基于HPLC-Q-Exactive-MS及网络药理学探讨土茯苓七味散治疗溃疡性结肠炎的活性成分及作用机制

胡玉霞[1,2#], 吕晓丽[1,2#], 李　君[1,2], 张梦迪[1,2], 白图雅[1,2], 范　蕾[1,2], 周树宏[2,3], 汪　涵[1,2], 王　雪[1,2], 王跃武[1,2*]

(1. 内蒙古医科大学药学院, 内蒙古 呼和浩特 010010;　2. 内蒙古自治区新药筛选工程研究中心, 内蒙古 呼和浩特 010010;　3. 内蒙古医科大学基础医学院, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要: 基于血清移行成分、网络药理学与实验验证策略探究土茯苓七味散(Tufuling Qiwei powder, TFLQW) 治疗溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的活性成分及作用机制。利用葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 构建UC小鼠模型, 灌胃给予不同浓度的TFLQW, 采用ELISA法检测小鼠血清中的炎症因子水平, 并对小鼠结肠组织进行HE染色及病理学组织评分, 确定了TFLQW能够减轻UC小鼠的炎症表型。随后, 利用高效液相色谱−四级杆静电场轨道阱高分辨质谱 (HPLC-Q-Exactive-MS) 技术对TFLQW血清移行成分进行鉴定, 经谱库检索、质谱识别流程, 辨识获得20种血清移行成分。利用Swiss Target Prediction数据库对血清移行成分进行作用靶点预测; 在疾病数据库GeneCards、OMIM、DisGeNet中检索UC疾病靶点; 用Venny 2.1.0软件绘制韦恩图得到交集靶点113个。利用Cytoscape 3.8.0软件构建“药物−成分−靶点−疾病”网络, 使用Centiscape 2.2插件筛选核心成分, TFLQW中的巴马汀、表小檗碱、药根碱、小檗碱、漆黄素、白藜芦醇等成分可能是发挥药效的活性物质。利用String数据库分析蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI), 并筛选得到关键靶点, TFLQW通过干预STAT3、PIK3R1、SRC、PIK3CA、MAPK1和AKT1等靶点发挥治疗UC的作用。David数据库对交集靶点进行GO富集分析和KEGG通路分析, 发现TFLQW治疗UC的通路主要涉及癌症、PI3K/AKT、C型凝集素受体等信号通路。对关键靶点和核心成分进行分子对接, 发现PIK3CA与各活性成分结合较好。利用Western blot法检测小鼠结肠组织中PI3K/AKT信号通路蛋白表达情况。本研究初步确证了TFLQW改善UC的作用, 并初步鉴定了TFLQW治疗UC的潜在药效成分及其作用通路, 并完成了体内实验验证。本研究为该复方的药效物质基础及作用机制深入研究提供参考, 也为TFLQW的临床用药提供理论支撑。动物福利和实验过程获得内蒙古医科大学医学伦理委员会批准 (伦理审批号: YKD202302093)。

关键词: 土茯苓七味散; 溃疡性结肠炎; 血清移行成分; 网络药理学; PI3K/AKT

中图分类号: R917　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2025)07-2303-13

收稿日期: 2024-12-17;　修回日期: 2025-05-14.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82260733); 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2023QN08016, 2025QN08047); 内蒙古医科大学面上项目 (YKD2022MS068, YKD2025MS049, YKD2025MS034); 内蒙古医科大学大学生科技创新“英才培育”项目 (YCPY2025016, YCPY2025013); 内蒙古医科大学“创客培育”项目 (101322024045, 101322025001); 内蒙古医科大学实验室开放基金项目 (2024ZN25).

[#]共同第一作者.

*通讯作者 E-mail: wywimmu@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-1257

Exploring the active components and action mechanisms of Tufuling Qiwei powder in the treatment of ulcerative colitis based on HPLC-Q-Exactive-MS and network pharmacology

HU Yu-xia[1,2#], LÜ Xiao-li[1,2#], LI Jun[1,2], ZHANG Meng-di[1,2], BAI Tu-ya[1,2], FAN Lei[1,2], ZHOU Shu-hong[2,3], WANG Han[1,2], WANG Xue[1,2], WANG Yue-wu[1,2*]

(*1. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010010, China; 2. The Engineering Research Center for New Drug Screening of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010010, China; 3. Basic Medical College, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010010, China*)

Abstract: The objective of this study to explore the active components and action mechanisms of Tufuling Qiwei powder (TFLQW) in the treatment of ulcerative colitis (UC) based on serum migration components, network pharmacology and experimental validation. The UC mouse model was induced using dextran sulfate sodium (DSS), and TFLQW was administered at different concentrations *via* gavage. The inflammatory factors in mouse serum were detected using the ELISA, and the mouse colon tissues were evaluated with HE staining and pathological tissue scoring to confirm that TFLQW could alleviate the UC phenotype in UC mice. Subsequently, the HPLC-Q-Exactive-MS technology was used to analyze the serum migration components of TFLQW, and 20 serum migration components were identified through spectral library searching and mass spectrometry identification processes. The Swiss Target Prediction database was used to predict the target of the components, and UC targets were searched in disease databases GeneCards, OMIM, and DisGeNet. Venny 2.1.0 software was used to draw a Venn diagram to obtain 113 intersection targets. The "drug-components-targets-disease" network was constructed using Cytoscape 3.8.0 software, and the Centiscape 2.2 was used to screen for core components. Components such as palmatine, berberine, jatrorhizine, coptisine, chrysophanol, and resveratrol in TFLQW may be the active substances exerting the therapeutic effect. The String database was used to analyze protein-protein interaction (PPI) and to screen for key targets, suggesting that TFLQW exerts the therapeutic effect on UC by targeting STAT3, PIK3R1, SRC, PIK3CA, MAPK1, and AKT1, among others. The David database was used for GO enrichment analysis and KEGG pathway analysis of the intersection targets, and revealed that the pathways involved in TFLQW treatment of UC mainly include cancer, PI3K/AKT and C-type lectin receptor signaling pathways. Molecular docking was performed on key targets and core components, and PIK3CA binded well with various active components. Western blot was used to detect the protein expression of PI3K/AKT signaling pathway in mouse colon tissue. This study has confirmed the therapeutic effect of TFLQW on UC and preliminarily identified the potential active components and signaling pathways of TFLQW in treating UC. These findings provide a reference for in-depth research into the material basis and action mechanisms of the compound preparation, and also offer a theoretical basis for the clinical application of TFLQW. The animal welfare and experimental procedures were approved by the Medical Ethics Committee of Inner Mongolia Medical University (ethics approval number: YKD202302093).

Key words: Tufuling Qiwei powder; ulcerative colitis; serum migration component; network pharmacology; PI3K/AKT

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 的主要亚型之一, 是一种终身慢性复发性炎症性疾病, 目前尚无有效治疗方法[1]。UC患者常见的临床症状包括体重减轻、反复腹泻、乳糜痛、直肠出血甚至便血, 严重者可累及整个结直肠, 增加结直肠癌患病风险, UC的具体发病机制尚不清楚[2,3]。蒙医学认为UC属于“敖勒盖 (大肠) 宝如病”范畴[4]。“大肠宝如病”的形成是由奇素、巴达干、希拉、赫依、黄水等多重病因所致, 其中奇素是最重要的因素, 无奇素则不能称之为宝如病[5,6]。目前, 蒙医学治疗该病将调和三根、清除余热, 兼顾赫依, 疏通气血、祛气血热, 清热血、理气、止痛等作为治病原则[7]。

土茯苓七味散 (Tufuling Qiwei powder, TFLQW)

又名陶匹浪-7,《中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药》记载, 该方剂由土茯苓、黄莲、金银花、诃子、栀子、川楝子、瞿麦组成, 主要用于治疗奇素病[8]。诸药合用具有祛奇素、止血、清血热、解毒之功效; 因此, 土茯苓七味散的传统功效与“大肠宝如病”的治疗原则相吻合[9,10]。

