

基于网络药理学的黄芪建中汤治疗慢性萎缩性胃炎作用机制研究

许文倩^{1,2,3}, 秦雪梅^{1,3*}, 刘月涛^{1,3*}

1. 山西大学中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 山西大学 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: **目的** 筛选黄芪建中汤中治疗慢性萎缩性胃炎的主要活性成分, 预测活性成分的作用靶点, 建立单味药-活性成分-作用靶点网络, 进一步探讨黄芪建中汤治疗慢性萎缩性胃炎的潜在作用机制。 **方法** 采用中药系统药理学技术平台(TCMSP)中的药动学参数[口服利用度(OB)和药物相似性(DL)]筛选黄芪建中汤的潜在活性成分, 整合靶点预测网站服务器(STPD)与人类基因数据库(Genecard)、人类孟德尔遗传数据库(OMIM)预测和筛选其治疗慢性萎缩性胃炎的作用靶点, 借助Cytoscape构建“单味药-活性成分-作用靶点”网络。通过 Systems Dock Web Site 对4个主要活性成分与作用靶点进行分子对接验证。采用 String 数据库与 Cytoscape 软件绘制蛋白质相互作用网络, 并利用 DisGeNET 数据库对作用靶点类型进行归属。采用 DAVID 数据库对黄芪建中汤作用靶点进行生物功能及代谢通路分析。 **结果** 通过 OB 和 DL 参数筛选得到 118 个潜在活性成分, 共涉及 16 个作用靶点, 与疾病靶点有关的活性成分为 52 个, 主要通过调控癌症通路、病灶黏连、精氨酸和脯氨酸代谢、血管内皮生长因子(VEGF)信号转导与神经营养因子信号通路等发挥对慢性萎缩性胃炎的治疗作用。 **结论** 黄芪建中汤对慢性萎缩性胃炎的治疗作用体现了中药多成分-多靶点-多途径的特点, 为阐释其治疗慢性萎缩性胃炎的作用机制与物质基础提供了科学依据。

关键词: 黄芪建中汤; 慢性萎缩性胃炎; 口服利用度; 药物相似性; 癌症通路; 病灶黏连

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)15-3550-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.15.012

Mechanism of Huangqi Jianzhong Decoction in treating chronic atrophic gastritis based on network pharmacology

XU Wen-qian^{1,2,3}, QIN Xue-mei^{1,3}, LIU Yue-tao^{1,3}

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine of Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Key Laboratory of Effective Substances Research and Utilization in Traditional Chinese Medicine of Shanxi Province, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective To predict the active ingredients and their potential targets of Huangqi Jianzhong Decoction (HQJZ) against chronic atrophic gastritis (CAG) based on the “single drug-active ingredient-action targets” network. **Methods** Using pharmacokinetic parameters [oral bioavailability (OB) and drug likeness (DL)] of traditional Chinese medicine system pharmacology platform (TCMSP) to screen the active ingredient of HQJZ, and then integrating target prediction database (STPD), human gene database (Genecard), and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) to predict and screen its target genes for the treatment of CAG, and using Cytoscape software to construct the network of “single drug-active ingredient-action targets”. The molecular docking of those main active ingredient and action targets were confirmed through Systems Dock Web Site. String database and Cytoscape software were used to draw the protein interaction network, and DisGeNET database was used to assign their target type. Finally the biological function and metabolic pathway of these targets were analyzed by DAVID database. **Results** A total of 118 potential active ingredients were screened based on their OB and DL parameters, and 16 CAG-related genes were involved, 52 active ingredients were related to disease target, which mainly involved in the regulations of cancer pathway, focal adhesion, arginine and proline metabolism, vascular endothelial growth factor signal transduction and neurotrophic factor signaling pathway in the treatment of chronic atrophic

收稿日期: 2018-03-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31570346, 81703697); 山西省青年科技研究基金资助项目(2015021193)

作者简介: 许文倩, 在读硕士生, 主要从事中药代谢组学研究。E-mail: 18435148106@139.com

*通信作者 秦雪梅, 教授, 博士生导师, 主要从事中药质量评控及中医药代谢组学研究。E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

刘月涛, 讲师, 硕士生导师, 主要从事中医药代谢组学研究。E-mail: yuetaoliu@sxu.edu.cn

gastritis. **Conclusion** The therapeutic mechanism of HQJZ reflects the characteristics of multi-component, multi-target, and multi-pathway of traditional Chinese medicines, which provides a scientific basis for further explaining the action mechanism and the material basis of HQJZ against CAG.

Key words: Huangqi Jianzhong Decoction; chronic atrophic gastritis; oral bioavailability; drug likeness; cancer pathway; focal adhesion

黄芪建中汤 (Huangqi Jianzhong Decoction, HQJZ) 为仲景经方, 出自《金匮要略》, 由黄芪、甘草、白芍、桂枝、生姜、大枣和饴糖 7 味药组成, 具有温中补虚、缓急止痛之功效。临床及药理研究均表明, HQJZ 对脾虚引起的各种疾病均有良好的疗效^[1], 常用于消化系统的肠易激综合症、消化性溃疡、慢性胃炎等疾病^[2]。研究证实 HQJZ 可通过干预细胞的增殖与凋亡、调节破坏因子与保护因子的平衡、调节物质能量代谢水平、影响炎症因子的释放, 提高抗氧化能力等改善慢性萎缩性胃炎症状。一氧化氮合酶 (NOS)、前列腺素 E2 (PGE₂)、环氧合酶 (COX-2)、表皮生长因子受体 (EGFR) 等可能是 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的作用靶点^[3-5]。

现有研究多局限于针对某一靶点或某一基因阐释 HQJZ 的作用机制及通路, 不能反映中药多成分、多靶点、多途径的特点。随着网络药理学的提出, 单一靶标的研究逐步向整体、系统的调节研究转变^[6], 通过生物学网络节点的连接和关系分析“分子-靶点-通路-疾病”的多层次网络, 进而阐明中药复方的作用机制, 实现分子作用的综合网络分析, 最终从整体角度更加透彻地了解中药与机体的相互作用。中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP) 是基于中药系统药理学综合分析药效学、药动学、靶标预测以及网络、组学和系统的平台^[7], 能够从系统水平识别药物靶标网络和疾病网络, 揭示中药性质与作用机制, 促进中药发展与新药开发^[8-9]。本研究采用网络药理学研究思路对 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的作用机制进行全面研究, 构建“单味药-活性成分-作用靶点”网络模式, 为深入探讨其作用机制和药效物质基础提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 HQJZ 化学成分信息的收集

通过 TCMSP (<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>) 以及中药综合数据库 (TCMID, <http://www.megabionet.org/tcmid/>) 收集到 HQJZ 中 7 味药的全部化学成分, 并通过 TCMSP、PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 和 Chemical Book (<http://www.chemicalbook.com/>)、ChemSpider (<http://www.chemspider.com/>) 以及查阅文献获得这些成分的化学结构, 并保存为 Smiles 格式。

1.2 活性成分的筛选

口服利用度 (OB)^[10]和药物相似性 (DL)^[11]是药物筛选过程中的 2 个重要参数, 常被用作化合物的活性评价。利用 TCMSP 平台中的这 2 个参数对 HQJZ 的化学成分进行活性筛选, 选取同时满足 OB≥40% 和 DL≥0.20 的成分作为潜在的活性成分。

