

基于网络药理学探讨溪黄草黄酮类成分对酒精性肝病的作用机制

钟景斌¹, 刘文彬², 王晖^{1*}

¹广东药科大学中药学院; ²广东药科大学生命科学与生物制药学院 广东省生物活性药物研究重点实验室,广州 510006

摘要: 基于网络药理学探讨溪黄草黄酮类成分对酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)的作用机制。通过文献、PubChem、TCMSP、PharmMapper 数据库收集成分及预测靶点,利用 UniProt 数据库规范靶点。再运用 GeneCards 数据库获取 ALD 疾病靶点,并经 Venny2.1.0 获得交集靶点。蛋白相互作用的 PPI 网络由 STRING 数据库构建,接着通过 DAVID 数据库对交集靶点进行 GO 功能与 KEGG 通路富集分析。溪黄草黄酮类成分-靶点-通路的作用网络由 Cytoscape3.7.0 构建,最后对核心靶点进行分子对接验证。本文共收集溪黄草中 12 种黄酮类成分,这些成分涉及 172 个与 ALD 相关的靶点,筛选 24 个核心靶点。GO 富集显示 52 条生物过程、24 条细胞成分、16 条分子功能,主要涉及转录调控、细胞凋亡调节、血管内皮生长因子、NF-κB 调节、脂质稳态、DNA 损伤凋亡等生物过程;KEGG 富集 27 条通路,主要涉及 PI3K/Akt 信号、FoxO 信号、P53 信号等关键通路;分子对接显示 HSP90AA1、VEGFA、CCND1 核心靶点与活性成分有良好的结合效应。综上,本文揭示溪黄草黄酮类成分作用于多靶点,参与多通路的调控发挥治疗 ALD 的作用机制,为进一步验证溪黄草黄酮类成分治疗 ALD 的相关靶点及通路提供依据。

关键词: 网络药理学; 分子对接; 溪黄草黄酮; 酒精性肝病; 作用机制

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)4-0667-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.4.017

Study on the mechanism of flavonoids from Isodonis Lophanthoidis Herba on alcoholic liver disease based on network pharmacology

ZHONG Jing-bin¹, LIU Wen-bin², WANG Hui^{1*}

¹School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University;

²School of Life Sciences and Biopharmaceutics, Guangdong Pharmaceutical University &

Guangdong Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Bioactive Substances, Guangzhou 510006, China

Abstract: To explore the mechanism of flavonoids of Isodonis Lophanthoidis Herba on alcoholic liver disease (ALD) based on network pharmacology. Ingredients were collected by literature, PubChem and TCMSP databases, and PharmMapper platform was used to predict targets of components, after that UniProt database was used to standardize targets names. Then the disease targets of ALD was obtained by GeneCards, and the intersection targets were obtained by Venny2.1.0. The protein interactions network was constructed by the STRING, then GO and KEGG pathway for intersection targets were analyzed through DAVID. The interactions network of flavonoids of Isodonis Lophanthoidis Herba-target-pathway was constructed by Cytoscape3.7.0, eventually molecular docking was used to verify core targets. In this paper, 12 flavonoids from Isodonis Lophanthoidis Herba were collected, which involved 172 ALD-related targets and 24 core targets were screened. GO enrichment showed 52 biological processes, 24 cellular components and 16 molecular functions, which mainly involved transcriptional regulation, apoptosis regulation, vascular endothelial growth factor, NF-κB regulation, lipid homeostasis, DNA damage and apoptosis and other biological processes. KEGG enriched 27 pathways, mainly involving key pathways such as PI3K/Akt signal, FoxO signal, p53 signal and so on. Molecular docking revealed that the core targets of HSP90AA1, VEGFA and CCND1 had good bind-

ing effect with active components. In summary, this paper indicates that flavonoids of Isodonis Lophanthoidis Herba act on multiple targets, participate in the regulation of multiple pathways to exert the mechanism of treating ALD, which provides a basis for further verifying the related targets and pathways of flavonoids of Isodonis Lophanthoidis Herba in the treatment of ALD.

Key words: network pharmacology; molecular docking; flavonoids of Isodonis Lophanthoidis Herba; ALD; mechanism

ALD 是指长期饮酒诱发肝脏出现损伤性的疾病,其以酒精性脂肪肝为表现,可转化为酒精性肝炎、肝纤维化,进一步可恶化为肝硬化,甚至演变为晚期的肝细胞癌等系列疾病^[1]。逐年增加的酒精消费量与我国慢性肝病中 ALD 的发病率呈正比关系,而大多数患者对 ALD 认识不够,忽略 ALD 的危害性,其并发症和死亡率较高,亟需成为公众关注的健康问题之一。现有研究表明,酒精介导的肝损伤、肝脏脂肪变性、氧化应激、肠道菌群介导免疫炎症、细胞自噬等方面参与 ALD 发病机制^[2],但其发病机制复杂,尚未完全阐述清楚。目前暂无确切治疗 ALD 的方法及药物,因此,寻找、开发治疗 ALD 药物成为研究的焦点,而中药在降低 ALD 的肝功能异常指标与改善患者临床症状中具有广阔治疗前景。