现代研究表明, 方中各药材均含有治疗UC的活性成分, 其活性成分可通过改善肠道菌群、修复肠黏膜屏障功能、调节机体免疫和机体炎症介质达到治疗UC的效果[11-14]。最新研究发现, 土茯苓提取液通过调控促炎因子和抗炎因子的分泌改善葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的UC模型小鼠的结直肠炎症[15]。但是土茯苓七味散治疗UC药理作用仍有待进一步探讨; 另外, 蒙药复方化学成分多样, 药物间相互作用复杂, 进入血液的成分难以辨识, 目前尚未见土茯苓七味散治疗UC作用的研究及血中移行成分系统分析文献。因此, 本研究拟通过建立UC小鼠模型, 采用ELISA法对血清中炎症因子水平进行检测, 并对结肠组织进行HE染色评估病理损伤情况, 验证土茯苓七味散对UC的改善作用; 利用高效液相色谱–四级杆静电场轨道阱高分辨质谱 (HPLC-Q-Exactive-MS) 对土茯苓七味散血清移行成分进行鉴定, 结合网络药理学筛选土茯苓七味散血清移行成分治疗UC的关键靶点和作用通路, 并对预测的关键信号通路进行体内实验验证, 进一步明确土茯苓七味散治疗UC的药效物质基础和作用机制, 以期为土茯苓七味散治疗UC的临床用药提供理论支撑。

材料与方法

动物 SD大鼠, 12只, 雄性, 6～8周龄, SPF级; C57BL/6J小鼠, 60只, 雄性, 6～8周龄, SPF级, 均购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 动物许可证号: SCXK (京) 2024-0001。动物饲养于内蒙古医科大学新药安全评价研究中心, 饲养环境: 温度为20～26 ℃, 湿度为40%～70%, 照明控制为12 h /12 h 明暗交替。动物实验严格按照动物伦理学进行操作, 且获得内蒙古医科大学医学伦理委员会的批准 (伦理审批号: YKD202302093)。

药品与试剂 土茯苓 (批号: 19101116)、黄连 (批号: 21090101)、金银花 (批号: 19110206)、诃子 (批号: 19112304)、栀子 (批号: 19122703)、川楝子 (批号: 19091335) 和瞿麦 (批号: 20211763) 于2021年购自内蒙古北域药业有限责任公司, 上述饮片经检测, 均符合中国药典 (2020年版) 标准。没食子酸 (批号: 110831-201805)、鞣花酸 (批号: 111959-201903)、绿原酸 (批号: 110753-202018)、芦丁 (批号: 21020402)、栀子苷 (批号: 110749-201718)、川楝素 (批号: 111842-201804) 和白藜芦醇 (批号: 111533-201703) 均购自中国食品药品检定研究院; 小檗碱 (批号: DSTDY002801)、落新妇苷 (批号: DST201015-054)、齐墩果酸 (批号: DSTDQ005101) 均购自成都乐美天医药/德思特生物技术有限公司, 黄连碱 (批号: PS020422)、木犀草素 (批号: PS010346)、木犀草苷 (批号: PS013155)、大黄素 (批号: PS010625)、柯里拉京 (批号: PS011824)、薯蓣皂苷元 (批号: PS020513) 均购自成都普思生物科技有限公司; 葡聚糖硫酸钠 [批号: D2230081, 翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司]; 美沙拉秦 (mesalazine, MSLZ) (批号: 20230526, 上海爱的发制药有限公司); 小鼠白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β) ELISA试剂盒 (批号: MM-0040M1)、IL-6 ELISA试剂盒 (批号: MM-0163M1)、小鼠肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) ELISA试剂盒 (批号: MM-0132M1)、IL-10 ELISA试剂盒 (批号: MM-0176M1) 均购自江苏酶免实业有限公司; RIPA裂解液 (批号: P0014B)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物 (批号: P0013B) 均购自上海碧云天生物技术有限公司; AKT抗体 (批号: A00024)、PI3K抗体 (批号: A00318) 均购自博士德生物技术有限公司; phospho-PI3K (p-PI3K) 抗体 (批号: AF3241)、phospho-AKT (p-AKT) 抗体 (批号: AF0016) 均购自新科生物技术有限公司; BCA试剂盒 (批号: 23227)、甲醇 (批号: 210386)、乙腈 (批号: 203096)、甲酸 (批号: B119424) 均购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

仪器 HPLC-Q-Exactive型高效液相色谱–质谱联用系统 (含Ultimate 3000型色谱仪、Q-Exactive型高分辨质谱仪, 赛默飞世尔科技中国有限公司); AP135W型十万分之一电子天平 (日本岛津公司); KH-500DV型数控超声波清洗器 (昆山禾创超声有限公司); 1730R台式高速冷冻离心机 (美国Gene公司); KF-PRO-020数字病理扫描系统和数字图像分析系统 (宁波江丰生物信息技术有限公司); Enspire多模式微孔板检测系统 (美国Perkin Elmer公司); OSE-DB-01金属浴 (北京天根生化公司); BIO-RAD基础电泳仪 [伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司]; Odyssey红外激光成像系统 (美国LI-COR公司)。

分析软件与数据库 见表1。

土茯苓七味散治疗UC的药效学作用研究

土茯苓七味散提取物的制备 按照处方比例, 称取土茯苓10 g, 金银花10 g, 黄连15 g, 瞿麦15 g, 诃子8 g, 栀子8 g, 川楝子8 g, 加入8倍45%乙醇, 加热回流提取1 h、提取3次, 过滤, 合并3次滤液, 旋蒸浓缩, 回

Table 1 Databases and softwares

Name	URL
TCMSP	http://tcmspw.com/tcmsp.php
Pubchem	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
Swiss Target Prediction	http://www.swisstarget-prediction.ch/
GeneCards	http://www.genecards.org/
OMIM	http://www.omim.org
DisGeNet	https://www.disgenet.org/
Venny 2.1.0	https://liuxiaoyuyuan.cn
String	https://string-db.org/
David	https://david.ncifcrf.gov/
Metascape	https://metascape.org/
UniProt	https://www.uniprot.org
RCSB PDB	https: //www.rcsb.org/
Xcalibur 3.0	Thermo Fisher Scientific, USA
Cytoscape 3.8.0	University of California, San Diego, USA
Chem3D 20.0	Cambridgesoft, USA
AutoDockTools 1.5.6	Scripps, USA
Open Babel 3.1.1	Open Babel Consortium,USA
PyMOL 2.4.0	Schrödinger, USA
Origin 2021	Electronic Arts, USA
GraphPad Prism 8.0	GraphPad Software,USA
Image J	National Institute of Health, USA

收乙醇, 浓缩液冷冻干燥, 即得土茯苓七味散提取物冻干粉。

分组、造模及给药　C57BL/6J小鼠随机分为空白组 (Control)、模型组 (Model)、美沙拉秦组 (MSLZ)、土茯苓七味散低 (TFLQW-L)、中 (TFLQW-M) 和高 (TFLQW-H) 剂量组, 每组10只。实验开始后, 模型组与各给药组自由饮用3% DSS, 连续7 d, 每隔一天更换一次新的DSS溶液, 空白组全程给予饮用水。与此同时, 美沙拉秦组按0.30 g·kg^{-1}灌胃美沙拉秦溶液, 土茯苓七味散低、中和高剂量组分别按0.15、0.30、0.60 g·kg^{-1}灌胃土茯苓七味散提取物混悬液, 每天按照10 mL·kg^{-1}的给药体积进行给药, 连续7 d; 其余组则灌胃等体积的生理盐水。

一般情况观察及疾病活动指数评分　给药期间, 观察小鼠一般情况, 记录小鼠体重、粪便性状及便血情况, 并计算疾病活动指数 (disease activity index, DAI)[16]。

HE染色评价结肠组织病理学损伤程度　实验最后一天各组小鼠禁食不禁水12 h, 0.3%戊巴比妥钠溶液麻醉, 摘眼球取血, 解剖, 剪取结肠, 测量结肠长度; 剪取一部分结肠液氮速冻, 后置于−80 ℃冰箱保存。剩余结肠置于多聚甲醛中固定, HE染色观察结肠组织病理学变化并对结肠组织进行病理学评分[17]。

ELISA法检测血清炎症因子水平　小鼠摘取眼球取血, 室温静置30 min, 4 ℃、3 500 r·min^{-1}离心10 min, 收集上层血清。根据ELISA试剂盒说明书检测血清中TNF-α、IL-1β、IL-6和IL-10的含量。

土茯苓七味散血清移行成分的辨识

含药血清的制备与预处理　将SD大鼠随机分为空白组和给药组, 每组6只。给药组灌胃4倍等效剂量的土茯苓七味散提取物 (0.40 g·kg^{-1}), 灌胃体积10 mL·kg^{-1}, 空白组灌胃等体积生理盐水。每天给药2次, 间隔8 h, 连续给药7 d。末次给药后0.5、1.0、1.5、2.0 h大鼠眼底静脉丛采血, 室温静置30 min。全血以4 ℃、3 500 r·min^{-1}离心10 min, 取上清液, −20 ℃保存。测试前取各时间点血清样本500 μL置于同一离心管中, 加入3倍甲醇涡旋1 min, 4 ℃、12 000 r·min^{-1}离心10 min, 取上清液, 置于真空离心浓缩仪中浓缩干燥后, 加入200 μL甲醇复溶, 涡旋5 min, 4 ℃、12 000 r·min^{-1}离心10 min, 取上清液于进样瓶中, 待进样。