1.3 靶点的选择

Swiss Target Prediction (<http://www.swisstarget-prediction.ch/>) 可基于待测分子的化学结构与配体的相似度, 通过交叉验证和分析排列实现活性分子靶点的准确预测^[12]。将筛选得到的潜在活性分子的 Smiles 结构导入该数据库, 并限定研究物种为人类。在靶点预测中, 3D 相似性阈值设置为 0.75, 2D 相似性阈值设置为 0.45, 由此获得与活性成分最相关的靶点信息。利用人类孟德尔遗传数据库 (OMIM, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) 与 Gene Cards (<http://www.genecards.org/>) 搜索关键词胃癌 (gastric cancer) 和慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis), 查找与慢性萎缩性胃炎相关的基因, 合并 2 个数据库, 去除重复和假阳性的基因, 最后与活性成分相关的靶点相映射, 获得 HQJZ 活性成分的潜在作用靶点。

1.4 “单味药-活性成分-作用靶点”网络的构建

根据以上预测结果, 采用 Cytoscape 软件中 merge 功能构建“单味药-活性成分-作用靶点”关系网络模型, 节点 (node) 代表 HQJZ 单味药种类、潜在活性成分与潜在作用靶点; 边 (edge) 用来连接单位药与活性成分、活性成分与作用靶点, 展现单味药-活性成分-作用靶点之间的联系, 基于构建的网络探讨 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的作用机制。

1.5 蛋白质相互作用网络的构建

String 数据库 ([https://string-db.org/Version 10.5](https://string-db.org/Version%2010.5)) 用来分析已知和预测蛋白质-蛋白质相互作用的数据库^[13]。将 HQJZ 活性成分作用靶点导入 String 数据库, 限定研究物种为人类, 获得蛋白互作关系,

保存为 TSV 格式。将该文件中 node1、node2 和 Combined score 信息导入 Cytoscape 软件绘制蛋白互作网络,并得到网络分析结果。进一步设置节点大小与颜色反映 Degree 值大小,边的粗细反映 Combine score 大小,最终获得蛋白质相互作用网络。

1.6 作用靶点类型归属

DisGeNET 数据库(<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu>, Version 5.0)是包含与人类疾病相关的基因和变体最完整的数据库之一,可以通过输入基因获得与该基因相关的疾病信息^[14]。在该数据库中选择基因进行检索,依次输入 HQJZ 的作用靶点,获取作用靶点类型(protein class)。

1.7 靶点生物功能注释分析

DAVID 6.8 (<https://david.ncicrf.gov/>)是高通量的生物数据功能分析挖掘工具,旨在系统全面地为大规模基因或蛋白质列表提供生物学功能注释信息,进而挖掘生物学意义^[15]。将获得的 HQJZ 活性成分潜在作用靶点导入功能注释工具,限定研究物种为人类,选择 Gene Ontology 下的分子功能(molecular function)、生物过程(biological process)和细胞组成(cellular component)3个部分进行 GO 富集分析,选择 Pathway 分析中 KEGG Pathway,设定显著性为 $P < 0.05$,进一步寻找活性成分作用靶点显著富集的主要功能注释与体内通路,最后利用 OriginPro 9.1 绘制条形图展示富集结果。

1.8 靶点通路图绘制

利用 KEGG 数据库(<http://www.kegg.jp/>)中的 KEGG Mapper 工具,将“1.3”项下所得作用靶点对应的 Uniprot ID 导入其中,并限定研究物种为人类,获取 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的作用通路图,筛选与上述靶点有关的通路,整合得到最终的通路。

1.9 潜在活性成分-靶蛋白分子对接

为了进一步验证靶点预测结果的可靠性,对筛选所得的活性成分及其相关靶点进行分子对接验证。首先通过 PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>)找到相应靶点蛋白的 PDB ID,导入 Systems Dock Web Site (<http://systemsdock.unit.oist.jp/>),对 HQJZ 中活性成分和靶蛋白进行对接,根据对接 Score 值来判断活性成分与靶蛋白的匹配度^[16]。Score 值越大,配体与受体结合越稳定。一般 Score 值在 4.25 以上认为是有一定的结合活性,大于 5.0 的说明分子与靶点有较好的结合活性,大于 7.0 则说明分子与靶点的结合构型具有强烈的活性^[17]。

2 结果

2.1 HQJZ 活性成分的筛选

通过数据库检索及文献整理,共收集到 HQJZ 的化学成分 1 523 个,其中黄芪 146 个、甘草 396 个、桂枝 237 个、白芍 79 个、大枣 234 个、生姜 430 个、饴糖 1 个。通过 $OB \geq 40\%$ 和 $DL \geq 0.20$ 进一步筛选得到黄芪的潜在活性成分 17 个。此外,黄芪皂苷 I、II、III 和 IV 的 OB 值虽较低,但均已被证实为黄芪的活性成分,因此也被纳入潜在的活性成分。同理,甘草中的甘草酸、18 β -glycyrrhetic acid、异甘草素和甘草苷,桂枝中的桂皮醛、原儿茶酸、香豆素和桂皮酸,生姜中的 6-姜辣素,同样被认为是潜在的活性成分。最终确定复方中共 118 个潜在活性成分,其中,黄芪、甘草、桂枝、白芍、大枣、生姜和饴糖的潜在活性成分分别为 20、69、8、11、16、5 和 1 个(表 1)。

2.2 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎潜在作用靶点预测

将潜在活性成分的 Smiles 格式上传到 Swiss Target Prediction,得到所有成分的预测靶点 1 689 个。其中,黄芪的潜在作用靶点有 302 个、甘草 902 个、桂枝 114 个、白芍 130 个、大枣 159 个、生姜 74 个、饴糖 8 个。通过 Genecard 与 OMIM 搜索到与慢性萎缩性胃炎有关的基因靶点分别为 148 个与 33 个,合并去重后,与 Swiss Target Prediction 所得的作用靶点进行匹配,最终获得 16 个 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的潜在基因靶点(CYP1A2、XDH、BCL2、PPARG、EGFR、MMP2、CYP17A1、ODC1、PTGS2、NOS2、ALDH2、MMP9、MIF、AKT1、PTPN11 和 VEGFA),见表 2。

2.3 “单味药-活性成分-作用靶点”网络构建与分析

根据上述所得到的 HQJZ 中 7 种单味药材、132 个潜在活性成分与 16 个作用靶点,利用 Cytoscape 软件中 merge 功能构建“单味药-活性成分-作用靶点”网络(图 1)。结果表明, HQJZ 的 132 个潜在活性成分中,与作用靶点直接相连的成分有 52 个,为治疗慢性萎缩性胃炎的活性成分。其中槲皮素、穆坪马兜铃酰胺、dehydroglyasperins C 和 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone 4 个成分能与 3 个及以上靶点连接,可被认为是 HQJZ 的主要活性成分。其次,靶基因 EGFR 与成分连接次数为 19 次, CYP1A2 与 PTGS2 均为 9 次,表明这 3 种靶基因对 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎具有重要的意义。HQJZ 不同的活性成分可