溪黄草为唇形科香茶菜属植物线纹香茶菜 *Isodon lophanthoides* (Buch.-Ham. ex D. Don) H. Hara 干燥地上部分,其变种狭基线纹香茶菜、纤花线纹香茶菜或同属植物溪黄草亦作为溪黄草的来源。溪黄草有清热利湿、退黄、凉血散瘀功效,治疗湿热黄疸、泻痢、急性黄疸型肝炎、急性胆囊炎等疾病。其成分复杂,二萜类、三萜类、黄酮类等成分是其发挥抗肿瘤、保肝、利胆、抗氧化、抗菌抗炎、清除自由基等药理作用的物质基础^[3]。目前,溪黄草的研究主要集中在其水提物对肝损伤、肝纤维化、肝癌等作用研究^[4,5],而对其药效成分、分子靶点等相关方面有待深入研究。近年来,黄酮类成分在防治酒精性肝损伤中取得一定进展,溪黄草黄酮能通过增强抗氧化应激能力对酒精导致急性肝损伤有预防保护作用,显著减轻肝脏病理损伤,降低脂质过氧化指标^[6],但缺乏溪黄草黄酮对 ALD 的分子靶点、通路调控机制的深入研究,为此,本文借助网络药理学与分子对接技术探讨溪黄草黄酮类成分治疗 ALD 的作用机理,为其临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 溪黄草黄酮类成分获取

通过 CNKI 数据库、PubMed 数据库以溪黄草或线纹香茶菜为关键词进行检索,通过文献查对、收集

来源于线纹香茶菜植物的溪黄草黄酮类成分,再利用 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取每个化合物的分子式、CAS 号、下载 2D 结构的 SDF 文件;进而通过 TCMSP 数据库 (<http://tcmsp.w.com/tcmsp.php>) 检索成分名称、查对化学结构式,获取溪黄草黄酮类成分的口服利用度 (oral bioavailability, OB)、类药性 (drug-like, DL) 信息,建立溪黄草黄酮类化合物信息数据库。

1.2 溪黄草黄酮类成分靶点反向预测与筛选

将“1.1”项下得到的每个成分的 SDF 格式文件导入到 PharmMapper 数据库 (<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 获得溪黄草黄酮类成分潜在的靶点。将获得的靶点对应的 PDB ID 号通过 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/uploadlists/>) 中的 Retrieve/ID mapping 的转化功能,限定物种为人,排除非人源的靶点,经上述数据库转化操作,获得校正后的基因名称。

1.3 溪黄草黄酮类成分与 ALD 的交集靶点获取

在 Genecard 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 中以“alcoholic liver disease”为关键词进行检索,获取 ALD 疾病的相关靶点。在该数据库中,Score 值越高表示该靶点与疾病相关程度越高。然后,通过 Venny2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 将“1.2”项下获得的溪黄草黄酮类成分预测靶点经去重后与 ALD 疾病靶点取交集靶点。

1.4 构建靶点的 PPI 网络

将“1.3”项的交集靶点导入 STRING 数据库中“multiple proteins”选项中,在“organism”处选择物种来源为人,交互作用大于 0.4 的靶点,并隐藏游离的节点,运行后即可得到溪黄草黄酮类成分对 ALD 作用的 PPI 网络。度值越大代表靶点在 PPI 网络中越处于核心作用,下载 STRING 数据库的生成有关 PPI 网络信息的“TSV”文件,将其导入 Cytoscape3.7.0 软件,通过 Network Analyzer 功能进行分析网络中节点的度值,筛选核心靶点。

1.5 GO 与 KEGG 富集分析

通过 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)

summary.jsp) 将交集靶点导入基因列表中, 选择“OFFICIAL-GENE-SYMBOL”, 选定物种为“Homo sapiens”, 获取数据对 GO 功能和 KEGG 通路进行分析, 设置 $P < 0.05$, 根据靶点富集程度进行降序, 筛选排名靠前的生物过程和通路, 并对数据进行可视化。

1.6 成分-靶点-通路网络的构建

将“1.1”项的溪黄草黄酮类成分、“1.3”项的交集靶点、“1.5”项的通路导入 Cytoscape3.7.0 软件构建溪黄草黄酮类成分对 ALD 的作用成分-靶点-通路网络图。利用 Network Analyzer 功能进行拓扑分析, 根据度值大小筛选排名前 5 位成分进行分子对接验证^[7]。

1.7 分子对接验证

在 TCMSP 数据库中下载“1.6”项的度值前 5 位的黄酮类成分的 mol.2 文件, 建立活性成分配体库。利用 AutoDockTools(1.5.6) 对每个成分进行加氢、计算电荷、加 Root 后保存“pdbqt”格式文件。在 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>) 中下载“1.4”项的核心靶点的度值排名靠前的靶点信息, 下载格式为 pdb 格式, 作为核心靶点受体库。利用 PyMol

(2.3.4) 将靶点蛋白去除配体、水分子后导入 AutoDockTools(1.5.6) 进行加氢、计算电荷, 并保存为“pdbqt”格式文件。由蛋白的配体所处的结构位置为活性口袋, 并利用 AutoDock Tools 确定对接盒子的大小和中心进行分子对接处理, 并通过 PyMol (2.3.4) 进行受体配体的相互作用模式分析。当结合能 < 0 可以判断受体配体二者之间自发结合, 结合能越低, 活性成分越容易与受体结合。