混合对照品溶液的制备　精密称取落新妇苷、白藜芦醇、小檗碱等上述对照品, 置于10 mL量瓶中, 加甲醇充分溶解, 定容, 备用。上机测试前, 再配制成质量浓度分别为245～420 ng·mL^{-1}的混合对照品溶液。

土茯苓七味散供试品溶液的制备　称取土茯苓七味散冻干粉1.0 g于10 mL量瓶中, 加甲醇定容后称量质量, 200 W/50 kHz超声20 min, 冷却至室温, 再次称定其质量, 以甲醇补足减少的质量, 经0.22 μm微孔滤膜滤过, 即得。

色谱条件　采用Shim-pack GIST-HP C_{18}色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 3 μm), 以乙腈 (A)−0.1%甲酸水溶液 (B) 为流动相进行梯度洗脱: 0～5 min, 10% A; 5～10 min, 10% A→30% A; 10～20 min, 30% A→70% A; 20～30 min, 70% A→90% A; 30～35 min, 90% A; 35～40 min, 10% A; 流速为1.0 mL·min^{-1}; 柱温为40 ℃; 进样量为10 μL。

质谱条件　采用电喷雾离子源 (ESI), 在ESI$^+$、ESI$^-$离子检测模式下分析。检测方式Full MS/dd-MS^2, Full MS分辨率70 000, dd-MS^{2}分辨率17 500, 扫描范围 m/z 110～1 200。正离子检测模式下的检测条件为: 喷雾电压3.80 kV, 离子传输管温度300 ℃, 辅助气温度200 ℃, 辅助气体积流量30 L·min^{-1}, 碰撞能量 (CE) 40 eV; 负离子检测模式下的检测条件为: 喷雾电压3.1 kV, 离子传输管温度400 ℃, 辅助气温度100 ℃, 辅助气体积流量30 L·min^{-1}, 碰撞能量 (CE) 30 eV。

质谱数据采集及处理　按上面检测条件对混合对照品溶液、土茯苓七味散供试品溶液、空白血清及含药血清进行上机检测, 将得到的各样品总离子流质谱数据导入Xcalibur 3.0软件进行分析, 提取化学成分峰, 计算化合物的精确相对分子质量并拟合分子式, 以实际测得相对分子质量与理论的相对分子质量偏差小于10 ppm为原则, 对土茯苓七味散固有化学成分及血清

移行成分进行初步指认, 以各成分二级质谱的裂解碎片信息、比对对照品作进一步精确辨识。

血清移行成分的网络药理学分析

土茯苓七味散血清移行成分的靶点获取　利用TCMSP和Pubchem数据库获取血清移行成分的MOL和ID, 将血清移行成分的SMILES结构导入Swiss ADME数据库筛选潜在活性化学成分, 筛选条件: 胃肠道吸收 (GI absorption) 为High, 类药性 (druglike-ness) 至少通过2个Yes。符合条件的化学成分通过Swiss Target Prediction数据库进行靶点预测, 选择probability > 0的靶点作为成分靶点。并在Uniprot数据库中检索筛选出物种为人且已验证的靶点, 作为血清移行成分作用靶点。

UC靶点的获取　在GeneCards、OMIM和DisGeNet数据库分别获取UC的相关靶点。搜索关键词“ulcerative colitis”, 并通过Uniprot予以校正, 选择物种为*Homo sapiens*。选择GeneCards数据库降序去重后relevance score > 10的靶点; 其他两个数据库默认数据库条件, 获取UC相关靶点; 取并集去重, 通过Uniprot数据库将靶点进行标准化。

蛋白互作网络 (protein-protein interaction, PPI) 构建及关键靶点筛选　将血清移行成分作用靶点及UC靶点导入Venny 2.1.0在线软件作图工具平台绘制韦恩图, 获得土茯苓七味散治疗UC的交集靶点。将交集靶点导入String数据库, 选择物种为“Homo sapiens”, 设置最低相互作用阈值 > 0. 4, 隐藏游离节点, 保存蛋白相互作用的网络关系数据。将其导入Cytoscape 3.8.0软件, 构建蛋白相互作用网络图。利用Centiscape 2.2插件进行拓扑分析, 根据Degree值选取关键靶点。

“药物–成分–靶点–疾病”网络构建及活性成分筛选　将土茯苓七味散血清移行成分和交集靶点导入Cytoscape 3.8.0软件中, 构建“药物–成分–靶点–疾病”网络图, 使用Centiscape 2.2插件对网络进行拓扑分析, 按照Degree值筛选活性成分。

GO功能富集分析、KEGG通路富集分析　将交集靶点导入David数据库中, 对交集靶点进行GO功能与KEGG通路富集分析, 并借助微生信在线生物信息分析插件对富集结果进行可视化。其中GO功能富集分析包括生物学过程 (biologyprocess, BP)、分子功能 (molecular function, MF)、细胞组成 (cellular component, CC)。将疾病、血清移行成分、交集靶点和KEGG通路富集前20条通路导入Cytoscape 3.8.0软件中构建“成分–靶点–通路–疾病”网络图。

分子对接　选择“药物–成分–靶点–疾病”网络中Degree值排名前6的化合物及特征成分作为小分子配体; 选择PPI网络中Degree值排名前6的关键靶点作为大分子受体。通过Pubchem数据库下载上述6种成分的2D结构, 将其导入Chem3D 20.0软件进行最小结合能优化保存为mol 2格式; 采用AutoDockTools 1.5.6对其进行加全氢、选为配体、设置可扭转键后保存为“PDBQT”格式。利用Uniprot和PDB数据库下载受体蛋白的3D结构, 采用PyMOL 2.4.0软件优化蛋白结构, 去掉水分子和小分子, 将蛋白结构导入AutoDockTools 1.5.6进行加氢、选为受体并保存为“PDBQT”格式。运用AutoDockTools 1.5.6软件进行分子对接, 采用PyMOL 2.4.0软件对结果进行可视化分析。

验证关键信号通路蛋白　称取100 mg冻存的小鼠结肠组织, 加入10倍量的RIPA裂解液, 通过研磨离心提取总蛋白, 并测定蛋白总量。蛋白样品经SDS-PAGE电泳分离后, 转移至PVDF膜。随后, 将抗体按照比例稀释, p-PI3K (1∶1 000)、PI3K (1∶1 000)、p-AKT (1∶1 000)、AKT (1∶1 000) 以及β-actin (1∶10 000) 抗体与膜孵育, 4 ℃过夜。第二天, 避光室温孵育二抗1 h, 洗涤后, 利用Odyssey红外激光成像系统检测蛋白条带, 使用Image J软件对蛋白条带的灰度值进行定量分析。

统计学分析　采用GraphPad Prism 8.0软件对数据进行处理, 其中符合正态分布的计量资料组间差异分析采用单因素方差分析, 不符合的则采用非参数检验, $P < 0.05$表示差异有统计学意义。

结果

1　土茯苓七味散治疗UC的药效学作用研究

1.1　对UC小鼠炎症表型的影响　实验结果显示, 与空白组相比, 模型组小鼠体重显著下降; 与模型组相比, 土茯苓七味散各给药组小鼠体重下降幅度均有所缓解, 且高剂量组作用最明显, 表明土茯苓七味散显著改善了DSS诱导的UC小鼠的体重减轻程度, 见图1A。DAI结果显示, 与空白组比较, 模型组小鼠的DAI评分明显升高, 且差异有统计学意义 ($P < 0.000\ 1$)。与模型组比较, 土茯苓七味散各给药组的DAI评分均明显降低, 且高剂量组的评分下降程度最强 ($P < 0.000\ 1$), 见图1B。

小鼠结肠HE染色结果显示, 空白组结肠组织结构完整, 隐窝和杯状细胞清晰, 未见细胞脱落和炎性细胞浸润。与空白组相比, 模型组结肠黏膜上皮隐窝大面积消失、黏膜和黏膜下层有广泛的炎症细胞浸润, 病变部位有黏膜上皮细胞脱落; 并且结肠病理组织评分显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.000\ 1$)。与模型组比较, 土茯苓七味散给药组炎症细胞浸润减少, 隐窝