表1 HQJZ 中潜在活性成分及其 OB 和 DL 值
Table 1 Potential active compounds in HQJZ with OB and DL parameters

| 编号 | 化学成分 | OB/% | DL | 药材归属 |
|----|--|--------|------|-------------|
| 1 | isoflavanone | 109.99 | 0.30 | 黄芪 |
| 2 | 7- <i>O</i> -methylisomucronulatol | 74.69 | 0.30 | 黄芪 |
| 3 | formononetin | 69.67 | 0.21 | 黄芪、甘草 |
| 4 | 叶酸 (FA) | 68.96 | 0.71 | 黄芪 |
| 5 | (3 <i>R</i>)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl) chroman-7-ol | 67.67 | 0.26 | 黄芪 |
| 6 | (6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i>)-9,10-dimethoxy-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -dihydro-6 <i>H</i> -benzofurano [3,2- <i>c</i>] chromen-3-ol | 64.26 | 0.42 | 黄芪 |
| 7 | mairin | 55.38 | 0.78 | 黄芪、甘草、白芍、大枣 |
| 8 | 3,9-di- <i>O</i> -methylnissolin | 53.74 | 0.48 | 黄芪 |
| 9 | 梔子醇 (jaranol) | 50.83 | 0.29 | 黄芪、甘草 |
| 10 | 异鼠李素 (isorhamnetin) | 49.60 | 0.31 | 黄芪、甘草 |
| 11 | isomucronulatol-7,2'-di- <i>O</i> -glucosiole | 49.28 | 0.62 | 黄芪 |
| 12 | 毛蕊异黄酮 (calycosin) | 47.75 | 0.24 | 黄芪、甘草 |
| 13 | 槲皮素 (quercetin) | 46.43 | 0.28 | 黄芪、甘草、大枣 |
| 14 | 槲非醇 (kaempferol) | 41.88 | 0.24 | 黄芪、甘草、白芍 |
| 15 | 5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di- <i>O</i> -glucoside | 41.72 | 0.69 | 黄芪 |
| 16 | astragaloside I _{qt} | 12.34 | 0.20 | 黄芪 |
| 17 | astragaloside II _{qt} | 11.55 | 0.25 | 黄芪 |
| 18 | astragaloside IV _{qt} | 7.07 | 0.32 | 黄芪 |
| 19 | astragaloside III _{qt} | 5.35 | 0.32 | 黄芪 |
| 20 | (+)-medicarpin | 60.46 | 0.34 | 黄芪 |
| 22 | 甘草醇 (glycyrol) | 90.78 | 0.67 | 甘草 |
| 23 | 7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin | 83.71 | 0.27 | 甘草 |
| 24 | 甘草吡喃香豆素 (licopyranocoumarin) | 80.36 | 0.65 | 甘草 |
| 25 | 新藤黄素 (shinpterocarpin) | 80.30 | 0.73 | 甘草 |
| 26 | 菜豆醇 (phaseol) | 78.77 | 0.58 | 甘草 |
| 27 | glyasperin F | 75.84 | 0.54 | 甘草 |
| 28 | inermine | 75.18 | 0.54 | 甘草 |
| 29 | vestitol | 74.66 | 0.21 | 甘草 |
| 30 | glyasperins M | 72.67 | 0.59 | 甘草 |
| 31 | 1-methoxyphaseollidin | 69.98 | 0.64 | 甘草 |
| 32 | 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone | 66.37 | 0.41 | 甘草 |
| 33 | 甘草苷 (liquiritin) | 65.69 | 0.74 | 甘草 |
| 34 | glyasperin B | 65.22 | 0.44 | 甘草 |
| 35 | glepidotin B | 64.46 | 0.34 | 甘草 |
| 36 | 甘草酮 (licoricone) | 63.58 | 0.47 | 甘草 |
| 37 | 1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2- <i>c</i>] chromenone | 62.90 | 0.53 | 甘草 |
| 38 | 光甘草轮 (glyzaglabrin) | 61.07 | 0.35 | 甘草 |
| 39 | gancaonin G | 60.44 | 0.39 | 甘草 |
| 40 | (2 <i>S</i>)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro [3,2- <i>g</i>] chromen-7-one | 60.25 | 0.63 | 甘草 |
| 41 | 3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin | 59.62 | 0.43 | 甘草 |
| 42 | 柚皮素 (naringenin) | 59.29 | 0.21 | 甘草 |
| 43 | 甘草素 (licoagrocarpin) | 58.81 | 0.58 | 甘草 |
| 44 | 8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol | 58.44 | 0.38 | 甘草 |
| 45 | 甘草异黄酮 (licoagrisoflavone) | 57.28 | 0.49 | 甘草 |
| 46 | xambioona | 54.85 | 0.87 | 甘草 |
| 47 | dehydroglyasperins C | 53.82 | 0.37 | 甘草 |
| 48 | 8-prenylated eriodictyol | 53.79 | 0.40 | 甘草 |
| 49 | 光甘草定 (glabridin) | 53.25 | 0.47 | 甘草 |
| 50 | glabranin | 52.90 | 0.31 | 甘草 |
| 51 | 甘草灵 (glycyrin) | 52.61 | 0.47 | 甘草 |