2 结果

2.1 溪黄草黄酮类成分收集

通过检索文献^[8,9] 获得 12 种来源于线纹香茶菜中的溪黄草黄酮类成分, 通过 PubChem 数据库查找, 匹对成分的结构信息, 在 TCMSP 数据库中获取每个成分的 OB、DL 值, 如表 1 所示。带“*”号的成分由于 OB 值较低, 但部分成分其生物活性较强, 药理作用明确, 所以纳入构建溪黄草黄酮类成分的数据库。如芦丁具有多种药理活性, 研究证实, 其通过减低 TGF-β1、IL-1β、结缔组织生长因子和胶原蛋白的表达具有抗肝纤维化, 且表明其通过抑制 NF-κB 活化、促炎细胞因子及 Nrf2 的释放、减弱由胆管结扎(BDL)诱导肝损伤的氧化应激^[10]。

表 1 溪黄草中 12 个黄酮类成分信息

Table 1 Information of 12 flavonoid compounds of Isodonis Lophanthoidis Herba

成分 Ingredient	CAS 号 CAS Number	分子 ID Mol ID	口服生物利用 度 OB (%)	类药性 DL
槲皮素 Quercetin	117-39-5	MOL000098	46.43	0.28
芦丁 Rutin*	153-18-4	MOL000415	3.2	0.68
新西兰牡荆苷 2 Vicenin-2*	23666-13-9	MOL001543	3.42	0.78
异夏佛塔昔 Isoschaftoside*	52012-29-0	MOL004958	17.38	0.83
夏佛塔昔 Schaftoside*	51938-32-0	MOL013168	22.96	0.78
牡荆昔 Vitexin*	3681-93-4	MOL004925	3.05	0.71
新西兰牡荆苷 3 Vicenin-3	59914-91-9	-	-	-
葡萄糖 Cirsimarin	6601-62-3	MOL007274	30.35	0.3
异槲皮苷 Isoquercitrin*	482-35-9	MOL000107	1.86	0.77
杜鹃黄素 Azaleatin	529-51-1	MOL004093	54.28	0.3
木犀草素 Luteolin	491-70-3	MOL000006	36.16	0.25
芹菜素-6,8- <i>二-C-α-L-吡喃阿拉伯糖苷</i> 6,8- <i>di-C-α-L-arabinosylapigenin</i> *	73140-47-3	MOL000466	21.6	0.85

注:“-”表示 TCMSP 数据库没有收录新西兰牡荆苷 3 的编号及 OB、DL 信息;“*”表示成分 OB 值较低。

Note: “-” means TCMSP database doesn't contain the number, OB and DL information of vicenin-3; “*” indicates the ingredient OB value is low.

2.2 溪黄草黄酮类成分靶点

通过 PharmMapper、Uniprot 数据库获取成分靶点信息, 经删除无效与重复靶点, 共获取溪黄草黄酮类成分作用靶点 382 个。

2.3 交集靶点的收集

通过 Genecard 数据库的检索, 根据相关评分(relevance score)设置筛选条件为 ≥ 5 , 筛选出 4 267 个与酒精性肝病相关的靶点。通过韦恩图 Ven-

ny2.1.0 绘制获得 172 个交集靶点,为溪黄草黄酮类成分治疗酒精性肝病潜在的靶点(见图 1)。

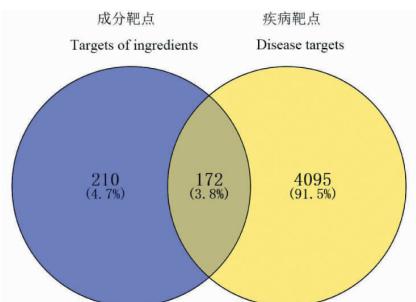


图 1 溪黄草黄酮类成分靶点与酒精性肝病靶点的交集靶点

Fig. 1 Intersection targets of flavonoid compounds from Isodonis Lophanthoidis Herba and targets of ALD

