

基于网络药理学和分子对接技术研究凉润通便加减方改善便秘的作用机制

戴冰冰作者简介：戴冰冰（2000-），女，在读硕士研究生，研究方向：中医药防治肛肠疾病，

E-mail: 1394696278@qq.com

△通讯作者：赖象权 E-mail: 1587415141@qq.com 研究方向：中医药防治肛肠疾病

赖象权 2△

（1. 贵州中医药大学第一临床医学院 贵州贵阳 520002；2. 贵州中医药大学第一附属医院肛肠科 贵州贵阳 520001）

【摘要】目的：本研究运用网络药理学与分子对接技术，系统探究凉润通便加减方改善便秘的潜在作用机制。通过中药系统药理学数据库（traditional chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSp）筛选方剂活性成分与作用靶点，结合 GeneCards 基因卡片数据库（genecards database, GENECARDS）、药物银行数据库（drug and drug target database, DRUGBANK）及 OMIM 在线人类孟德尔遗传数据库（online mendelian inheritance in man, OMIM）获取便秘疾病靶点，取两者交集靶点；借助 STRING 与 Cytoscape 软件构建蛋白互作网络及“成分-靶点-疾病”网络，利用微生信平台完成核心靶点 GO 功能注释与 KEGG 通路富集分析，采用 AutoDockTools 进行分子对接验证。结果显示，共筛选得到 55 种关键活性成分，其中木犀草素、山柰酚、汉黄芩素、 β -谷甾醇、川陈皮素为核心药效物质；获得药物-疾病共享靶点 100 个，锁定丝氨酸蛋白激酶 1（v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1, AKT1）、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）、白细胞介素 6（interleukin 6, IL6）、肿瘤蛋白 P53（tumor protein p53, TP53）、过氧化物合酶 2（prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2）为核心靶点；GO 功能富集提示其参与氧化应激响应、细胞对化学刺激反应等生物过程，KEGG 通路富集表明其主要与脂质与动脉粥样硬化、PI3K/Akt 等信号通路相关；分子对接证实核心成分与核心靶点结合能均小于 -5.0 kcal/mol，可形成稳定结合构象。结果：凉润通便加减方可能通过多成分、多靶点、多通路协同作用，通过调控炎症反应、肠道动力、肠黏膜屏障与氧化应激等过程改善便秘，研究结果为为该方后续研究提供学理支撑。

【关键词】：便秘；凉润通便加减方；网络药理学；分子对接；信号通路；分子机制

中图分类号：R59.0

Investigating the Mechanism of Liangrun Tongbian Modified Decoction in Improving Constipation Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Techniques

（1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 520002, Guizhou, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 520001, Guizhou, China）

【Abstract】Objective: To explore the potential mechanism of Liangrun Tongbian Decoction (modified) in improving constipation using network pharmacology and molecular docking. Methods: The active components and targets of the prescription were screened from databases such as TCMSp, and the intersection targets were obtained by integrating disease-related targets; protein-protein interaction (PPI) network and “component-target-disease” network were constructed and analyzed via STRING and Cytoscape; GO functional annotation and KEGG pathway enrichment analysis of core target genes were performed using bioinformatics tools, and molecular docking verification was carried out with AutoDockTools. Results: A total of 58 key active components including luteolin were identified, and 100 common drug-disease targets were screened, with AKT1 and TNF as core targets, which were involved in multiple biological processes, cell components and molecular functions and related to pathways such as lipid and atherosclerosis; the core components could form stable binding conformations with core targets. Conclusion: Liangrun Tongbian Decoction (modified) may improve constipation through the synergistic effect of multi-component, multi-target and multi-pathway, and its in-depth pharmacological

mechanism and target synergy network still need to be further studied.

【Keywords】:Constipation; Liangrun Tongbian Modified Decoction; Network Pharmacology; Molecular Docking; Signaling Pathway; Molecular Mechanism.