续表 1

| 编号 | 化学成分 | OB/% | DL | 药材归属 |
|-----|--|--------|------|----------|
| 52 | 光甘草酮 (glabrone) | 52.51 | 0.50 | 甘草 |
| 53 | lupiwighteone | 51.64 | 0.37 | 甘草 |
| 54 | gancaonin A | 51.08 | 0.40 | 甘草 |
| 55 | kanzonols W | 50.48 | 0.52 | 甘草 |
| 56 | gancaonin H | 50.10 | 0.78 | 甘草 |
| 57 | 芳香膜菊素 (odoratin) | 49.95 | 0.30 | 甘草 |
| 58 | licochalcone G | 49.25 | 0.32 | 甘草 |
| 59 | 美迪紫檀素 (medicarpin) | 49.22 | 0.34 | 甘草 |
| 60 | gancaonin B | 48.79 | 0.45 | 甘草 |
| 61 | semilicoisoflavone B | 48.78 | 0.55 | 甘草 |
| 62 | 1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano [3,2-c] chromenone | 48.14 | 0.43 | 甘草 |
| 63 | 3,3'-di- <i>O</i> -methylquercetin | 46.45 | 0.33 | 甘草 |
| 64 | 光甘草素 (glabrene) | 46.27 | 0.44 | 甘草 |
| 65 | (<i>E</i>)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl) prop-2-en-1-one | 46.27 | 0.31 | 甘草 |
| 66 | 3'-methoxyglabridin | 46.16 | 0.57 | 甘草 |
| 67 | glyasperin C | 45.56 | 0.40 | 甘草 |
| 68 | 异甘草黄酮醇 (isolicoflavonol) | 45.17 | 0.42 | 甘草 |
| 69 | glepidotin A | 44.72 | 0.35 | 甘草 |
| 70 | 异甘草醇 (isoglycyrol) | 44.70 | 0.84 | 甘草 |
| 71 | 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone | 44.15 | 0.41 | 甘草 |
| 72 | 3'-hydroxy-4'- <i>O</i> -methylglabridin | 43.71 | 0.57 | 甘草 |
| 73 | eurycarpin A | 43.28 | 0.37 | 甘草 |
| 74 | 7-methoxy-2-methyl isoflavone | 42.56 | 0.20 | 甘草 |
| 75 | 地衣异黄酮 (licoisoflavone) | 41.61 | 0.42 | 甘草 |
| 76 | glycyrrhiza flavonol A | 41.28 | 0.60 | 甘草 |
| 77 | 18 α -hydroxyglycyrrhetic acid | 41.16 | 0.71 | 甘草 |
| 78 | (-)-medicocarpin | 40.99 | 0.95 | 甘草 |
| 79 | licochalcone A | 40.79 | 0.29 | 甘草 |
| 80 | 18 β -glycyrrhetic acid | 22.05 | 0.74 | 甘草 |
| 81 | 异甘草苷 (isoliquiritin) | 8.61 | 0.60 | 甘草 |
| 82 | 异甘草素 (isoliquiritigenin) | 85.32 | 0.15 | 甘草 |
| 83 | 甘草酸 (glycyrrhizic acid) | 19.62 | 0.11 | 甘草 |
| 84 | 过氧麦角甾醇 (peroxyergosterol) | 44.39 | 0.82 | 桂枝 |
| 85 | (-)-taxifolin | 60.51 | 0.27 | 桂枝 |
| 86 | 紫杉叶素 (taxifolin) | 57.84 | 0.27 | 桂枝 |
| 87 | (+)-儿茶素 [(+)-catechin] | 54.83 | 0.24 | 桂枝、白芍、大枣 |
| 88 | 桂皮醛 (cinnamaldehyde) | 31.99 | 0.02 | 桂枝 |
| 89 | 原儿茶酸 (protocatechuic acid) | 25.37 | 0.04 | 桂枝 |
| 90 | 桂皮酸 (cinnamic acid) | 19.68 | 0.03 | 桂枝 |
| 91 | 香豆素 (coumarin) | 29.17 | 0.04 | 桂枝 |
| 92 | 芍药苷元酮 (paeoniflorgenone) | 87.59 | 0.37 | 白芍 |
| 93 | paeoniflorin_qt | 68.18 | 0.40 | 白芍 |
| 94 | 白芍苷 (albiflorin_qt) | 66.64 | 0.33 | 白芍 |
| 95 | 11 α ,12 α -epoxy-3 β -23-dihydroxy-30-norolean-20-en-28,12 β -olide | 64.77 | 0.38 | 白芍 |
| 96 | 芍药苷 (paeoniflorin) | 53.87 | 0.79 | 白芍 |
| 97 | 芍新苷 (lactiflorin) | 49.12 | 0.80 | 白芍 |
| 98 | (3 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>R</i> ,10 <i>S</i> ,14 <i>S</i>)-3,17-dihydroxy-4,4,8,10,14-pentamethyl-2,3,5,6,7,9-hexahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta [a] phenanthrene-15,16-dione | 43.56 | 0.53 | 白芍 |
| 99 | pyrethrin II | 48.36 | 0.35 | 白芍 |
| 100 | spiradine A | 113.52 | 0.61 | 大枣 |
| 101 | mauridine D | 89.13 | 0.45 | 大枣 |
| 102 | 穆坪马兜铃酰胺 (moupinamide) | 86.71 | 0.26 | 大枣 |
| 103 | 美洲茶酸 (ceanothic acid) | 73.52 | 0.77 | 大枣 |

续表 1

| 编号 | 化学成分 | OB/% | DL | 药材归属 |
|-----|-------------------------|-------|------|-------|
| 104 | ziziphin_qt | 66.95 | 0.62 | 大枣 |
| 105 | 原鸦片碱 (fumarine) | 59.26 | 0.83 | 大枣 |
| 106 | malkangunin | 57.71 | 0.63 | 大枣 |
| 107 | (-)-儿茶素 [(-)-catechin] | 49.68 | 0.24 | 大枣 |
| 108 | daechuine S6 | 46.48 | 0.79 | 大枣 |
| 109 | daechuine S7 | 44.82 | 0.83 | 大枣 |
| 110 | 豆甾醇 (stigmasterol) | 43.83 | 0.76 | 大枣、生姜 |
| 111 | (S)-coclaurine | 42.35 | 0.24 | 大枣 |
| 112 | jujuboside C_qt | 40.26 | 0.62 | 大枣 |
| 114 | 6-methylgingediacetate2 | 48.73 | 0.32 | 生姜 |
| 115 | 6-姜辣素 (6-gingerol) | 35.64 | 0.16 | 生姜 |
| 116 | 9-ethoxy-aristololactam | 68.00 | 0.72 | 生姜 |
| 117 | cubebin | 57.13 | 0.64 | 生姜 |
| 118 | maltose | 1.80 | 0.24 | 饴糖 |

表 2 HQJZ 潜在活性成分靶点信息

Table 2 Information of targets from potential active compounds of HQJZ

| 编号 | Uniprot ID | 靶蛋白 | 靶基因 | PDB ID | 频次 |
|----|------------|---|---------|--------|----|
| 1 | P05177 | cytochrome P450 1A2 | CYP1A2 | 2HI4 | 9 |
| 2 | P47989 | xanthine dehydrogenase/oxidase | XDH | 4YTZ | 4 |
| 3 | P10415 | apoptosis regulator Bcl-2 | BCL2 | 5JSN | 1 |
| 4 | P37231 | peroxisome proliferator-activated receptor gamma | PPARG | 4JAZ | 1 |
| 5 | P00533 | epidermal growth factor receptor | EGFR | 4LRM | 19 |
| 6 | P08253 | 72 kDa type IV collagenase | MMP2 | 3AYU | 5 |
| 7 | P05093 | steroid 17- α -hydroxylase/17,20 lyase | CYP17A1 | 3RUK | 1 |
| 8 | P11926 | ornithine decarboxylase | ODC1 | 2ON3 | 7 |
| 9 | P35354 | prostaglandin G/H synthase 2 | PTGS2 | 3MQE | 9 |
| 10 | P35228 | nitric oxide synthase, inducible | NOS2 | 3E67 | 5 |
| 11 | P05091 | aldehyde dehydrogenase, mitochondrial | ALDH2 | 5L13 | 4 |
| 12 | P14780 | matrix metalloproteinase-9 | MMP9 | 5UE3 | 2 |
| 13 | P14174 | macrophage migration inhibitory factor | MIF | 4EVG | 2 |
| 14 | P31749 | RAC- α serine/threonine-protein kinase | AKT1 | 4EKL | 2 |
| 15 | Q06124 | tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11 | PTPN11 | 5DF6 | 2 |
| 16 | P15692 | vascular endothelial growth factor A | VEGFA | 5DN2 | 1 |

以作用于相同的靶点,同一活性成分也可作用于不同的靶点,体现了其多成分、多靶点的作用特点。

2.4 活性成分-靶蛋白分子对接分析

将槲皮素、穆坪马兜铃酰胺、dehydroglyasperins C 和 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone 4 个成分与 16 个靶蛋白进行分子对接。结果发现,这 4 个成分与 16 个靶蛋白对接 Score 值均在 4.25 以上,表明具有良好的相互作用,同时也验证了预测靶点的可靠性(表 3)。