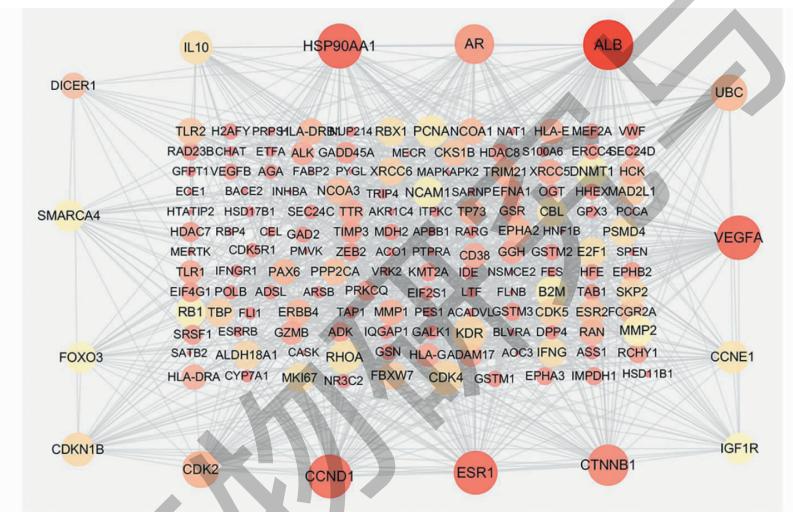


图 2 蛋白质相互作用网络

Fig. 2 Protein interaction network

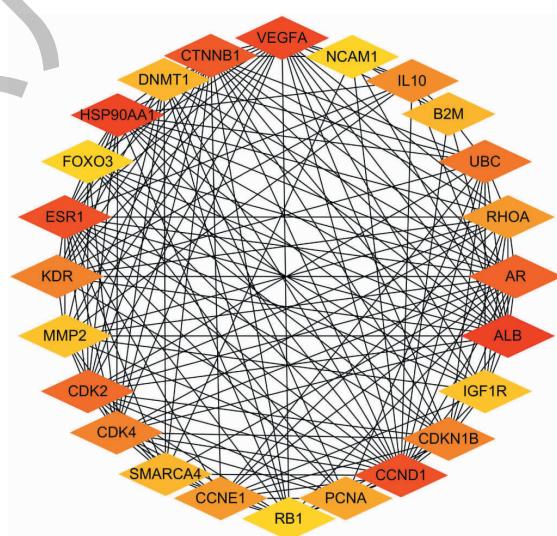


图 3 24 个核心靶点的相互作用网络

Fig. 3 Interaction network of 24 core targets

2.4 靶点的 PPI 网络构建与分析

将 172 个交集靶点导入 STRING 数据库,得到成分与疾病靶点的 PPI 网络,PPI 网络中显示节点 168 个,边 942 条,平均节点度值为 11.2。以节点度值为评价参数,设置度值 ≥ 23 为筛选条件,筛选出 24 个核心靶点,节点度值(degree)越大说明其在 PPI 网络中越重要,可能在发挥生物学功能中起着重要的作用。使用 Cytoscape3.7.0 对 STRING 数据库获得的数据进行分析,节点越大,相应的度值越大,颜色越红。并通过 Cytoscape3.7.0 中的 Cytohubba 插件筛选出核心靶点。如图 3 所示。选取度值排名靠前的核心靶点:HSP90AA1 (degree: 50)、VEGFA (degree: 49)、CCND1 (degree: 48) 作为分子对接验证的靶点。

2.5 GO 与 KEGG 富集分析

由 GO 富集结果得知,在 $P < 0.05$ 条件下,得到生物学功能条目共有 92 条,其中涉及生物过程(biological process, BP)为 52 条,溪黄草黄酮类成分主要参与包括 RNA、DNA 转录的正负调控、细胞凋亡正负调节,血管内皮生长因子受体信号,Notch 信号通路、NF- κ B 调节,Wnt 信号通路的调节、STAT3 蛋白的丝氨酸磷酸化、DNA 损伤的内在凋亡、细胞周期调节、脂质稳态等生物学过程,表明溪黄草黄酮类成分作用于 ALD 主要参与涉及细胞周期调控、氧化应激、脂质代谢、炎症途径等反应。细胞成分(cellular component, CC)富集了 24 条,主要参与胞外体、细胞表面、焦点粘附、转录因子复合体、Toll 样受体 1-Toll 样受体 2 蛋白复合物等。分子功能(molecular function, MF)共富集 16 条目,涉及三磷酸腺苷结合、锌离子结合、染色质结合、转录调节区 DNA 结合、金属内肽酶活性、类固醇结合、受损的 DNA 结

合、氧化还原酶活性等重要生物功能(见图 4, BP、CC、MF 根据富集基因数量只展示前 10 的条目)。由 KEGG 富集分析得到 27 条通路($P < 0.05$),溪黄草黄酮类成分主要参与多条癌症通路、PI3K/Akt 信号通路、癌症中的蛋白多糖、病毒致癌作用、乙型肝炎、FoxO 信号通路、p53 信号通路、细胞周期、PPAR 信号通路、丙氨酸/天冬氨酸和谷氨酸代谢等重要通路发挥作用。如图 5 所示对前 20 条重要通路进行可视化处理。

2.6 成分-靶点-通路网络的构建结果

将 12 种溪黄草黄酮类成分,172 个交集靶点,27 条重要通路使用 Cytoscape3.7.0 构建溪黄草黄酮类成分-靶点-通路网络(见图 6)。该网络图包含 211 个节点,634 条边,其中 12 个黄色菱形节点代表了溪黄草黄酮类成分,172 个红色倒三角形代表了交集靶点,27 个深蓝色三角形代表重要的通路,边表示成分、靶点、通路三者之间联络关系。根据度值