结构较清晰, 且病理组织学评分明显降低, 且高剂量组的保护作用最为显著 ($P < 0.01$), 见图1C、D。

1.2 对血清炎症因子的影响 用ELISA法检测小鼠血清中的炎症因子水平, 结果如图2所示: 与空白组比较, 模型组小鼠血清中促炎因子TNF-α、IL-1β、IL-6水平明显升高 ($P < 0.000\ 1$), 抑炎因子IL-10水平明显降低 ($P < 0.000\ 1$)。与模型组比较, 土茯苓七味散各给药组血清中TNF-α、IL-1β、IL-6炎症因子水平有不同程度的降低, 高剂量组降低程度最明显, 且差异有统计学 ($P < 0.000\ 1$, $P < 0.001$, $P < 0.000\ 1$); 而IL-10水平明显升高, 且高剂量组有统计学意义 ($P < 0.001$), 表明土茯苓七味散可能通过调节UC小鼠血清中的促炎因子与抑炎因子的水平发挥抗炎作用。

2 土茯苓七味散血清移行成分的辨识

利用HPLC-Q-Exactive MS技术, 对混合对照品溶液、土茯苓七味散供试品溶液、空白血清和含药血清进行上机检测, 得到各样品在正、负离子模式下的总离子流图, 如图3所示。在土茯苓七味散中分析鉴定出260种固有化学成分, 包括有机酸类 (25.4%)、萜类 (23.1%)、黄酮类 (19.2%)、生物碱类 (16.5%)、鞣质类 (5.0%)、苯丙素类 (2.7%) 和其他类 (8.1%)。结合土茯苓七味散固有化学成分分析结果, 确定20种血清移行成分, 见表2, 其中生物碱类占45%, 其可能是土茯苓七味散潜在的活性成分, 可能与其药理作用直接相关。

3 血清移行成分的网络药理学分析

3.1 土茯苓七味散治疗UC的作用靶点筛选 土茯苓七味散20个血清移行成分共检索到作用靶点498个。通过疾病数据库检索到UC靶点899个。将血清移行成分作用靶点及UC靶点绘制韦恩图, 见图4A, 得到交集靶点113个。

3.2 蛋白互作网络构建及关键靶点筛选 将113个交集靶点导入String数据库中, 利用Cytoscape 3.8.0构建PPI网络图, 该网络包含94个节点和441条边, 最外圈为Degree值大于10的靶点, 见图4B。利用Centiscape 2.2插件进行拓扑分析, 根据Degree值选取核心靶点, 核心靶点有STAT3、SRC、PIK3R1、MAPK1等。

3.3 “药物−成分−靶点−疾病”网络构建及活性成分筛选 将土茯苓七味散20个血清移行成分和113个交集靶点导入Cytoscape 3.8.0软件中, 构建“药物−成分−靶点−疾病”网络图, 见图4C, 图中共有135个节点, 443条边。使用Centiscape 2.2插件对网络进行拓扑分析筛选活性成分, 包括巴马汀、表小檗碱、药根碱、小檗碱等。

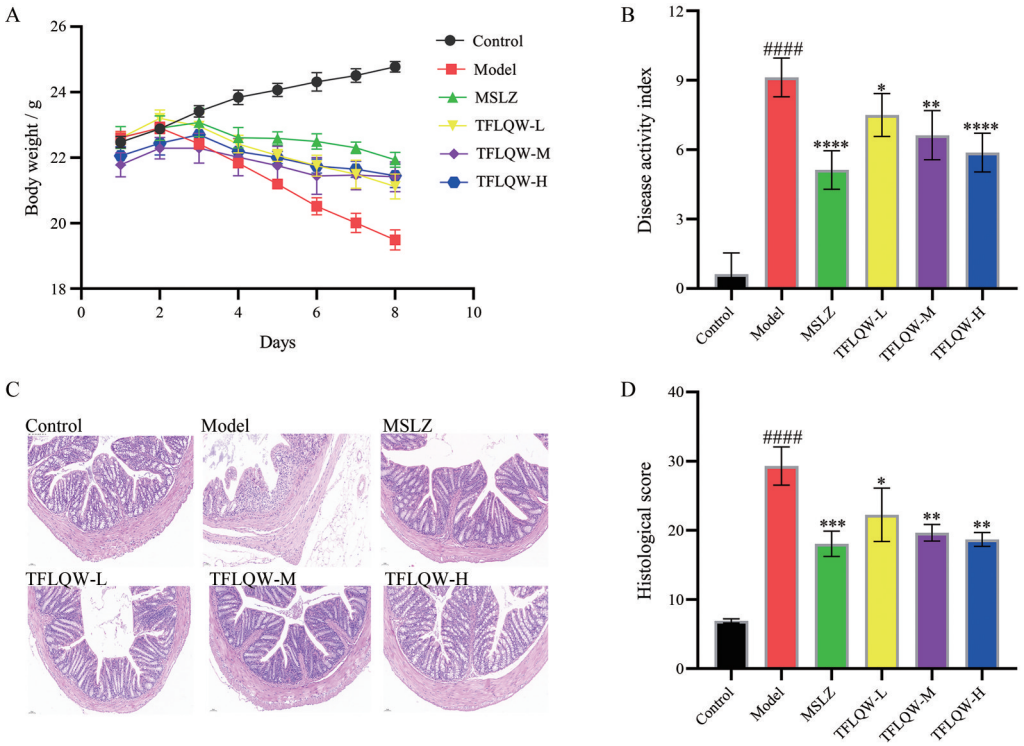


Figure 1 The effect of Tufuling Qiwei powder (TFLQW) on inflammatory phenotype in ulcerative colitis (UC) mice. A: Body weight change in various groups; B: Disease activity index (DAI) in various groups; C: Histological sections of colonic tissue stained with HE (magnification ×200); D: Histological injury score of colonic tissues. MSLZ: Mesalazine; TFLQW-L: Low-dose group of TFLQW; TFLQW-M: Medium-dose group of TFLQW; TFLQW-H: High-dose group of TFLQW. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#\#\#}P < 0.000\ 1$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$ *vs* model group

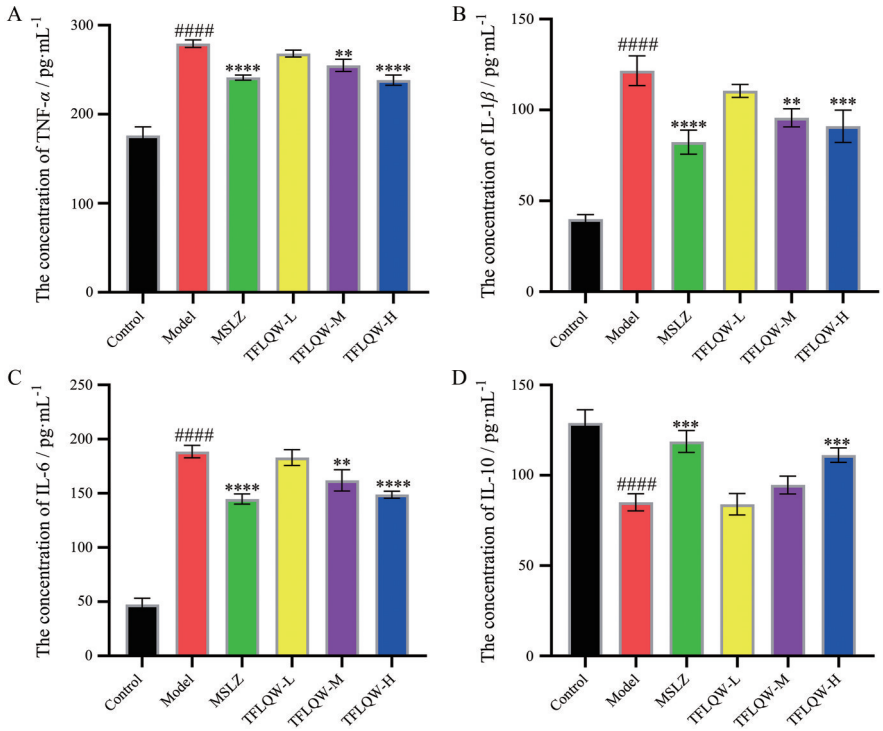


Figure 2 The impact of TFLQW on inflammatory factors in UC mice. A: Tumor necrosis factor-α (TNF-α); B: Interleukin-1β (IL-1β); C: IL-6; D: IL-10. n = 10, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#\#\#}P < 0.000\ 1$ *vs* control group; $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$ *vs* model group