功能性便秘（functional Constipation FC）是影响全球 20% 人口的常见消化系统问题，轻度表现为腹不适、大便干硬，重度则伴随腹胀腹痛、食欲减退，且易反复并与负面情绪形成恶性循环[1-2]，恢复自主排便一直是消化及肛肠外科的重难点。现有渗透性泻药、促动力药等疗法虽有疗效，但存在长期用药经济负担高、老年患者依从性差、停药复发率高等问题。中医药治疗便秘历史悠久，兼具疗效确切、安全性高、依从性好等优势，相关研究的不断深入也为临床提供了更多选择[3-4]。凉润通便加减方是贵州省名中医赖象全教授的经验方，为治疗阴虚津亏型便秘的临床有效经验方，其加减方去除芒硝、麦冬、甘草，可规避咸寒伐阳、甘寒滋腻的弊端，突出清热、润肠、行气核心功效。鉴于中药复方成分复杂，其治疗便秘的作用机制与靶点尚不明确，本研究采用网络药理学与分子对接方法探究其作用机制，旨在为便秘治疗提供数据支持和后续研究参考。

1 资料与方法

1.1 凉润通便加减方活性成分的筛选

本研究采用 TCSP 检索，以口服生物利用度（oral bioavailability, OB） $\geq 30\%$ 及类药性（drug-likeness, DL） ≥ 0.18 作为药代动力学筛选标准，对凉润通便加减方的化学组分开系统性检索，旨在筛选出具备良好药代动力学特性的潜在活性成分。

1.2 功能性便秘相关疾病靶点的获取

本研究通过 GeneCards、DrugBank 及 OMIM 等数据库，以“Functional Constipation”为核心检索关键词，对便秘相关疾病靶点进行系统检索；经剔除重复靶点后，最终筛选获得 2678 个与便秘密切相关的疾病靶点。

1.3 凉润通便加减方的活性成分靶点预测

借助中药系统药理学数据库与分析平台（TCSP），查询并解析“1.1”部分筛选获得的化合物对应的潜在作用靶点；随后通过通用蛋白质资源库（universal protein resource, UniProt）数据库对上述预测靶点进行基因符号映射，明确各靶点对应的 UniProtID，为后续靶点功能分析奠定基础。

1.4 凉润通便加减方与疾病靶点的交集及蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）网络的构建

采用 Venny 图表可视化呈现凉润通便加减方潜在活性成分对应的作用靶点与便秘疾病靶点的交集靶点（即共有靶点）；随后将上述共有靶点上传至 STRING 数据库，设定物种为人类，构建关键靶点的蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）网络。借助 Cytoscape 3.10.3 软件对 PPI 网络进行可视化分析，进一步筛选出根据度中心性（DC, degree centrality）、介数中心性（BC, betweenness centrality）、接近中心性（CC, closeness centrality）筛选出该网络的关键靶点，为后续机制解析提供关键靶点数据。

1.5 GO 功能分析和 KEGG 富集分析

将筛选得到的核心靶点数据上传至微生物信平台，对 GO 功能条目和 KEGG 通路进行富集分析后，进一步生成可视化图表，包括气泡图与条形图两种形式。解析核心靶点的生物学功能分布及信号通路特征。

1.6 分子对接验证

选取凉润通便加减方活性成分-关键靶点网络中节点度数前五的活性化合物，以及蛋白质互作网络中排名前五的核心靶点蛋白开展分子对接，验证其结合稳定性；经 PubChem 绘制化合物化学结构，通过 ChemBio3D 创建立体模型并优化结构，再以 PyMOL 转换为 PDB 格式，同时从 RCSB PDB 获取靶点蛋白晶体结构，经 AutoDock 处理后生成 PDBQT 格式文件，最终完成分子对接并选取最优结果。

2 结果

2.1 药物与疾病交集靶点筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台（TCSP）检索凉润通便加减方的中药化学成分，以口服生物利用度（OB） $\geq 30\%$ 、类药性（DL） ≥ 0.18 为药代动力学筛选标准，各中药味对应的活性成分数量如下：黄芩 24 个、枳实 15 个、龙胆 8 个、玄参 6 个、槟榔 8 个、陈皮 6 个、地黄 2 个，剔除各个重复成分后，最终筛选共获得 55 个主要活性成分。具体成分信息详见表 1。