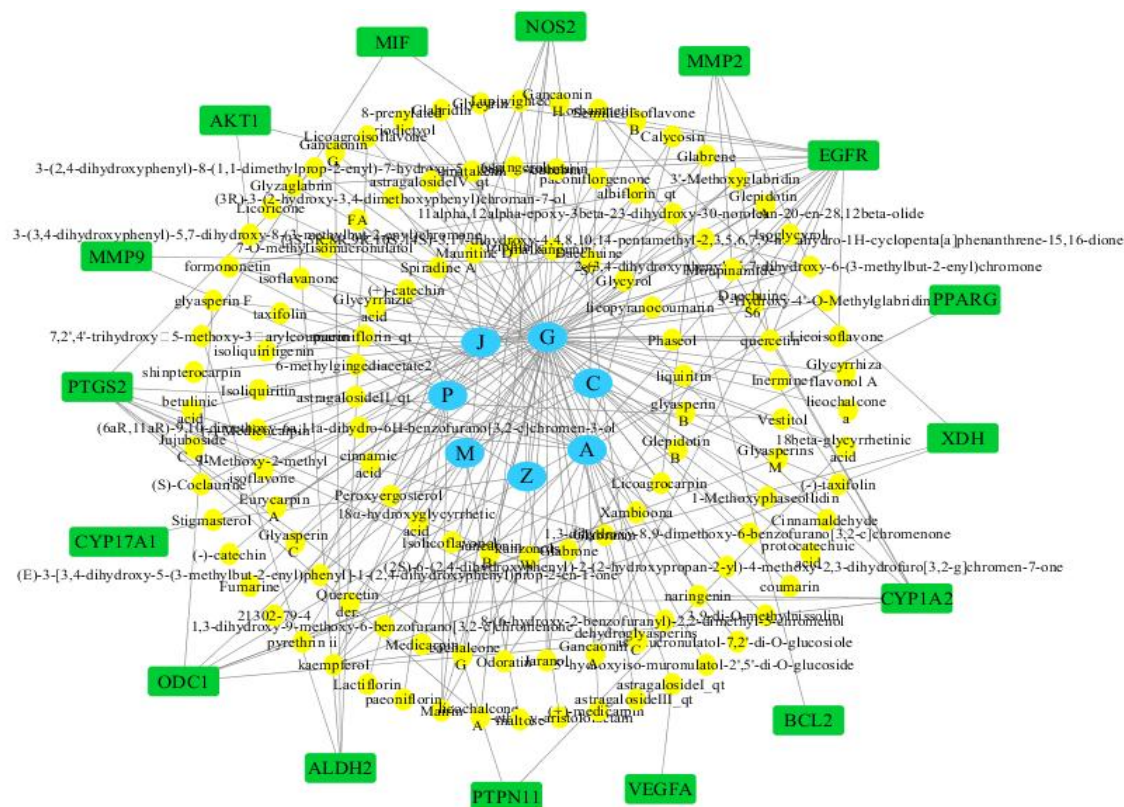
2.5 蛋白质相互作用网络分析

将上述作用靶点导入 String 数据库得到蛋白质相互作用关系,利用 Cytoscape 软件绘制蛋白关系

网络(图 2)。图中共涉及节点 15 个、边 47 个(其中 ALDH2 未在数据库中找到,该蛋白不在蛋白关系网络中体现)。节点的大小代表其 degree 值,节点越大,表示其 degree 越大。边的粗细表示 Combine score,边越粗,Combine score 值越大。其中具有较大度(degree=10)的蛋白质为 EGFR、VEGFA 与 BCL2,表明这些蛋白质在整个网络中占据重要的地位,同时这些作用靶点在 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎中具有重要的作用。

2.6 作用靶点类型归属

将 16 个作用靶点依次导入 DisGeNET 数据库,获得相应的蛋白类型(表 4)。结果表明 HQJZ 治疗



A-黄芪 C-桂枝 P-白芍 G-甘草 Z-姜 J-大枣 M-饴糖 蓝色代表单味药 黄色代表活性成分 绿色代表作用靶点
A-Astragali Radix C-Cinnamomi Ramulus P-Paeoniae Radix Alba G-Glycyrrhiza Radix Z-Zingiberis Rhizoma J-Jujubae Fructus M-maltose
blue represents herb yellow represents active ingredients green represents targets

图 1 HQJZ 单味药、活性成分与作用靶点网络

Fig. 1 Single drug-components-targets network of active ingredients of HQJZ

表 3 HQJZ 中 4 个活性化合物与靶点的分子对接得分

Table 3 Docking scores of four important active ingredients and its targets of HQJZ

| 靶点 | 分子对接得分 | | | |
|------|--------|---------|----------------------|---|
| | 槲皮素 | 穆坪马兜铃酰胺 | dehydroglyasperins C | 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone |
| 3E67 | 4.469 | 4.451 | 5.953 | 5.892 |
| 3AYU | 6.748 | 6.736 | 8.147 | 8.141 |
| 3MQE | 6.631 | 6.448 | 6.158 | 6.341 |
| 3RUK | 6.317 | 6.734 | 5.841 | 5.749 |
| 4EKL | 6.391 | 6.501 | 5.378 | 5.536 |
| 4EVG | 6.434 | 6.436 | 8.401 | 8.497 |
| 4JAZ | 6.721 | 6.730 | 5.940 | 5.847 |
| 4LRM | 4.016 | 4.971 | 6.226 | 5.944 |
| 4YTZ | 6.474 | 6.239 | 5.784 | 5.775 |
| 5DF6 | 5.916 | 5.915 | 7.026 | 7.101 |
| 5DN2 | 4.751 | 4.764 | 7.008 | 6.996 |
| 5JSN | 6.520 | 6.595 | 8.170 | 8.333 |
| 5L13 | 5.508 | 5.479 | 5.534 | 5.563 |
| 5UE3 | 6.351 | 6.310 | 5.945 | 5.754 |
| 2HI4 | 6.553 | 6.566 | 5.922 | 5.910 |
| 2ON3 | 6.707 | 6.441 | 6.029 | 5.976 |

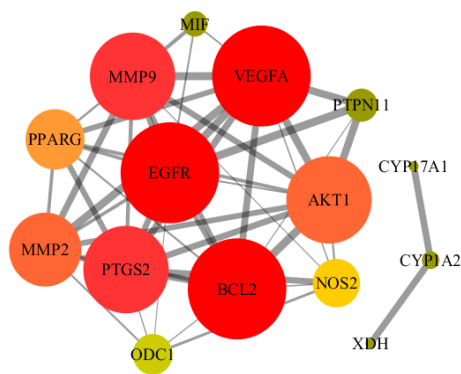


图 2 HQJZ 的蛋白质相互作用网络

Fig. 2 Protein interaction network of HQJZ

表 4 HQJZ 活性成分治疗慢性萎缩性胃炎作用靶点分类
Table 4 Protein classification of potential targets from main active ingredients of HQJZ

| 编号 | 靶点 | degree 值 | 分类 |
|----|---------|----------|--------------|
| 1 | CYP1A2 | 2 | 氧化还原酶 |
| 2 | XDH | 1 | 氧化还原酶 |
| 3 | BCL2 | 10 | 信号分子 |
| 4 | PPARG | 7 | 转录因子、受体、核酸受体 |
| 5 | EGFR | 10 | — |
| 6 | MMP2 | 8 | — |
| 7 | CYP17A1 | 1 | — |
| 8 | ODC1 | 5 | 裂解酶 |
| 9 | PTGS2 | 9 | 氧化还原酶 |
| 10 | NOS2 | 6 | — |
| 11 | ALDH2 | / | 氧化还原酶 |
| 12 | MMP9 | 9 | — |
| 13 | MIF | 3 | — |
| 14 | Akt1 | 9 | 转移酶 |
| 15 | PTPN11 | 4 | 磷酸酶、水解酶 |
| 16 | VEGFA | 10 | 信号分子 |