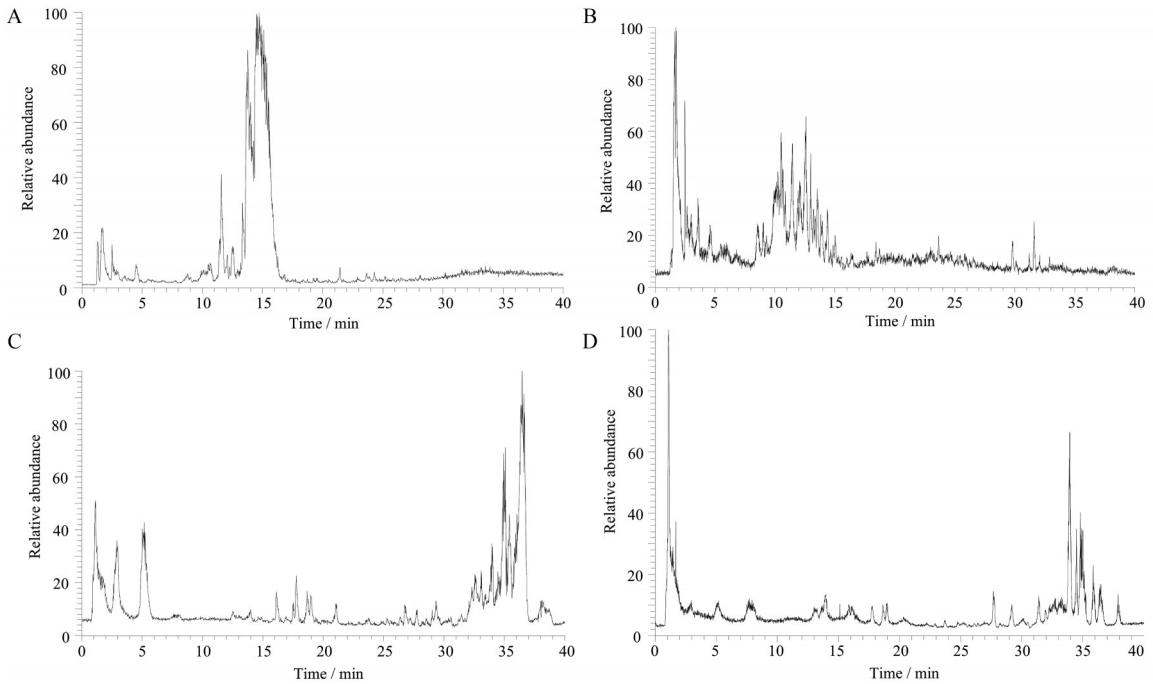


Figure 3 Total ion chromatogram of the test solution and medicated serum of TFLQW under positive and negative ion detection modes. A: Positive ion mode of TFLQW test solution; B: Negative ion mode of TFLQW test solution; C: Positive ion mode of TFLQW medicated serum; D: Negative ion mode of TFLQW medicated serum

3.4 GO功能富集分析和KEGG通路富集分析 将113个交集靶点经David数据库进行富集分析, GO富集结果显示, 共富集到554条生物过程, 主要涉及凋亡过程的负向调控、炎症反应、MAPK级联调控; 64条细胞组分表达过程, 主要涉及细胞质、细胞膜及膜筏等; 120条分子功能过程, 主要涉及酪氨酸蛋白激酶活性、

Table 2 Identification results of serum migration components in TFLQW. TFL: Rhizoma Smilacis Glabrae; HL: *Coptis chinensis*; JYH: Lonicerae Japonicae Flos; HZ: Chebulae Fructus; ZZ: *Gardenia jasminoides*; CHZ: Toosendan Fructus; QM: *Dianthus superbus* L.; A: Organic acids; B: Flavonoids; C: Alkaloids; D: Terpenoids; E: Phenylpropanoids. *Comparison with standard samples

No.	Compound	t_R /min	Formula	Ion mode	Calculated mass	Measured mass	Error /ppm	Ion fragment	Classification	Source
1	Protocatechuic acid	5.53	$C_7H_6O_4$	$[M-H]^-$	153.018 23	153.018 30	0.424	153.018 30, 109.028 22	A	JYH
2	Loganic acid	9.68	$C_{16}H_{24}O_{10}$	$[M-H]^-$	375.128 57	375.129 94	3.643	375.129 94, 195.065 77, 169.086 15, 151.015 30	D	JYH
3	Geniposidic acid	10.75	$C_{16}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	373.112 92	373.113 22	0.795	373.113 22, 193.050 09, 119.033 84	D	ZZ
4	Magnoflorine	11.69	$C_{20}H_{23}NO_4$	$[M+H]^+$	342.169 98	342.168 15	−1.835	342.168 15, 297.110 69, 265.084 53, 237.089 54	C	HL
5	Gardenoside	12.17	$C_{17}H_{24}O_{11}$	$[M-H]^-$	403.123 48	403.124 97	3.677	403.124 97, 227.092 27	D	ZZ
6	*p*-Coumaric acid	12.54	$C_9H_8O_3$	$[M+H]^+$	165.054 62	165.053 85	−4.669	165.053 85, 121.015 85, 84.959 88	A	JYH
7*	Coptisine	12.68	$C_{19}H_{13}NO_4$	$[M+H]^+$	320.091 73	320.090 09	−5.137	320.090 09, 292.095 95	C	HL
8	Oxyberberine	13.26	$C_{20}H_{17}NO_5$	$[M+H]^+$	352.117 94	352.116 15	−5.110	352.116 15, 337.092 29, 308.090 36	C	HL
9*	Berberine	13.32	$C_{20}H_{17}NO_4$	$[M+H]^+$	336.123 03	336.120 91	−6.321	336.120 91, 321.097 14, 292.094 27	C	HL
10	Rehmapicroside	13.53	$C_{16}H_{26}O_8$	$[M-H]^-$	345.154 39	345.154 33	−0.186	345.154 33, 159.223 10, 89.023 10	D	CLZ
11*	Geniosid	13.93	$C_{17}H_{24}O_{10}$	$[M+Na]^+$	411.126 16	411.124 11	−5.006	411.124 11, 249.072 33, 217.045 84	D	ZZ
12	Columbamine	14.26	$C_{20}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	338.138 68	338.136 57	−6.254	338.136 57, 323.112 55, 294.111 60	C	HL
13	Jatrorrhizine	14.34	$C_{20}H_{19}NO_4$	$[M+H]^+$	338.136 87	338.136 87	−5.366	338.136 87, 323.113 37, 294.110 61, 279.087 22	C	HL
14	Engeletin	14.46	$C_{21}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	433.112 92	433.114 14	2.809	433.114 14, 269.045 68, 178.997 47, 151.002 85	B	TFL
15	Epiberberine	14.63	$C_{20}H_{17}NO_4$	$[M+H]^+$	336.123 03	336.121 12	−5.696	336.121 12, 321.097 81, 292.095 25	C	HL
16	Palmatine	15.19	$C_{21}H_{21}NO_4$	$[M+H]^+$	352.154 33	352.152 31	−5.749	352.152 31, 337.128 66	C	HL
17*	Resveratrol	15.72	$C_{14}H_{12}O_3$	$[M+H]^+$	229.085 92	229.085 08	−3.670	229.085 08, 159.111 57, 119.048 87	E	TFL
18	Fisetin	16.64	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M+H]^+$	287.055 01	287.054 53	−0.485	287.054 53, 247.179 41, 183.028 61	B	HL
19	Groenlandicine	18.32	$C_{19}H_{15}NO_4$	$[M+H]^+$	322.107 38	322.105 87	−4.702	322.105 87, 307.081 97, 108.080 77	C	HL
20*	Hederagenin	28.92	$C_{30}H_{48}O_4$	$[M-H]^-$	471.346 88	471.347 99	2.341	471.347 99, 245.445 14	D	QM

激酶结合、RNA聚合酶II转录因子活性。KEGG通路富集分析获得土茯苓七味散治疗UC过程中主要涉及的信号通路159条, 主要包括PI3K/AKT、C型凝集素受体、癌症等信号通路, 选取*P* value排名前20的通路绘制条形图, 见图4D。

4 分子对接计算

选择核心成分巴马汀、表小檗碱、药根碱、小檗碱、漆黄素和白藜芦醇以及关键靶点STAT3、SRC、PIK3R1、PIK3CA、MAPK1、AKT1进行分子对接。一般认为结合能小于−4.25 kJ·mol^{-1}提示配体与受体有一定的结合活性, 小于−5.0 kJ·mol^{-1}有较好的结合活性, 小于−7.0 kJ·mol^{-1}有强烈的结合活性。从分子对接的结合能热图可见 (图5A), 关键靶点PIK3CA与各活性成分的结合能均小于−7 kJ·mol^{-1}, 推测PIK3CA很可能是土茯苓七味散的关键作用靶点。因此, 对PIK3CA与各活性成分进行分子对接可视化分析, 见图5B。