表 1 凉润通便加减方部分有效成分

中药名称
活性成分
化合物名称
口服生物利用度 (%)
类药性
黄芩
MOL000173
汉黄芩素 wogonin
30.68
0.22

MOL001689
刺槐素 acacetin
34.91
0.24

枳实
MOL000006
木犀草素 luteolin
36.16
0.24

MOL013277
异橙黄酮 Isosinensetin
51.15
0.44

龙胆
MOL000422
山柰酚 kaempferol
41.88
0.24

MOL001558
芝麻素 sesamin
56.54
0.82

槟榔
MOL000004
原花青素 B1ProcyanidinB1
36.91
0.75

MOL010489
白藜芦醇 Resivitol
40.36
0.81

陈皮
MOL005100
白杨素 Chrysin
47.73
0.23

MOL005815
柑橘素 Citromitin
86.90
0.51
玄参

MOL002222

苏吉醇 sugiol

36.11

0.27

MOL007662

哈帕苷 harpagoside_qt

122.86

0.31

将凉润通便加减方的 55 个主要活性成分导入 UniProt 数据库进行靶点信息检索，经靶点名称校正与去重处理后，最终获得该方剂对应的 178 个非重复药物靶点。同时，通过 GeneCards、OMIM 及 DrugBank 数据库分别检索便秘相关疾病靶点，依次获得 2604 个、278 个及 42 个靶点；经合并去重后，共筛选得到 2678 个便秘相关非重复疾病靶点。进一步通过交集分析获取凉润通便加减方药物靶点与便秘疾病靶点的交集靶点 100 个，具体交集结果如图 1 所示。

图 1: 凉润通便加减方与便秘的交集靶点韦恩图

2.2 药物-成分-疾病-靶点”网络分析

借助 Cytoscape 3.10 构建凉润通便加减方“药物-成分-疾病-靶点”互作网络。拓扑分析显示，节点连接度前五的活性成分为木犀草素（38 个靶点）、山柰酚（30 个靶点）、汉黄芩素（28 个靶点）、 β -谷甾醇（23 个靶点）及川陈皮素（20 个靶点），提示这五种成分是该方改善便秘的核心药效物质基础，可通过多靶点协同发挥作用，其中木犀草素与山柰酚靶点覆盖度更高，或为介导方剂疗效的关键成分。

图 2: 成分-靶点相互作用网络图

2.3 蛋白质-蛋白质相关作用网络构建

将药物与疾病的交集靶点共 55 个导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，物种组织选择“Homo sapiens”，设置置信度 > 0.4 ，构建“大黄-茵陈-急性胰腺炎”靶点蛋白互作网络（见图 3）。并利用 Cytoscape 3.10 软件进行可视化分析，（见图 4）。根据 DC、BC、CC 筛选出该网络的关键靶点，按度中心性进行排序，其中排名前五的核心靶点为包括 AKT1、TNF、IL6、TP53、PTGS2，其可能在凉润通便加减方治疗便秘的过程中发挥重要作用。

图 3: 交集靶点蛋白互作关系图

图 4: 关键靶点蛋白质-蛋白质相关作用网络图

2.4 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

该方治疗便秘的分子机制涉及多层次生物学过程：GO 功能富集分析得到 3651 条生物过程、282 类细胞组分及 413 种分子功能条目，选取各类前 10 位核心条目整合为三合一柱状图可视化，发现其生物过程涉及氧化应激响应等，细胞组分包含质膜筏等，分子功能涵盖磷酸酶结合等；KEGG 通路富集分析获得 262 条通路，选取前 20 位绘制富集气泡图，结果显示其改善便秘可能与脂质与动脉粥样硬化、PI3K-Akt 信号通路等多条通路相关。

图 5 GO 富集条形图

图 6 KEGG 富集气泡图

2.5 分子对接

选取木犀草素、山柰酚、汉黄芩素、 β -谷甾醇、川陈皮素 5 种核心活性成分，与核心靶点包括 AKT1、TNF、IL6、TP53 及 PTGS2 这 5 种核心靶点开展分子对接实验，以结合能验证分子活性（结合能 <0 为可自发结合， $\leq -5.0\text{kcal/mol}$ 为结合较好， $\leq -7.0\text{kcal/mol}$ 为结合牢固），结果表明所有成分与靶点均实现成功对接，相关数据详见表 2，选取结合能最低的四对进行可视化分析；详见图 7。

表 2 主要活性成分与核心靶点分子对接结合能（kcal/mol）

AKT1
TNF
IL6
TP53
PTGS2
木犀草素
-8.6kcal/mol
-7.5kcal/mol
-6.8kcal/mol
-8.4kcal/mol
-9.5kcal/mol
山柰酚
-7.3kcal/mol
-7.3kcal/mol
-7.1kcal/mol
-8.2kcal/mol
9.1kcal/mol
汉黄芩素
-8.8kcal/mol
-7.8kcal/mol
-8.5kcal/mol
-8.0kcal/mol
-9.1kcal/mol
β -谷甾醇
-7.6kcal/mol
-6.8kcal/mol
6.9kcal/mol
-9.1kcal/mol
-8.1kcal/mol
川陈皮素
-6.5kcal/mol
-6.4kcal/mol
-8.5kcal/mol
-7.9kcal/mol
-8.9kcal/mol