慢性萎缩性胃炎过程中涉及信号分子、转录因子、酶（氧化还原酶、磷酸酶、水解酶、转移酶）等物质。

2.7 靶点生物功能分析

图 3 为靶点的生物学过程富集分析，结果显示 16 个潜在的作用靶点生物功能主要为细胞过程（10 个靶点）、铁离子结合（8 个靶点）、免疫反应（6 个靶点）、氧水平调节（5 个靶点）等，表明 HQJZ 可通过调节多个生物过程治疗慢性萎缩性胃炎。基于 KEGG 代谢通路分析结果（图 4）显示，16 个靶点主要与各种癌症通路（9 个靶点）、病灶黏连（4 个靶点）、精氨酸和脯氨酸代谢（3 个靶点）、VEGF 信号转导通路（3 个靶点）与神经营养因子信号通路（3 个靶点）等有关，表明 HQJZ 的活性成分靶点分布于不同的通路，可通过各通路协调发挥作用。

2.8 靶点通路分析

如图 5 所示，图中箭头表示促进作用，T-箭头表示抑制作用。4 种颜色代表不同的通路，其中蓝色代表病灶黏连，绿色代表癌症通路，橙色代表 VEGF 信号转导通路，灰色代表神经营养因子信号通路。通路靶点用蓝色背景表示，HQJZ 作用靶点用绿色背景表示。图中涉及 9 个 HQJZ 作用靶点，这些作用靶点通过调节机体中多个环节与通路发挥治疗作用。

3 讨论

HQJZ 治疗“虚劳里急，诸不足”，对脾虚引起的慢性萎缩性胃炎治疗效果颇佳，然其作用机制尚不明确。网络药理学与中医药整体观的思想基本一致，有助于系统全面阐释其治疗慢性萎缩性胃炎的作用机制。

本研究通过 OB 和 DL 值筛选得到 HQJZ 中 132 个潜在的活性成分，且部分成分的有效性已被证实。

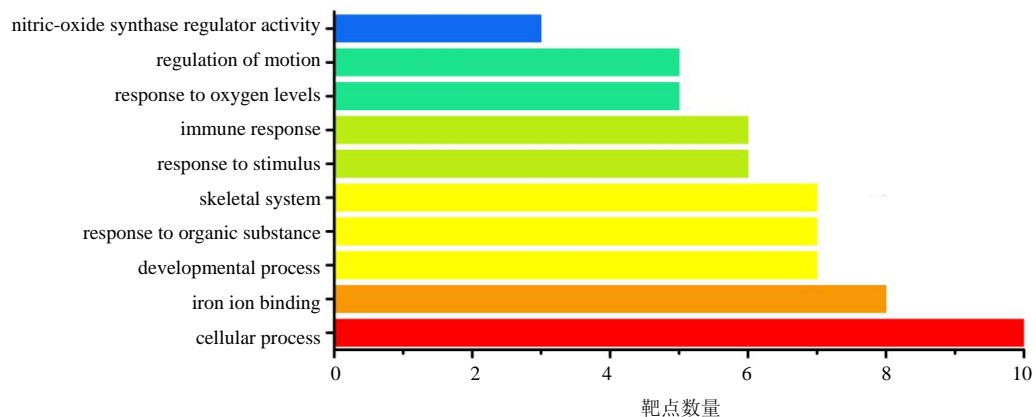


图 3 HQJZ 活性成分治疗慢性萎缩性胃炎潜在靶点的 GO 生物学过程富集分析

Fig. 3 Enriched gene ontology terms for GO biological processes from main active ingredients of HQJZ

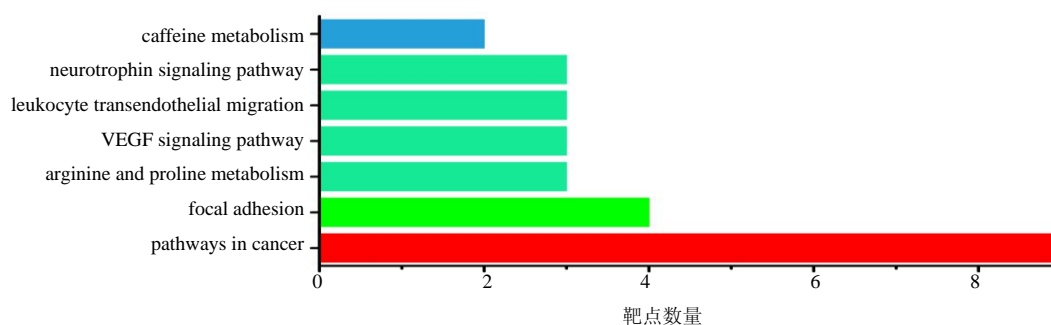


图 4 HQJZ 活性成分治疗慢性萎缩性胃炎潜在靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

Fig. 4 Enriched KEGG pathways of potential targets from main active ingredients of HQJZ

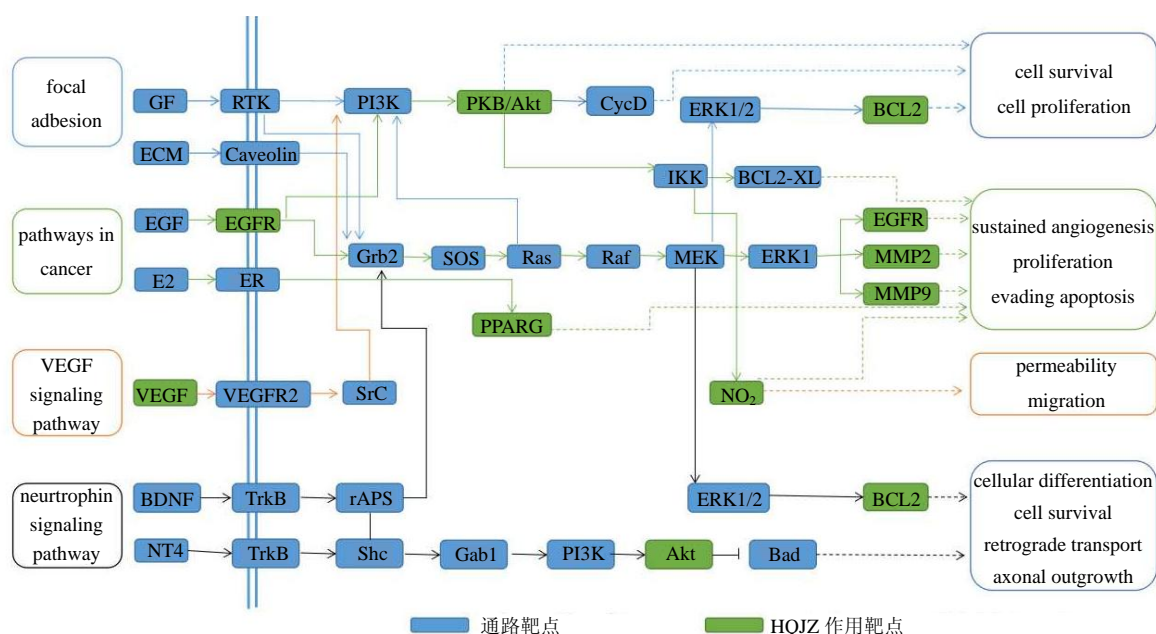


图 5 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的作用靶点通路分析图

Fig. 5 Pathways analysis of potential targets from main active ingredients of HQJZ