5 验证关键信号通路蛋白

通过KEGG通路富集和分子对接结果, 发现土茯苓七味散改善UC的作用主要与PI3K/AKT信号通路相关, 因此, 对该信号通路蛋白进行验证。Western blot结果显示 (图6), 与空白组相比, 模型组p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白表达显著上调, 且差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.000\ 1$)。与模型组相比, 土茯苓七味散低、中、高剂量组p-PI3K/PI3K的相对表达均显

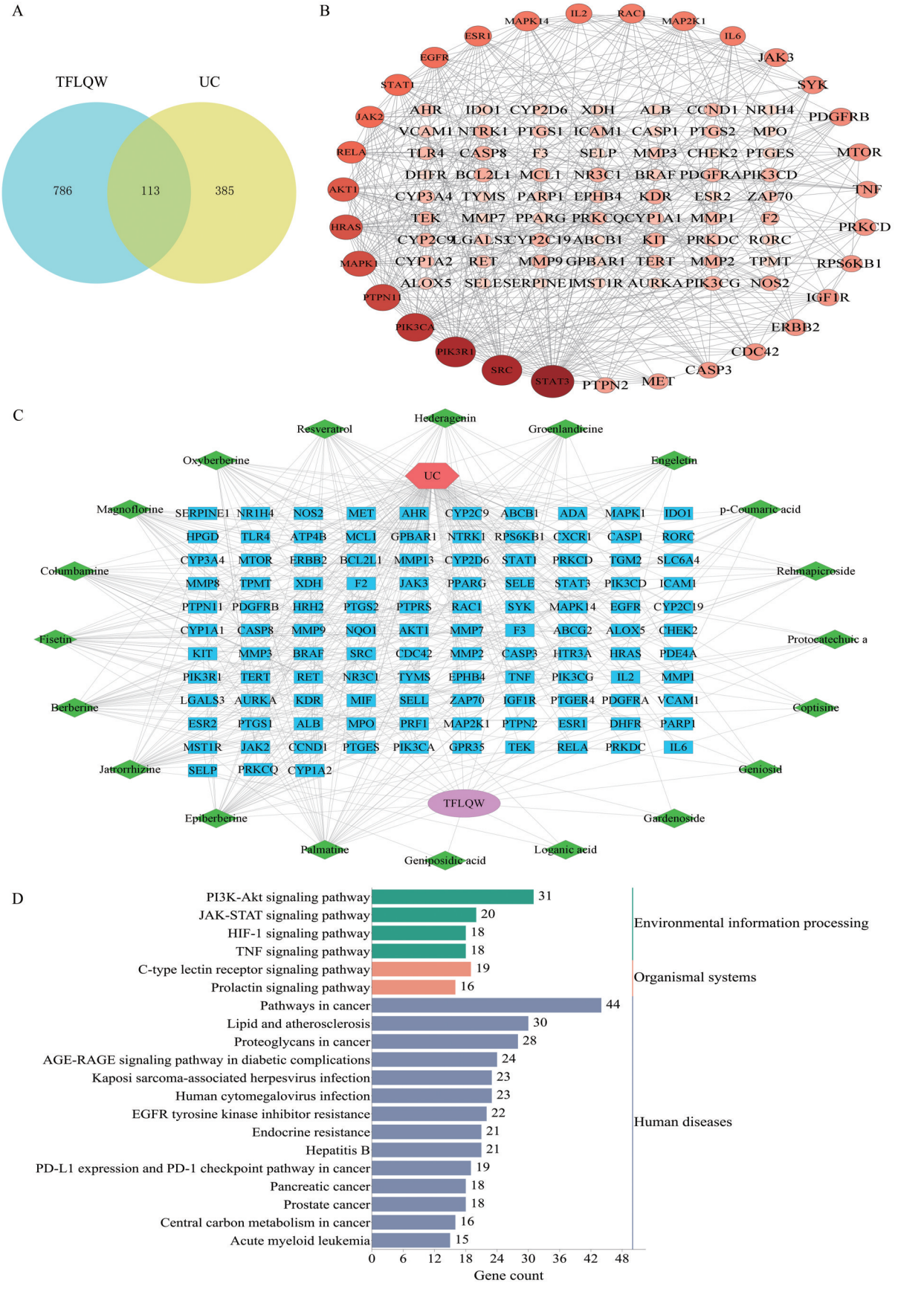


Figure 4 Network pharmacology research results of TFLQW in the treatment of ulcerative colitis. A: Veen; B Protein-protein interaction (PPI) network; C: "Drug-ingredients-targets-disease" network; D: KEGG pathway enrichment analysis

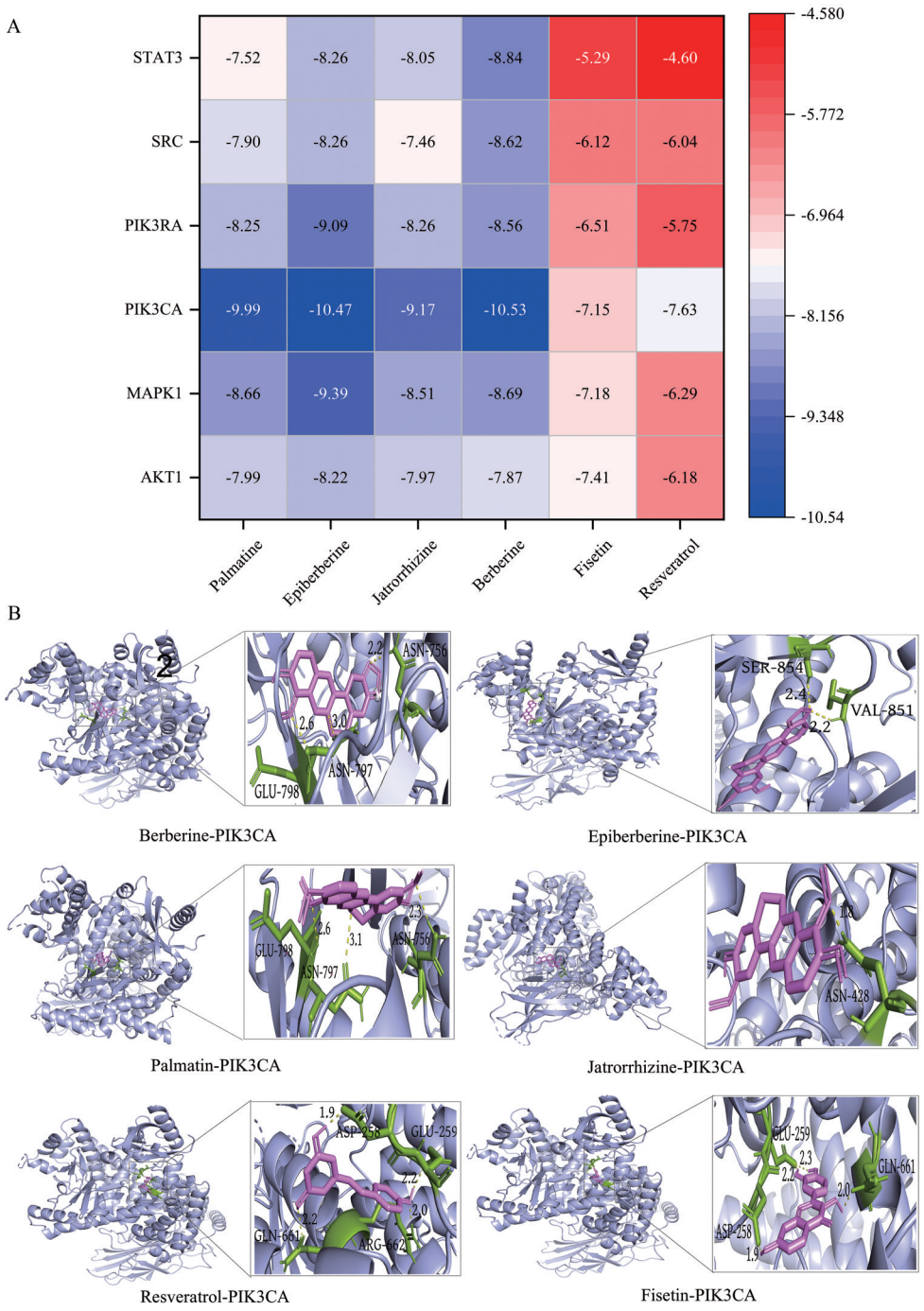


Figure 5 Molecular docking of active ingredients to key targets. A: Thermal map of binding energy of core components and key targets; B: Visualization of molecular docking between key target PIK3CA and various core components