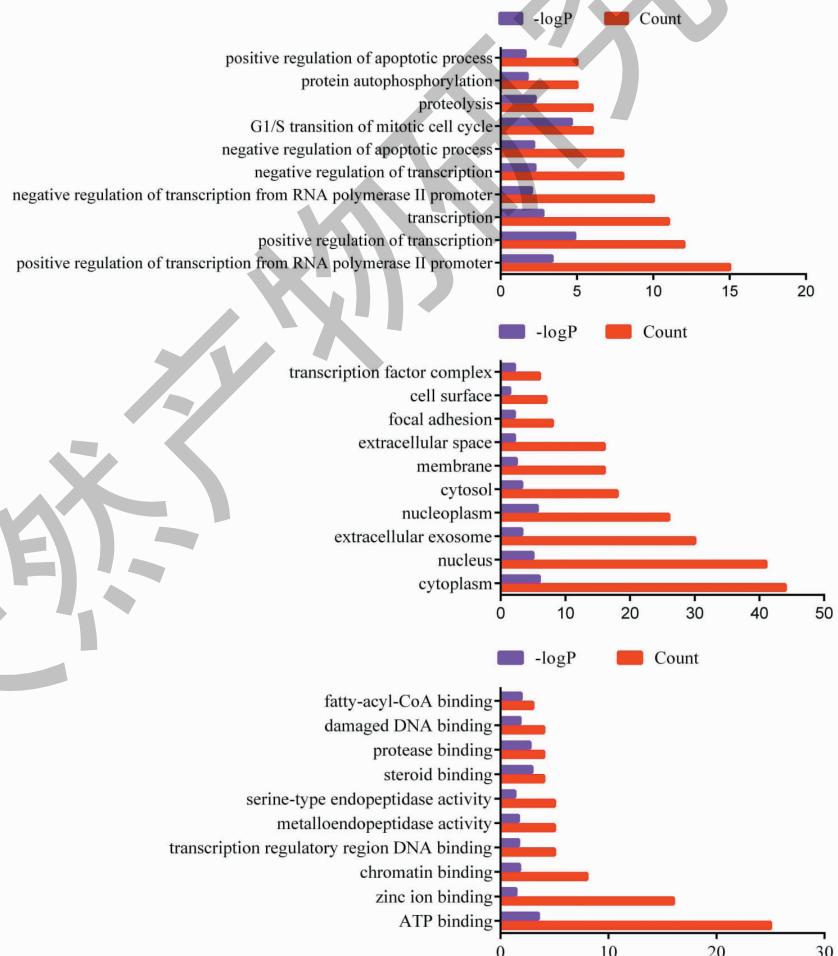


图 4 关键靶点的 GO 富集分析

Fig. 4 Enrichment analysis of GO function for key targets

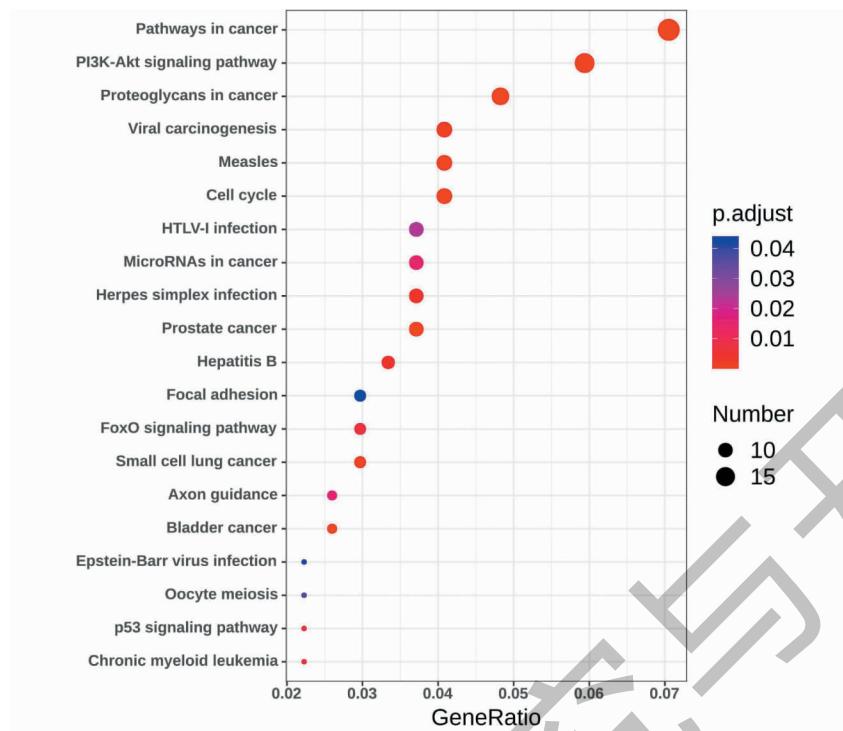


图 5 前 20 关键靶点的 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis of KEGG pathway of the top 20 key targets

的大小,筛选出前 5 个成分作分子对接验证,分别为 vitexin(degree :43)、quercetin(degree :41)、isoschafato-

side(degree :40)、vicenin 2 (degree :38)、azaleatin (degree :36)。

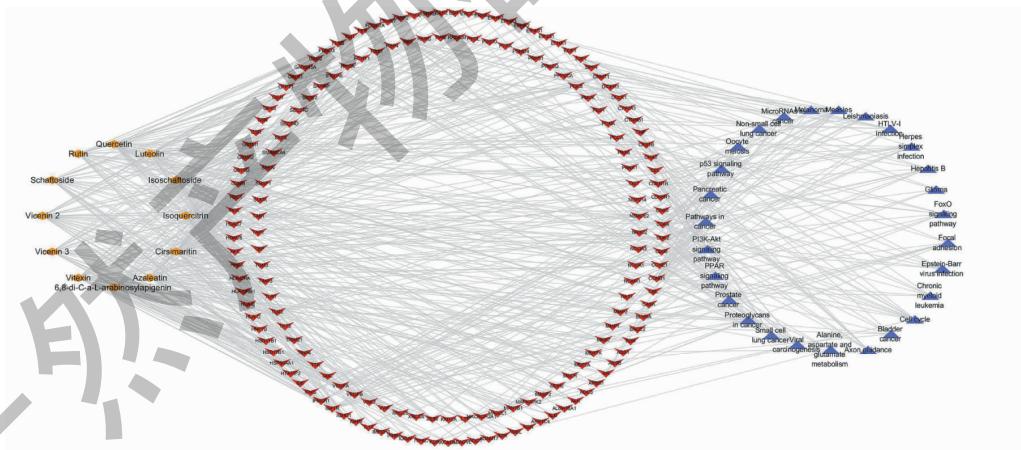


图 6 溪黄草黄酮类成分-靶点-通路网络

Fig. 6 Network of flavonoid components of Isodonis Lophanthoidis Herba-target-pathway

