及其机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(7):1602-1604.
- [ 10 ] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. Swiss Target Prediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1):357-364.
- [ 11 ] PINERO J, BRAVO À, QUERALT N, et al. DisGeNET: A comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(D1):833-839.
- [ 12 ] AMBERGER J S, HAMOSH A. Searching Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): A knowledgebase of human genes and genetic phenotypes [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2017, doi: 10.1002/cpbi.27.
- [ 13 ] SAFRAN M, DALAH I, ALEXANDER J, et al. GeneCards Version 3: The human gene integrator [J]. *Database (Oxford)*, 2010, doi: 10.1093/database/baq020.
- [ 14 ] SOUDY M, ANWAR A M, AHMED E A, et al. UniprotR: Retrieving and visualizing protein sequence and functional information from Universal Protein Resource (UniProt knowledgebase) [J]. *J Proteomics*, 2020, doi:10.1016/j.jprot.2019.103613.
- [ 15 ] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1):607-613.
- [ 16 ] OTASEK D, MORRIS J H, BOUCAS J, et al. Cytoscape automation: Empowering workflow-based network analysis [J]. *Genome Biol*, 2019, 20(1):185.
- [ 17 ] TANG Y, LI M, WANG J, et al. CytonCA: A cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks [J]. *Biosystems*, 2015, doi:10.1016/j.biosystems.
- [ 18 ] SHERMAN B T, HAO M, QIU J, et al. DAVID: A web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(W1):216-221.
- [ 19 ] KANEHISA M, SATO Y. KEGG Mapper for inferring cellular functions from protein sequences [J]. *Protein Sci*, 2020, 29(1):28-35.
- [ 20 ] FERMI G, PERUTZ M F, SHAANAN B, et al. The crystal structure of human deoxyhaemoglobin at 1.74 Å resolution [J]. *J Mol Biol*, 1984, 175(2):159-174.
- [ 21 ] TROTT O, OLSON A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. *J Comput Chem*, 2010, 31(2):455-461.
- [ 22 ] HSIN K Y, GHOSH S, KITANO H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e83922.
- [ 23 ] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. ClusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. *OMICS*, 2012, 16(5):284-287.
- [ 24 ] HOSSEN M J, CHOU J Y, LI S M, et al. An ethanol extract of the rhizome of *Atractylodes chinensis* exerts anti-gastritis activities and inhibits Akt/NF- $\kappa$ B signaling [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, doi: 10.1016/j.jep.2018.09.015.
- [ 25 ] 魏伟, 物希美, 李元健. 药理实验方法学 [M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2010:1113-1114.
- [ 26 ] 崔兵迪, 郭辉, 龚曼, 等. 基于 Akt/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨牛蒡根水提物对盐酸/乙醇诱导的急性胃溃疡大鼠的保护作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 29(2):1-9.
- [ 27 ] 杨伟平, 吴文乔, 邹宗楷, 等. 改良 PAS 染色法在冷冻切片中的应用 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(3):343-344.
- [ 28 ] SASAKI T, IRIE-SASAKI J, JONES R G, et al.

- Function of PI3Kgamma in thymocyte development, T cell activation, and neutrophil migration [J]. *Science*, 2000, 287(5455): 1040-1046.
- [29] FORLI S, HUEY R, PIQUE M E, et al. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite [J]. *Nat Protoc*, 2016, 11 (5) : 905-919.
- [30] SUMBUL S, AHMAD M A, MOHD A, et al. Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview [J]. *J Pharm Bioallied Sci*, 2011, 3(3): 361-367.
- [31] DENG W, JIN L, ZHUO H, et al. Alcohol consumption and risk of stomach cancer: A meta-analysis [J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 336(3) : 2709-2797.
- [32] BUJANDA L. The effects of alcohol consumption upon the gastrointestinal tract [J]. *Am J Gastroenterol*, 2000, 95(12): 3374-3382.
- [33] MUTOH H, HIRAIISHI H, OTA S, et al. Role of oxygen radicals in ethanol-induced damage to cultured gastric mucosal cells [J]. *Am J Physiol*, 1990, 258(4 Pt 1): 603-609.
- [34] TURNER M D, NEDJAI B, HURST T, et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(11): 2563-2582.
- [35] HOU R C, WU C C, HUANG J R, et al. Oxidative toxicity in BV-2 microglia cells: sesamol neuroprotection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injury involving activation of p38 mitogen-activated protein kinase [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, doi: 10. 1196/annals. 1338. 050.
- [36] GUYTON K Z, LIU Y, GOROSPE M, et al. Activation of mitogen-activated protein kinase by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> role in cell survival following oxidant injury [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(8): 4138-4142.
- [37] SZELENYI I, BRUNE K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats [J]. *Dig Dis Sci*, 1988, 33(7): 865-871.
- [38] ALI A T, AL-SWAYEH O A, AL-RASHED R S, et al. Role of oxygen-derived free radicals on gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion [J]. *Saudi J Gastroenterol*, 1996, 2(1): 19-28.
- [39] 刘舒毓, 王秋月, 刘树民. 黄芪赤风汤对脑梗死大鼠模型的治疗作用及对脑组织 ZO-1、Claudin-5、P-gp、MRP1 蛋白表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(6): 26-33.
- [40] HOEK R M, RUULS S R, MURPHY C A, et al. Down-regulation of the macrophage lineage through interaction with OX2 (CD200) [J]. *Science*, 2000, 290 (5497): 1768-1771.
- [41] HULL J, ACKERMAN H, ISLES K, et al. Unusual haplotypic structure of IL-8, a susceptibility locus for a common respiratory virus [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 69(2): 413-419.
- [42] O'BANION M K, WINN V D, YOUNG D A. cDNA cloning and functional activity of a glucocorticoid-regulated inflammatory cyclooxygenase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992, 89(11): 4888-4892.
- [43] KOMATSU N, KAJIYA M, MORIMOTO S, et al. Cox2-mediated PGE2 production via p38/JNK-c-fos signaling inhibits cell apoptosis in 3D floating culture clumps of mesenchymal stem cell/extracellular matrix complexes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 530(2): 448-454.
- [44] TAMAZATO L M, MAGALHÃES M, REINA J, et al. EGFR signaling regulates maspin/serpinB5 phosphorylation and nuclear localization in mammary epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159856.
- [45] KAWANAKA H, TOMIKAWA M, JONES M K, et al. Portal hypertensive gastric mucosa has reduced activation of MAP kinase (ERK2) in response to alcohol injury: A key to impaired healing? [J]. *FASEB J*, 2001, 15(3): 574-576.
- [46] KAWANAKA H, TOMIKAWA M, JONES M K, et al. Defective mitogen-activated protein kinase (ERK2) signaling in gastric mucosa of portal hypertensive rats: Potential therapeutic implications [J]. *Hepatology*, 2001, 34(5): 990-999.
- [47] LIU J, HAN Q, PENG T, et al. The oncogene c-Jun impedes somatic cell reprogramming [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(7): 856-867.
- [48] SHEN J N, XU L X, SHAN L, et al. Neuroprotection of (+)-2-(1-hydroxyl-4-oxocyclohexyl) ethyl caffeate against hydrogen peroxide and lipopolysaccharide induced injury via modulating arachidonic acid network and p38 MAPK signaling [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2015, 12(9): 892-902.
- [49] 郑凯露, 唐梅, 邓海东, 等. 咖啡酸苯乙酯衍生物 PEC01 抗小鼠 G422 神经胶质瘤药效学作用及其机制 [J]. *药学报*, 2022, 57(4): 1063-1072.

[责任编辑 孙丛丛]