著降低, 且差异有统计学意义($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.05$); p-AKT/AKT 的相对表达亦呈现减低趋势, 且中和高剂量组有统计学意义 ($P < 0.001$, $P < 0.01$), 说明土茯苓七味散可能通过抑制 PI3K/AKT 信号通路蛋白的表达改善 UC 小鼠的炎症表型。

讨论

UC 是一种影响直肠和结肠的终身炎症性疾病, 其具有病情反复发作、病程迁延不愈等临床特征。普遍认为 UC 的发生发展受日常饮食、生活环境、异常免疫和遗传易感等多种因素影响[18]。目前, UC 常用治疗药物主要包括柳氮磺胺吡啶、美沙拉秦、糖皮质激素及免疫抑制剂等, 然而, 这些药物在治疗过程中常伴有严重不良反应和并发症, 如自身免疫性疾病及肝毒性等[19]。因此, UC 的治疗目标主要以缓解疾病症状、减缓进程及预防并发症为主, 尚无完全治愈方法。

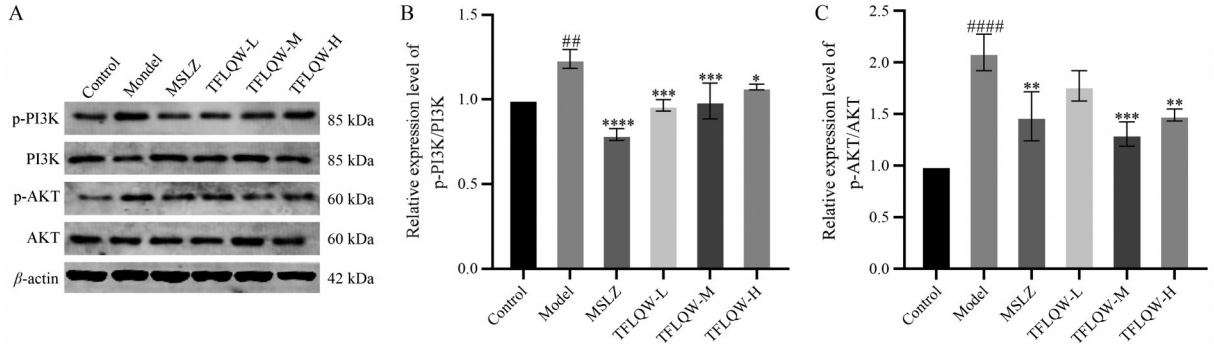


Figure 6 The effect of TFLQW on the protein expression of p-PI3K and p-AKT in colon tissues of UC mice. A: Protein band diagram; B: Statistical analysis of p-PI3K /PI3K relative expression; C: Statistical analysis of p-AKT/AKT relative expression. $^{\#\#}P< 0.01$, $^{\#\#\#\#}P < 0.000\ 1$ *vs* control group; $^{*}P< 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$ *vs* model group

目前, 大量研究表明, 蒙药因其“多成分、多靶点、多通路”的优势, 其中所含多种天然化学成分能高度靶向至病灶, 并且能通过协同作用减少炎症因子释放、抑制炎症通路、调控炎症介质、修复肠黏膜损伤等方式治疗UC[20]。土茯苓七味散作为传统的蒙医经典验方广泛应用于临床, 已有研究表明土茯苓七味散能够修复由血热引起的炎症损伤, 改善多种炎症性疾病[21]。体内实验显示, 在一定浓度范围内, 土茯苓七味散能够显著降低UC小鼠的DAI评分和血清中TNF-α、IL-1β、IL-6的水平, 改善结肠组织中炎症细胞浸润。提示土茯苓七味散对UC具有一定的治疗作用, 其中高剂量(4倍临床等效剂量) 可能为最佳治疗剂量。

Wang等[22]认为: 传统复方所含成分能够进入血液循环是其发挥功效的前提, 因此, 本研究采用HPLC-Q-Exactive-MS技术挖掘土茯苓七味散血清移行成分。为使获得的移行成分更为全面、精准, 首先对给药剂量进行了摸索, 结果表明: 当以4倍临床等效剂量给药时, 血清移行成分的数量及质谱响应强度均较优, 与药效剂量相符。同时, 由于药物进入生物体后存在吸收、分布及代谢等生理过程, 为充分获取血清移行成分信息, 课题组将0.5、1.0、1.5及2.0 h时间点血清进行混合处理, 结果共获得20个血清移行成分, 包括生物碱类、有机酸类、萜类、黄酮类和苯丙素类。以往的研究主要集中对土茯苓七味散中单一成分含量的测定, 尚未有对其药效物质组成的研究报道。本研究可为土茯苓七味散质量控制和功效关联物质的研究奠定基础。

基于血清移行成分的网络药理学分析发现, 巴马汀、表小檗碱、药根碱、小檗碱、漆黄素和白藜芦醇等可能是土茯苓七味散发挥功效的关键成分。现代研究表明, 巴马汀通过抑制色氨酸代谢和调节肠道微生物群, 如增加有益菌Akkermansia和Bacteroides, 改善小鼠结肠炎[23]; 药根碱通过抑制TLR4/MyD88/ NF-κB信号通路调节肠黏膜屏障功能来缓解DSS诱导的UC[24]; 小檗碱靶向IRGM1阻断PI3K/AKT/mTOR通路, 降低促炎因子的水平, 恢复肠黏膜机械屏障的完整性, 减轻UC小鼠的结肠损伤程度[25]; 漆黄素通过抑制IκBα磷酸化和NF-κB (p65)-DNA结合活性来抑制NF-κB (p65) 的激活, 并消减AKT和p38的磷酸化, 从而缓解DSS诱导的UC症状[26]; 白藜芦醇通过抑制PI3K/AKT/VEGFA信号通路的激活, 下调TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-6和IL-4的表达, 进而缓解DSS诱导的UC作用[27]。

蛋白互作网络分析发现, 土茯苓七味散可能通过STAT3、SRC、AKT1、MAPK1、PIK3CA等靶点发挥治疗作用。其中, STAT3为信号转导与转录激活因子家族成员之一, 是一种负责调控细胞的生长、增殖、分化及凋亡等一系列重要的生理过程的浆蛋白, 在维持稳态中必不可少, 尤其对损伤的上皮组织再生起着重要作用[28]。SRC家族激酶属于非受体蛋白酪氨酸激酶家族, SRC-3在DSS诱导的结肠炎小鼠模型中通过抑制炎症和增强KLF4表达来增强黏液层, 从而保护肠道[29]。MAPK1是一种调节细胞分裂、增殖和凋亡的细胞内信号因子, 参与炎症反应和应激反应等多种病理生理过程; 而且靶向TLR4/NF-κB/MAPK通路被广泛认为是治疗炎症性疾病的有效策略[30]。PIK3CA是mTOR通路的正调节因子, PIK3CA通路的激活可能会通过影响自噬细胞产生肠道炎症[31]。研究表明, 靶向干预PI3K、AKT、NF-κB及STAT3能够减轻UC小鼠的相关表型[32]。

KEGG通路富集结果表明, 土茯苓七味散治疗UC与PI3K/AKT、HIF-1、AGE-RAGE等信号通路密切相关。研究表明, PI3K/AKT信号通路能够通过调控mTOR、NF-κB和Nrf2等多个转录因子及相关信号的表达来参与UC的进程[33]。在土茯苓七味散的血清移行成分中, 小檗碱、漆黄素、白藜芦醇等均有抑制PI3K/

AKT信号通路活性的报道。研究发现, HIF-1通路激活后能够调节抗炎因子IL-10和促炎因子TNF-α和IL-6的产生[34], 结合本实验炎症因子结果推测UC小鼠的TNF-α、IL-1β、IL-6升高, IL-10降低可能与激活HIF-1信号通路相关。IL-6参与AGE-RAGE信号的激活, 可以使得PI3K/AKT信号通路和MAPK信号通路激活而影响炎症[35]。因此, 土茯苓七味散可能通过调节PI3K/AKT炎症通路而治疗UC, 并通过体内实验验证了这一假说, 为后续土茯苓七味散治疗UC作用机制的深入研究提供参考。

综上所述, 土茯苓七味散可减轻UC小鼠的炎症反应, 结合网络药理学、分子对接技术及HPLC-Q-Exactive-MS对土茯苓七味散的关键功效成分及作用靶点进行了预测, 巴马汀、表小檗碱、药根碱、小檗碱、漆黄素和白藜芦醇可能通过作用于PI3K、AKT等多个靶点发挥治疗UC的作用, 并从体内实验证明了土茯苓七味散能够抑制PI3K/AKT信号通路蛋白表达, 进而抑制肠道炎症及保护肠黏膜屏障功能达到治疗UC的作用。本研究确证了土茯苓七味散改善UC的作用, 并初步鉴定了其治疗UC的潜在药效成分及其作用通路, 为该复方的药效物质基础及作用机制深入研究提供参考, 也可为其临床用药提供理论支撑。

作者贡献: 胡玉霞负责实验设计、药效学实验和论文撰写及修改; 吕晓丽负责Western blot实验和论文修改; 李君负责药物成分分析; 张梦迪负责网络药理学实验; 白图雅负责分子对接; 范蕾负责理论确证和实验技术指导; 周树宏负责数据整理及分析; 汪涵和王雪负责动物饲养及辅助完成实验; 王跃武负责文章校对及经费支持。

利益冲突: 本文所有作者均声明不存在利益冲突。

References

[1] Lasa JS, Olivera PA, Danese S, et al. Efficacy and safety of biologics and small molecule drugs for patients with moderate-to-severe ulcerative colitis: a systematic review and network meta-analysis [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7: 161-170.