2.7 分子对接验证分析

配体与受体在结合时,构象越稳定其能量越低,相互作用的可能性越大。以结合能 $\leq -5 \text{ kJ/mol}$ 为判断相互作用能力的依据。如表 2 显示,5 个溪黄草黄酮类成分的结合能均 < 0 ,说明其能与靶点产生自发性结合。其中,在 HSP90AA1 靶点中,5 个成分

全部与靶点产生较好的结合特性,而在 VEGFA 靶点中,只有 quercetin 与其产生相互作用能力。在 CCND1 靶点中,quercetin 与 azaleatin 两种成分的结合能为 -5 kJ/mol ,与其产生较好结合效应。从总体上进行推测,分子对接显示溪黄草黄酮类成分与核心靶点有较好的结合活性。利用 PyMol(2.3.4) 将 5

个配体成分中结合能最低的成分与 3 个靶点绘制成分与靶点对接模式图。Isoschaftoside-HSP90AA1 的结合位点为 Asp-93、Leu-107、Tyr-139 氨基酸残基, quercetin-VEGFA 通过 Glu-23、Gly-52、Leu-25 氨基

酸残基发挥作用效应, quercetin-CCND1 的结合位点为 Glu-115、Lys-72、Gln-71、Lys-123、Thr-120 氨基酸残基(见图 7)。

表 2 部分成分与靶点分子对接结果

Table 2 Molecular docking results of some components with targets

靶点名称 Target name	蛋白库编号 PDB ID	成分 Ingredient	结合能 Binding energy (kJ/mol)
HSP90AA1	4CWP	Vitexin	- 8.29
		Quercetin	- 7.12
		Isoschaftoside	- 9.88
		Vicenin 2	- 5.49
		Azaleatin	- 7.76
		Vitexin	- 3.64
VEGFA	5HHC	Quercetin	- 5.06
		Isoschaftoside	- 2.36
		Vicenin 2	- 1.21
		Azaleatin	- 4.60
		Vitexin	- 4.17
		Quercetin	- 6.28
CCND1	6P8E	Isoschaftoside	- 3.40
		Vicenin 2	- 2.56
		Azaleatin	- 5.80
		Vitexin	- 4.17
		Quercetin	- 6.28

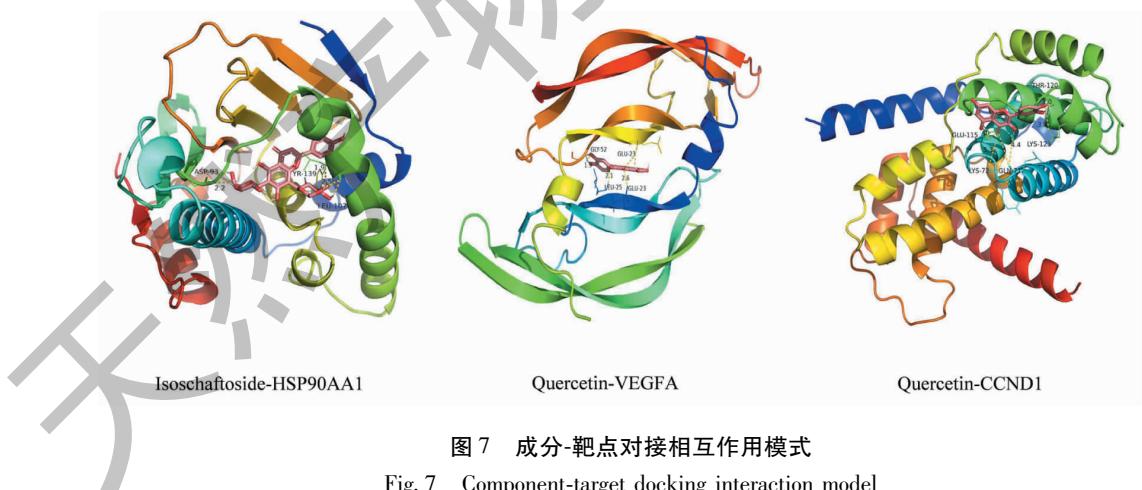


图 7 成分-靶点对接相互作用模式

Fig. 7 Component-target docking interaction model

3 讨论

通过对溪黄草黄酮类成分分析,从构建的网络图中筛选度值排名前 5 的成分。其中,牡荆苷为黄酮碳苷类成分,可调控凋亡信号,最近研究显示^[11],牡荆苷对酒精诱导肝损伤有保护作用,可能与调节 Sirt1/p53 介导线粒体凋亡途径减少肝细胞凋亡、降