图 7 分子对接结果图

3 讨论

在中医理论中，便秘归属“后不利”“秘结”等范畴，核心病机为热结、气滞、寒凝或气血阴阳亏虚致大肠传导失[5]。临床所见，长期便秘约70%与情志因素相关，患者常伴焦虑、抑郁等情绪障碍，形成“秘—郁—更秘”的恶性循环，女性因经孕产乳易耗阴血，围绝经期阴血不足、肝火偏旺，多见“肠热阴虚”兼“肝郁气滞”证，表现为大便干结、心烦易怒、夜眠不安[6]。现代研究亦证实，养阴疏肝类方通过调节血清5-HT水平、降低结肠COX-2表达，兼顾“脑-肠-菌群”轴，标本同调，疗效与安全性均优于单一泻剂[7]。治疗以滋阴润肠、疏肝清热为法，方选增液汤加味（玄参、麦冬、生地黄）合柴胡疏肝散化裁，可显著提高排便频率并改善伴随情绪[8]。

基于网络药理学研究，凉润通便加减方的核心药效成分为木犀草素、山柰酚、汉黄芩素、 β -谷甾醇、川陈皮素五种活性物质，其中木犀草素可阻断PI3K/Akt通路、减轻肠道炎症[9-10]，山柰酚具有良好的修复肠黏膜屏障功能[11]，汉黄芩素可逆转结肠神经胶质细胞损伤[12]， β -谷甾醇调控炎症通路以改善肠道动力[13-14]，川陈皮素调节结肠肌电与神经传递、改善慢传输型便秘症状[15-16]；基于蛋白质互作网络图谱分析，我们鉴定出凉润通便加减方在改善便秘过程中涉及AKT1、TNF、IL6、TP53、PTGS2等核心靶点。研究揭示该凉润通便加减方可能通过多靶点协同调控肠道蠕动功能，从而实现改善便秘的作用。对上述核心靶点的潜在作用机制研究发现，AKT1主要参与调节炎症反应，通过调节炎症反应和ICC细胞活性影响胃肠动力[17]。研究发现在慢传输型便秘（STC）模型中，AKT1含量会显著降低，从而引起ICCs的过度自噬或凋亡导致肠道动力下降，进而加重便秘[18]。TNF其核心功能是通过介导肠道炎症、干扰肠道神经递质信号传递影响便秘，常以TNF- α 亚型发挥作用，老年便秘小鼠结肠黏膜中TNF- α 表达升高，会导致结肠5-羟色胺转运体（SERT）表达降低，干扰5-羟色胺信号传递，最终使粪便排出量减少、粪便含水量下降[19]。IL-6作为关键促炎因子，该靶点通过破坏肠道黏膜屏障、干扰肠道运动功能诱发或加重便秘，实验证明IL-6通过诱导肠黏膜屏障功能障碍、干扰肠道动力相关信号传递等机制参与便秘发病[20]。实验发现枳实可通过影响水通道蛋白、胃肠动力相关神经递质等指标改善便秘，其作用路径可能间接调控TP53表达，以缓解肠道细胞功能紊乱，减少肠道黏膜损伤，进而恢复肠道正常传输功能有关[21]。研究发现PTGS2过度表达会加剧肠道炎症，破坏肠道菌群平衡，间接导致肠道蠕动减慢；而通过抑制PTGS2活性，可减少炎症因子释放，改善肠道黏膜损伤，同时调节肠道菌群结构，进而缓解炎症相关便秘[22]；GO功能富集分析显示该方作用于氧化应激响应等关键生物过程，KEGG通路分析表明其涉及脂质与动脉粥样硬化、钙信号通路等262条通路。核心靶点与多通路的协同作用，共同揭示了凉润通便加减方的机制可能是通过抗炎、以及肠道平滑肌功能来缓解便秘。

本研究整合网络药理学与分子对接技术，系统解析凉润通便加减方在治疗便秘的潜在作用靶点及分子机制，构建了包含化学成分-靶点基因相互作用关系的网络图谱，揭示了创伤修复过程中多层次调控网络架构。核心药效成分锁定为常春藤苷元、乌药碱、酸李碱、当药黄素和茯苓酸，关键靶点集中于AKT1、TNF、IL6、TP53、PTGS2等蛋白，关键通路涵盖脂质与动脉粥样硬化、人类巨细胞病毒感染、钙信号通路等。综上所述，揭示了凉润通便方改善便秘可是通过多成分、多靶点、多通路协同调节氧化应激响应、抑制炎症反应、改善肠道菌群等，共同缓解便秘症状。但需明确的是，网络药理学的预测结果仍需后续实验加以验证。尤其是核心靶点的互作模式、关键信号通路的动态调控时序等核心科学问题，还待通过细胞实验与动物模型开展深入的功能验证，从而为该方剂的临床推广应用筑牢理论根基。