[2] Yu T, Wu L, Zhang T, et al. Insights into Q-markers and molecular mechanism of Sanguisorba saponins in treating ulcerative colitis based on lipid metabolism regulation [J]. Phytomedicine, 2023, 116: 154870.

[3] Zhao M, Gönczi L, Lakatos PL, et al. The burden of inflammatory bowel disease in Europe in 2020 [J]. J Crohns Colitis, 2021, 15: 1573-1587.

[4] Yi XBLZE. The Fourfold Nectar (甘露四部) [M]. Hohhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 1998: 106-109.

[5] Ce·SRZB. Mongolian Internal Medicine (蒙医内科学) [M]. Hohhot: Inner Mongolia People's Publishing House, 2011: 96.

[6] Xie MY. Clinical Curative Effect of Mongolian Medicine in Treating Ulcerative Colitis (Dachang-Baoru) (蒙医药治疗溃疡性结肠炎 (大肠宝如病) 的临床疗效观察) [D]. Tongliao: Inner Mongolia University for Nationalities, 2023.

[7] Mongolian Medicine Editorial Board. Chinese Medical Encyclopedia: Mongolian Medicine (中国医学百科全书·蒙医学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1992: 59.

[8] Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Health of the People's Republic of China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Mongolian Medicine Volume (中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册) [M]. Hohhot: Inner Mongolia Science and Technology Publishing House, 1998: 98.

[9] Wu YTN, Ba GN. Overview of research on mongolian medicine Tufuling Qiwei decoction powder [J]. J Inner Mong Univ Natly Mong Med Ed (内蒙古民族大学学报·蒙医药学版), 2019, 29: 26-33.

[10] Wu LJ, Gao JX. Common Classical Prescriptions in Mongolian Medicine (蒙医常用经典方剂) [M]. Chifeng: Inner Mongolia Science and Technology Publishing House, 2021: 115.

[11] Han S, Lin Z, Wen J, et al. Astilbin promotes the induction of regulatory $NK_{1.1}^{-}$ CD_4^+ NKG_2D^+ T cells through the PI3K, STAT3, and MAPK signaling pathways [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 81: 106143.

[12] Meng G, Li P, Du X, et al. Berberine alleviates ulcerative colitis by inhibiting inflammation through targeting IRGM1 [J]. Phytomedicine, 2024, 133: 155909.

[13] Yu X, Li X, Xu Y, et al. Resveratrol ameliorates ulcerative colitis by upregulating Nrf2/HO-1 pathway activity: integrating animal experiments and network pharmacology [J]. Mol Med Rep, 2024, 29: 77.

[14] Yu Y, Bian Y, Shi JX, et al. Geniposide promotes splenic Treg differentiation to alleviate colonic inflammation and intestinal barrier injury in ulcerative colitis mice [J]. Bioengineered, 2022, 13: 14616-14631.

[15] Jiang ZY, Shen XY, Wang ZY, et al. Protective effect of *Smilax glabra* extract on ulcerative colitis in mice [J]. Chin Tradit Herb Drugs (时珍国医国药), 2024, 35: 3356-3361.

[16] Jiang JR, Dong K, Jin YC, et al. Schisandrin A ameliorates DSS-induced acute ulcerative colitis in mice *via* regulating the FXR signaling pathway [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 1261-1270.

[17] Zhu HY, Yang FQ, Zuo QC, et al. Blood-absorbed components of Banxia Xiexin Tang and the mechanism of its therapeutic effect on spleen deficiency type ulcerative colitis based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS and network pharmacology [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2024, 36: 1610-1624.

[18] Wang A, Yang X, Lin J, et al. Si-Ni-San alleviates intestinal and liver damage in ulcerative colitis mice by regulating cholesterol

metabolism [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 336: 118715.

[19] Huang L, Hu W, Huang LQ, et al. "Two-birds-one-stone" oral nanotherapeutic designed to target intestinal integrins and regulate redox homeostasis for UC treatment [J]. Sci Adv, 2024, 10: eado7438.

[20] Wu Y, Hao S, Ba DMSR, et al. Research progress on the correlation between Mongolian medicine's Dachang-baoru disease and inflammatory bowel disease [J]. J Chin Ethn Med (中国民族医药杂志), 2023, 29: 65-67.

[21] Geng HX, Wang YJ, Yu YJ, et al. Optimization of extraction process of Tufuling Qiwei decoction by BBD-RSM [J]. China Pharm (中国药业), 2022, 31: 42-45.

[22] Wang XJ. Research trends and developmental tendencies in the field of Chinese medicinal serum pharmacochemistry [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31: 789-792, 835.

[23] Zhang XJ, Yuan ZW, Qu C, et al. Palmatine ameliorated murine colitis by suppressing tryptophan metabolism and regulating gut microbiota [J]. Pharmacol Res, 2018, 137: 34-46.

[24] Niu S, Jing M, Wen J, et al. Jatrorrhizine alleviates DSS-induced ulcerative colitis by regulating the intestinal barrier function and inhibiting TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway [J]. Evid Based Complement Altern Med, 2022, 2022: 3498310.

[25] Hou Q, Zhu S, Zhang C, et al. Berberine improves intestinal epithelial tight junctions by upregulating A20 expression in IBS-D mice [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 118: 109206.

[26] Laurindo LF, Santos AROD, Carvalho ACA, et al. Phytochemicals and regulation of NF-κB in inflammatory bowel diseases: an overview of *in vitro* and *in vivo* effects [J]. Metabolites, 2023, 13: 96.

[27] Zhu F, Zheng J, Xu F, et al. Resveratrol alleviates dextran sulfate sodium-induced acute ulcerative colitis in mice by mediating PI3K/Akt/VEGFA pathway [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 693982.

[28] Cheng XF, Zhu HTL, Liu L, et al. The role of STAT3 in inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer and research progress of the related drugs [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2022, 57: 2253-2261.

[29] Chen WB, Zhuo MH, Lu XQ, et al. SRC-3 protects intestine from DSS-induced colitis by inhibiting inflammation and promoting goblet cell differentiation through enhancement of KLF4 expression [J]. Int J Biol Sci, 2018, 14: 2051-2064.

[30] Althagafy HS, Ali FEM, Hassanein EHM, et al. Canagliflozin ameliorates ulcerative colitis *via* regulation of TLR4/MAPK/NF-κB and Nrf2/PPAR-γ/SIRT1 signaling pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 960: 176166.

[31] Huang MG, Xie S, Wang JX, et al. Role of autophagy in ulcerative colitis and Chinese medicine intervention: a review [J]. Chin J Exp Tradit Chin Formulae (中国实验方剂学杂志), 2024, 30: 281-289.

[32] Lv J, Fu Y, Ga Y, et al. Lianweng granules alleviate intestinal barrier damage *via* the IL-6/STAT3/PI3K/AKT signaling pathway with dampness-heat syndrome diarrhea [J]. Antioxidants (Basel), 2023, 13: 661.

[33] Fouad MR, Salama RM, Zaki HF, et al. Vildagliptin attenuates acetic acid-induced colitis in rats *via* targeting PI3K/Akt/NFκB, Nrf2 and CREB signaling pathways and the expression of lncRNA IFNG-AS1 and miR-146a [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 92: 107354.

[34] Li J, Dan W, Zhang C, et al. Exploration of berberine against ulcerative colitis *via* TLR4/NF-κB/HIF-1α pathway by bioinformatics and experimental validation [J]. Drug Des Devel Ther, 2024, 18: 2847-2868.

[35] Shou X, Wang Y, Zhang X, et al. Network pharmacology and molecular docking analysis on molecular mechanism of Qingzi Zhitong decoction in the treatment of ulcerative colitis [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 727608.