黄芪中主要成分黄芪甲苷可减轻甲基硝基亚硝基胍 (MNNG) 诱导的胃癌大鼠癌前病变, 改善大鼠胃黏膜异型增生^[18]; 毛蕊异黄酮可以抑制 Akt 信号通路, 增强化疗药物对胃癌细胞的作用及敏感性^[19]。甘草中 licochalcone A 可显著清除幽门螺杆菌感染, 降低由幽门螺旋杆菌感染导致的诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 表达的增加, 改善血管生成活性, 防止胃癌的发生^[20]。白芍中芍药苷可以通过抑制核转录因子- κ B (NF- κ B) 通路进而治疗胃癌^[21]。桂枝中主要含有桂皮酸、桂皮醛等成分, 可缓和胃肠刺激, 兴奋胃液分泌而健胃^[22]。生姜中含有较多姜辣素, 其中 6-姜辣素含量较高且稳定^[23], 可通过阻滞细胞于 G₂/M 期、诱导细胞凋亡、增强胃癌细胞的放射敏感性发挥抗肿瘤活性^[24]。大枣与饴糖可补中益气、健脾和胃^[25]。

另外, 单味药-活性成分-作用靶点网络显示, 槲皮素、穆坪马兜铃酰胺、dehydroglyasperins C 和 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) chromone 4 个成分与疾病靶点连接频率较高, 暗示其可能为 HQJZ 发挥治疗慢性萎缩性胃炎的主要活性成分。通过分子对接实验, 验证了预测结果的可靠性, 为进一步研究 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的药效物质基础提供了新线索。

本研究中, 采用活性成分与已知配体的相似度预测潜在活性靶点, 综合 OMIM、GeneCards 数据库中与慢性萎缩性胃炎有关的疾病靶点, 最终获得 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的 16 个靶点。这些作用靶点中, HQJZ 可通过降低基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 的表达水平, 修复胃黏膜损伤^[26]; 通过改善一氧化氮合酶 (NOS) 表达量重建胃黏膜防护

因子,进而保护胃黏膜^[3];通过抑制 MMP2 的表达,提高胃癌患者的生存率^[27]。本实验中预测的靶点与文献报道的 HQJZ 药理作用相一致,说明了预测靶点的可靠性。

单味药-活性成分-作用靶点网络显示了 HQJZ 多成分、多靶点治疗慢性萎缩性胃炎的特点。蛋白相互作用网络表明 HQJZ 的靶蛋白之间存在着相互关系,是一个复杂交错的网络,并非单独发挥作用。HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的作用靶点主要由信号分子、转录因子、多种酶等物质参与。因此,这些作用靶点共同作用、互相调节可能是 HQJZ 增强治疗作用的机制。

靶点生物学过程分析结果可知, HQJZ 的作用靶点主要涉及细胞过程的增殖与凋亡、与铁离子结合并参与免疫反应、调节氧水平等生物过程发挥治疗作用。这些生物过程与组织的保护作用有关,可从多个水平参与病理组织的恢复过程,与文献报道相吻合^[5,28-29]。因此, HQJZ 可以通过调节多个靶点、参与多种生物学过程治疗慢性萎缩性胃炎。

基于 KEGG 代谢通路的分析结果显示, HQJZ 靶基因的代谢通路主要涉及癌症通路、病灶黏连、精氨酸和脯氨酸代谢、VEGF 信号转导、神经营养因子信号通路等。慢性萎缩性胃炎为胃癌癌前病变^[30],控制细胞的增殖与凋亡对防止细胞发生癌变具有重要作用。本研究中 56.3%的作用靶点与癌症通路相关,其中, EGFR 属于受体酪氨酸激酶,与细胞增殖、凋亡基因的转录有密切关系^[31],有实验证明 HQJZ 可逆转脾虚型慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜 EGFR 及其受体基因 mRNA 的异常表达^[32]。HQJZ 可以影响癌症通路进而影响胃癌细胞的增殖与凋亡,该通路对胃癌的作用已被相关文献报道^[33]。

VEGF 可以通过刺激血管内皮细胞增殖和血管通透性增加,促进肿瘤血管的形成,在慢性萎缩性胃炎和胃癌的发生发展中起重要作用^[34-35]。已有文献报道, HQJZ 亦可调节胃黏膜损伤模型大鼠 VEGF 蛋白的表达,修复胃黏膜损伤^[36]。推测 HQJZ 可通过影响 VEGF 信号通路进而影响内皮细胞的迁移与修复。

对病灶黏连通路中基因的靶向治疗可显著的抑制胃癌细胞的生长与增殖^[37]。图 5 显示,受体酪氨酸激酶 (RTK) 与 Caveolin 在病灶黏连通路中发挥了重要的作用,可影响胃癌细胞的侵袭转移与增殖过程,且病灶黏连与癌症信号通路中涉及的丝裂原

活化蛋白激酶 (MEK) 与磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 等蛋白均有关系,提示这些靶点在 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎中发挥着重要的作用。

神经营养因子 (NTF) 是一类由神经支配的组织或星形胶质细胞产生蛋白质分子,在慢性萎缩性胃炎的发病中发挥了重要的作用,其中脑源性神经营养因子 (BDNF) 的研究较多^[38]。通路分析显示 HQJZ 可通过影响神经营养因子 [BDNF 与神经营养因子 4 (NT4)] 受体发挥治疗作用。

有研究表明精氨酸和脯氨酸代谢参与了氧化应激、胃肠道菌群调控等多个生化反应,与慢性萎缩性胃炎的发病机制密切相关^[39-40]。本课题组前期工作证实慢性萎缩性胃炎大鼠的血浆中与精氨酸和脯氨酸代谢有关的精氨酸、脯氨酸和瓜氨酸含量均减少,经 HQJZ 治疗后,瓜氨酸含量显著升高^[41],证明 HQJZ 可通过调节精氨酸和脯氨酸代谢通路治疗慢性萎缩性胃炎。

本研究通过网络药理学分析 HQJZ 治疗慢性萎缩性胃炎的作用机制, HQJZ 通过调控相应的癌症通路、病灶黏连、精氨酸和脯氨酸代谢、VEGF 信号转导与神经营养因子信号通路等发挥治疗作用。本研究相关通路的分析与文献报道基本一致,表明预测的潜在活性成分与靶点具有一定的可靠性。因此, HQJZ 中 52 个活性成分通过调控 16 个靶点、参与 5 条主要通路,共同作用治疗慢性萎缩性胃炎,体现了 HQJZ 多成分、多靶点、多途径治疗的特点,采用网络药理学的方法也体现了中医药的整体观与系统性,为中医药治疗多因素导致的复杂疾病提供了新的途径。

参考文献

- [1] 蒋朱秀, 黄芪建中汤临床及实验研究进展 [J]. 浙江中医杂志, 2005, 40(1): 41-43.
- [2] 李云梅, 张秀, 伍文斌. 黄芪建中汤对消化系统临床应用的研究进展 [J]. 江西中医药, 2015, 46(7): 78-80.
- [3] 刘旺根, 蒋时红, 王雪萍. 黄芪建中汤对脾虚型慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜防护因子复健作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(4): 6-8.
- [4] 刘旺根, 蒋时红. 黄芪建中汤干预脾虚型慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜表皮生长因子含量、诱导型一氧化氮合成酶和表皮生长因子受体基因的表达 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(43): 123-125.
- [5] 刘月涛, 胡英还, 秦雪梅. 黄芪建中汤治疗大鼠慢性萎缩性胃炎的代谢组学研究 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2312-2319.