低氧化应激和炎症水平有关。槲皮素能降低长期摄入酒精导致血清中 ALT、AST、TG 含量升高,通过降低脂蛋白 2(PLIN2)水平,激活 AMPK 信号促进脂肪吞噬,表明其对酒精导致的肝脂肪变性有保护作用^[12]。由于肝星状细胞的活化是引起肝纤维化的原因,其通过调节 TGF-β1/Smads 和 PI3K/Akt 通路

之间的相互作用来减弱肝星状细胞的活化，并减少自噬而缓解肝纤维化加重的趋势^[13]。异夏佛塔昔能显著抑制非小细胞肺癌 A549 细胞存活率，其抗肿瘤机制与调控细胞凋亡有关^[14]。新西兰牡荆昔 2 能降低肝损伤标志物 ALT、AST 水平和炎症因子的表达，抑制 MAPK 激活、调控 TLR 信号通路减轻由 LPS 诱导肝损伤引起的炎症反应，表明其具有保肝作用^[15]。因此，可推测上述的溪黄草黄酮中核心成分通过调控细胞凋亡、降低氧化应激、抗肝纤维化、降低炎症水平等方面发挥干预 ALD 的潜在作用。

由核心靶点网络图可知，溪黄草黄酮类成分作用于 ALD 的靶点有 24 个核心靶点，并对 HSP90AA1、VEGFA、CCND1、IL10、FOXO3 等度值较大的靶点进行文献分析。热休克蛋白 90AA1 (HSP90AA1) 转导能促进癌症相关成纤维细胞慢性炎症的信号，通过激活 NF-κB 和 STAT3 转录，分泌炎症细胞因子诱导炎症反应。而炎症反应能加速 ALD 的发展，在酒精性肝硬化中 HSP90AA1 诱导与 NLRP3 炎性小体呈正相关，抑制 HSP90AA1 进而降低 NLRP3 炎性体活性使炎症细胞因子分泌减少，减轻炎症反应^[16]。血管内皮生长因子 A (VEGFA) 能诱导内皮细胞增殖、诱导新血管生成，其与肝细胞癌，尤其是酒精性肝硬化的生理病理有关。酒精摄入会增加肝脏氧气的消耗，易诱导缺氧诱导因子 (HIFs) 的活化，促进 VEGFA 转录，引起 ALD 中肝纤维化的发生^[17]。细胞周期蛋白 D1 (CCND1) 主要功能为促进细胞增殖，但其过度表达可致细胞增殖失控，促进恶性肿瘤细胞的侵袭和转移。过表达的 CCND1 与肝细胞癌相关，而在体外研究表明槲皮素下调 CCND1 表达以干扰 HepG2 细胞的细胞周期和增殖^[18]。另外，IL-10 是在免疫调节和炎症中发挥多效作用的细胞因子，可抑制 ALD 中炎症细胞因子 LPS、TNF-α、IL-6 的产生，通过减少肝脏炎症和脂肪变性发生而保护肝脏^[19]。叉形头转录因子 O 亚型 3 (FOXO3) 广泛参与细胞自噬、凋亡、氧化应激反应等生物学过程，其能诱导凋亡基因的表达，在肝细胞癌中表现出抗肿瘤特性^[20]。综上，预测的核心靶点参与了 ALD 的发病机制，推测溪黄草黄酮类成分可通过作用这些核心靶点发挥潜在的治疗机制。

从 KEGG 富集通路中可知溪黄草黄酮类成分治疗 ALD 可能通过 PI3K/Akt 信号通路、FoxO 信号通路、p53 信号通路等关键通路发挥作用。其中，

PI3K/Akt 信号通路通过激活下游相应的效应分子参与细胞增殖、凋亡、葡萄糖代谢等生理活动发挥作用。另有研究证实，通过抑制 PI3K/Akt 信号传导，降低氧化应激和炎症因子水平，对活化的肝星状细胞有抑制作用，进而阻止肝纤维化的发展^[21]。在 ALD 发病机制中，氧化应激与细胞凋亡被认为是其重要的机制之一，而细胞处于氧化应激状态时，可激活 PI3K/Akt 信号通路及相关响应因子。推测 PI3K/Akt 通路为 ALD 发病机制的关键信号通路。FOXO 蛋白是生长因子和应激调节的转录因子，作为氧化应激介体参与氧化应激过程，在细胞 DNA 损伤和修复、调控代谢等过程具有重要的作用。p53 为肿瘤抑制因子，其调控细胞增殖、衰老、细胞凋亡等代谢活动，介导癌症、糖尿病、肝病等疾病的代谢过程。类黄酮物质黄腐酚通过调控 NF-κB/p53 信号通路抑制人肝癌 HepG2 的生长、凋亡^[22]。上述三条通路在治疗 ALD 中主要参与了氧化应激过程、炎症反应、细胞自噬、抗细胞纤维化等过程，可进一步推测溪黄草黄酮类成分调节这些关键通路发挥治疗 ALD 作用机理。另外，结合分子对接的技术，初步模拟成分与靶点之间相互作用关系，结合能的大小直接反映预测结果的可靠性。