参考文献

- [01] SHARMA, RASOCCS, KEARNISK, et al. Review article: diagnosis, management and patient perspectives of the spectrum of constipation disorders[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2021, 53 (12) : 1250-1267.
- [02] CIRILLO C, CAPSSO R. Constipation and botanical medicines: An overview [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(10): 1488-1493.
- [03] 刘燕君,常玉娟,张平,等.中医药治疗功能性便秘优势初探[J].*中国中西医结合消化杂志*,2015,23(08):589-591.
- [04] 金龙,陈容侠,徐晨晨,李海玲. 中西医治疗功能性便秘的研究进展[J]. *临床医学进展*, 2023, 13(12): 19303-19309.
- [05] 董佳容,曹振东,毛旭明.便秘古代中医文献研究[J].*山东中医药大学学报*,2012,36(03):229-231.
- [06] 基于情志因素运用中药方治疗气滞型便秘的效果研究与机制探讨[J]. *延边大学医学学报*, 2025, 48(06): 112-114.
- [07] 肖倩,黄业保,吴优,等.滋水清肝饮加减联合腹部温和灸对围绝经期慢性便秘及对患者雌激素的影响[J].*湖北中医杂志*,2022,44(01):31-33.
- [08] 陈红宇,沈洪.浅谈从肝论治慢性功能性便秘[J].*环球中医药*,2017,10(03):311-313.
- [09] SONG Y, YANG J, WANG X, CHEN J, et. al. Pharmacokinetics and metabolism of trans-emodin dianthrone in rats. *J Ethnopharmacol*, 2022 May 23;290:115123.
- [10] 肖长芳,孙飏扬,孟令昀,等.基于网络药理学和分子对接技术探讨益气开秘方治疗便秘的作用靶点及效应机制[J].*现代药物与临床*, 2022,37(06):1211-1222.
- [11] 钟玉婷,王志斌,张立超.天然小分子保护炎症性肠病中肠上皮紧密连接屏障的研究进展[J].*中国药理学通报*, 2023, 39(12): 2205-2210.
- [12] 孙梦菲,欧阳竞锋,吴春阳,等.汉黄芩素减轻 LPS 诱导 BV-2 细胞炎症并保护 SH-SY5Y 细胞的机制[J].*中国实验方剂学杂志*,2024,30(20):62-69.
- [13] 谯明,朱毅,胡君萍,等.肉苁蓉治疗炎症性肠病的作用机制预测及验证[J].*中国药房*,2024,35(21):2582-2589.
- [14] 王红,吴容,张智彬,等.中医药调控 PI3K/Akt 信号通路治疗慢传输型便秘的研究进展[J].*中医药导报*,2024,30(03):126-131.
- [15] 黄礼,韦祎,刘英莲.川陈皮素对慢传输型便秘小鼠的治疗作用及机制研究[J].*世界科学技术-中医药现代化*,2023,25(05):1736-1742.
- [16] ZHOU, QING et al. "Nobiletin, an active component of Wenyang Yiqi formula, alleviates constipation associated depression through targeting MAPT to inhibit the MAPK signaling pathway." *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology vol. 126* (2024):155-203.

- [17] 徐华伟,张虹玺.基于数据挖掘和网络药理学分析中药复方治疗便秘的用药规律及作用机制[J].*亚太传统医药*,2025,21(11):148-156.
- [18] 杨舒钧,梁红亮,滕俊,等.圣草酚对DSS诱导的大鼠溃疡性结肠炎的改善作用及机制探讨[J].*中国免疫学杂志*,2022,38(18):2188-2192.
- [19] PATEL, BHAVIK ANIL et al. The TNF- α antagonist etanercept reverses age-related decreases in colonic SERT expression and faecal output in mice. *Sci Rep*, 2017 Feb 7-15.
- [20] 刘莉,赵春华,闵寒.白细胞介素-6与肠易激综合征:机制与研究进展[J].*协和医学杂志*,2025,16(2):431-438.
- [21] 李医名,林桂梅,余远盼,等.枳实生品及麸炒品对慢传输型便秘大鼠燥性的比较研究[J].*中国中药杂志*,2023,48(20):5558-5564.
- [22] SONG, WEI et al. "Characterization of Eurotium cristatum Fermented Thinned Young Apple and Mechanisms Underlying Its Alleviating Impacts on Experimental Colitis." *Journal of agricultural and food chemistry* vol. 72,29 (2024): 16221-16236.