- [6] 李泮霖, 苏薇薇. 网络药理学在中药研究中的最新应用进展 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2938-2942.
- [7] 汝锦龙. 中药系统药理学数据库和分析平台的构建和应用 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2015.
- [8] Ru J, Li P, Wang J, *et al.* TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, doi: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [9] Yang Y F, Yan L, Wang J H, *et al.* Systematic investigation of *Ginkgo biloba* leaves for treating cardio-cerebrovascular diseases in an animal model [J]. *ACS Chem Biol*, 2017, 12(5): 1-21.
- [10] Tian S, Li Y, Wang J, *et al.* ADME evaluation in drug discovery. 9. Prediction of oral bioavailability in humans based on molecular properties and structural fingerprints [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(3): 841-851.
- [11] Tian S, Wang J, Li Y Y, *et al.* Drug-likeness analysis of traditional Chinese medicines: Prediction of drug-likeness using machine learning approaches [J]. *Mol Pharm*, 2012, 9(10): 2875-2886.
- [12] Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, *et al.* SwissTarget Prediction: A web server for target prediction of bioactive small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, doi: 10.1093/nar/gku293.
- [13] Von M C, Jensen L J, Snel B, *et al.* STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(1): 433-437.
- [14] Piñero J, Bravo À, Queraltrosinach N, *et al.* DisGeNET: A comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(1): 833-839.
- [15] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4(1): 44-57.
- [16] Kun-Yi H, Yukiko M, Yoshiyuki A, *et al.* SystemsDock: A web server for network pharmacology-based prediction and analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(1): 507-513.
- [17] 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.
- [18] Zhang C, Cai T, Zeng X, *et al.* Astragaloside IV reverses MNNG-induced precancerous lesions of gastric carcinoma in rats: Regulation on glycolysis through miRNA-34a/LDHA pathway [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(7): 1-9.
- [19] Zhou L, Wu Y, Guo Y, *et al.* Calycosin enhances some chemotherapeutic drugs inhibition of Akt signaling pathway in gastric cells [J]. *Cancer Invest*, 2017, 35(5): 289-300.
- [20] Park J, Park S, Hong K, *et al.* Special licorice extracts containing lowered glycyrrhizin and enhanced licochalcone a prevented helicobacter pylori-initiated, salt diet-promoted gastric tumorigenesis [J]. *Helicobacter*, 2014, 19(3): 221-236.
- [21] 葛永斌, 程孝中, 燕傲蕾, 等. 芍药苷抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中药材, 2015, 38(3): 636-639.
- [22] 许源, 宿树兰, 王团结, 等. 桂枝的化学成分与药理活性研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(4): 674-678.
- [23] 赵文竹, 张瑞雪, 于志鹏, 等. 生姜的化学成分及生物活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(11): 383-389.
- [24] Luo Y, Chen X, Luo L, *et al.* 6-Gingerol enhances the radiosensitivity of gastric cancer via G2/M phase arrest and apoptosis induction [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(5): 2252-2260.
- [25] 许文倩, 胡英还, 秦雪梅, 等. 黄芪建中汤临床应用及实验研究进展 [J]. 山西中医学院学报, 2018, 19(1): 66-71.
- [26] 徐升, 汤丽芬, 杨帆. 黄芪建中汤对胃黏膜损伤模型大鼠 MMP-9、TIMP-2 表达的影响 [J]. 安徽中医药大学学报, 2010, 29(5): 50-52.
- [27] Łukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Guzińska-Ustymowicz K, *et al.* Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and their tissue inhibitor 2 (TIMP-2) in gastric cancer patients [J]. *Adv Med Sci*, 2013, 58(2): 235-243.
- [28] Arkkila P E, Seppala K, Farkkila M A, *et al.* Helicobacter pylori eradication in the healing of atrophic gastritis: A oneyear prospective study [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2006, 41(7): 782-790.
- [29] 蔡泳锋, 连大卫, 苏锐, 等. 氧化应激与幽门螺旋杆菌感染相关性胃炎 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(27): 5397-5400.
- [30] Jayavelu N D, Bar N S. Metabolomic studies of human gastric cancer: Review [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(25): 8092-8101.
- [31] Weng X, Zhang H, Ye J, *et al.* Hypermethylated epidermal growth factor receptor (EGFR) promoter is associated with gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep10154.
- [32] 陈四清, 蒋时红, 王琦. 黄芪建中汤对慢性萎缩性胃炎大鼠表皮生长因子及其受体基因 mRNA 表达的影响 [J]. 陕西中医, 2007, 28(3): 502-503.
- [33] Zhang J Z, Wei W, Xin X, *et al.* Methylation-induced silencing of SPG20 facilitates gastric cancer cell

- proliferation by activating the EGFR/MAPK pathway [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2018, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.04.089.
- [34] 杨 力, 侯建章, 侯振江. 血管内皮生长因子及其受体在胃癌研究中的进展 [J]. 中国医学装备, 2014, 11(4): 68-70.
- [35] Lee S H, Jeong D, Han Y S, *et al*. Pivotal role of vascular endothelial growth factor pathway in tumor angiogenesis [J]. *Ann Surg Treat Res*, 2015, 89(1): 1-8.
- [36] 汤丽芬, 徐 升, 许祖建. 黄芪建中汤对胃黏膜损伤模型大鼠 VEGF 表达的影响 [J]. 中国中医药科技, 2011, 18(2): 100-101.
- [37] Cheng Z, Liu F, Zhang H, *et al*. miR-135a inhibits tumor metastasis and angiogenesis by targeting FAK pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 31153-31168.
- [38] Xu A J, Fu L N, Wu H X, *et al*. MicroRNA-744 inhibits tumor cell proliferation and invasion of gastric cancer via targeting brain-derived neurotrophic factor [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 5055-5061.
- [39] Gurbuz A T, Kunzelman J, Ratzer E E. Supplemental dietary arginine accelerates intestinal mucosal regeneration and enhances bacterial clearance following radiation enteritis in rats [J]. *J Surg Res*, 1998, 74(2): 149-154.
- [40] Alsan C I, Atasoy B M, Cilaker S, *et al*. A diet containing beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, L-glutamine and L-arginine ameliorates chemoradiation-induced gastrointestinal injury in rats [J]. *Radiat Res*, 2015, 184(4): 411-421.
- [41] Liu Y T, Cui J J, Hu Y H, *et al*. Integrating untargeted metabonomics, partial least square regression analysis and MetPA to explore the targeted pathways involved into Huangqi Jiangzhong Tang against chronic atrophic gastritis rats [J]. *Chemometr Intell Lab*, 2017, doi: 10.1016/j.chemolab.2017.03.005.