本研究通过网络药理学和分子对接相结合的方法，确定溪黄草中黄酮类成分具体药效物质，从多个方面探讨了黄酮类成分治疗 ALD 的分子靶点、调控通路的作用机制，体现了溪黄草黄酮类成分具有多靶点多途径的作用特点，且其预测的结果与文献报道相符，为后续深入研究溪黄草黄酮防治 ALD 的作用机制提供理论依据。

参考文献

- Teschke R. Alcoholic liver disease: alcohol metabolism, cascade of molecular mechanisms, cellular targets, and clinical aspects [J]. *Biomedicines*, 2018, 6(4):106.
- Dunn W, Shah VH. Pathogenesis of alcoholic liver disease [J]. *Clin Liver Dis*, 2016, 20:445-456.
- Huang SS. Research progress on *Rabdosia serra* of traditional Chinese medicine [J]. *Pharm Today (今日药学)*, 2016, 26: 365-368.
- Luo Y, Liao CX, He S, et al. Effect of *Rabdosia serra* (maxim.) Hara on gene expression profile of hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. *Chongqing Med (重庆医学)*, 2018, 47:728-732.
- Xu QM, Li YL, Cao HK, et al. Protective effects and the

- mechanism study of water extract of *Rabdosia serra* on hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats [J]. Chin Pharm(中国药房), 2018, 29:2791-2796.
- 6 Liu X. Effects of flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara on liver fibrosis and acute liver injury [D]. Guangzhou: Southern Medical University(南方医科大学), 2014.
- 7 Jiang HH, Tang K, Zhang HW, et al. Study on mechanisms of *Schisandra sphenanthera* for treating hepatic injury based on network pharmacology [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32:759-768.
- 8 Tang HM, Chen JN, Zhang Y, et al. Simultaneous determination of eight water-soluble compositions in *Isodon serra* from different origins by HPLC [J]. J Pharm Anal(药物分析杂志), 2015, 35:228-234.
- 9 Feng XL. Studies on the chemical constituents from the aerial parts of *Isodon lophanthoides* (Buch. -Ham. ex D. Don) Hara [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2016.
- 10 Pan PH, Lin SY, Wang YY, et al. Protective effects of rutin on liver injury induced by biliary obstruction in rats [J]. Free Radic Biol Med, 2014, 73:106-116.
- 11 Yuan H, Duan S, Guan T, et al. Vitexin protects against ethanol-induced liver injury through Sirt1/p53 signaling pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2020, 873:173007.
- 12 Zeng H, Guo X, Zhou F, et al. Quercetin alleviates ethanol-induced liver steatosis associated with improvement of lipophagy [J]. Food Chem Toxicol, 2019, 125:21-28.
- 13 Wu L, Zhang Q, Mo W, et al. Quercetin prevents hepatic fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and reducing autophagy via the TGF-beta1/Smads and PI3K/Akt pathways [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):9289.
- 14 Liang F, Yu LL, Wang RB, et al. The anti-tumor activity and mechanism of isoschaftoside on human A549 cell lines. [J] J Wudanjiang Med Univ(牡丹江医学院学报), 2019, 40(6): 33-36.
- 15 Lee IC, Bae JS. Hepatoprotective effects of vicenin-2 and scolymoside through the modulation of inflammatory pathways [J]. J Nat Med, 2020, 74(1):90-97.
- 16 Choudhury A, Bullock D, Lim A, et al. Inhibition of HSP90 and activation of HSF1 diminish macrophage NLRP3 inflammasome activity in alcohol-associated liver injury [J]. Alcohol Clin Exp Res, 2020, 44:1300-1311.
- 17 Machado MV, Cortez-Pinto H. Proangiogenic factors in the development of HCC in alcoholic cirrhosis [J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2015, 39(S1):S104-S108.
- 18 Zhou J, Li LU, Fang LI, et al. Quercetin reduces cyclin D1 activity and induces G1 phase arrest in HepG2 cells [J]. Oncol Lett, 2016, 12(1):516-522.
- 19 Kawaratani H, Moriya K, Namiaki T, et al. Therapeutic strategies for alcoholic liver disease:focusing on inflammation and fibrosis (review) [J]. Int J Mol Med, 2017, 40:263-270.
- 20 Carabajo-Pescador S, Mauriz JL, Garcia-Palomo A, et al. FoxO proteins: regulation and molecular targets in liver cancer [J]. Curr Med Chem, 2014, 21:1231-1246.
- 21 El-Mihi KA, Kenawy HI, El-Karef A, et al. Naringin attenuates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats through modulation of the PI3K/Akt pathway [J]. Life Sci, 2017, 187:50-57.
- 22 Zhao X, Jiang K, Liang B, et al. Anticancer effect of Xanthohumol induces growth inhibition and apoptosis of human liver cancer through NF-kappaB/p53-apoptosis signaling pathway [J]. Oncol Rep, 2016, 35:669-675.

(上接第 629 页)

- 19 Zong L, Xiao YY, Chen LL. Studies on improvement of dissolution and modification of dissolution rate of nisoldipine with binary solid dispersion [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2005, 40:203-206.
- 20 Fini A, Cavallari C, Ospitali F, et al. Raman and thermal a-

- nalysis of indomethacin/PVP solid dispersion enteric microparticles [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 70(1):409-420.
- 21 Sethia S, Squillante E. Solid dispersion of carbamazepine in PVP K30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods [J]. Int J Pharm, 2004, 272(1-2):1-10.