

基于网络药理学和动物实验探讨萱草花抗阿尔茨海默病的作用机制

徐梦洁¹, 肖姣², 张晓莹³, 刚芳莉¹, 杨欣超¹, 颜廷旭^{3*}

(1. 忻州师范学院生物系, 山西忻州 034000; 2. 沈阳药科大学无涯创新学院, 辽宁沈阳 110016; 3. 沈阳药科大学功能食品与葡萄酒学院, 辽宁沈阳 110016)

摘要: 目的 基于网络药理学结合分子对接技术及体内动物实验验证探讨萱草花治疗阿尔茨海默病(AD)作用机制。方法 构建“成分-靶点”网络图, 筛选关键靶点进行GO功能及KEGG通路富集分析; 利用分子对接预测活性成分与蛋白结合模式; 通过体内动物实验验证萱草花抗AD的作用。结果 得到7种萱草花活性成分及125个AD疾病作用交集靶点。KEGG富集得到PI3K/Akt、NF- κ B等信号通路。分子对接显示, 萱草花活性成分与PI3KR1有较好的结合。动物实验显示, 高剂量萱草花可改善小鼠的学习记忆力及病理变化, 抑制AD小鼠脑中 $A\beta$ 沉积、IL-1 β 表达及星形胶质细胞的激活, 调节PI3K/Akt通路蛋白表达。结论 萱草花通过多靶点、多通路对抗AD具有潜在的活性, 其作用机制可能与改善神经相关。

关键词: 萱草花; 阿尔茨海默病; 网络药理学; 动物实验; PI3K信号通路; 神经炎症

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)01-0292-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.01.050

全球范围内约有5000万老年人患有痴呆症, 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的类型^[1-2]。目前AD药物的主要作用集中于延缓发病进程, 无法改善或治愈AD^[3-4]。中药由于其多靶点、多途径的优势, 成为了抗AD药物研究的焦点^[5-7]。

萱草花为百合科萱草属植物黄花萱草 *Hemerocallis citrina* Baroni 的花蕾部分, 为药食两用资源^[8]。现代药理研究表明, 萱草花具有抗炎、神经保护等作用, 可改善抑郁并发的记忆力损伤, 但其抗AD作用机制尚无系统报道^[9-10]。

网络药理学是一种基于系统生物学理论, 结合计算机科学, 从整体研究探讨药物和疾病的相关性, 为药物研究提供理论基础的的分析方法^[11-13]。本研究旨在利用网络药理学分析, 结合动物实验验证, 探究萱草花抗AD的潜在作用及机制, 为相关药物的进一步开发提供科学参考。

1 材料

1.1 动物 50只10月龄SPF级雄性昆明小鼠, 体质量18~22g, 购自北京斯贝福生物科技股份有限公司[质量合格证编号110324231100154563, 实验动物生产许可证号SCXK(京)2019-0010], 饲养于康泰医学检验服务河北有限公司[实验动物使用许可证号SYXK(冀)2021-006], 环境温度(22±1)℃, 相对湿度45%~55%, 12h/12h光暗循环, 自由进食饮水, 适应性饲养1周。动物研究经康泰医学检验服务河北有限公司动物伦理会批准(伦理号

MDL-2023-01-11-2)

1.2 试剂与药物 萱草花由念之安生物技术有限公司提供(批号B20211019, 总黄酮含量12mg/g, 70%乙醇加热回流提取2次, 每次2h)。脂多糖(LPS, 武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号GC205009); 多奈哌齐(上海源叶生物科技有限公司, 批号S70192); 重组beta Amyloid₁₋₄₂(A β ₁₋₄₂)抗体[艾博抗(上海)贸易有限公司, 批号ab201060]; 胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、白介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)抗体(美国CST公司, 批号80788、12242); HRP标记羊抗兔二抗(武汉三鹰生物技术有限公司, 批号SA00001-2)。

2 方法

2.1 网络药理学研究

2.1.1 萱草花活性成分、靶点筛选 以“*Hemerocallis citrina* Baroni”为关键词, 从公共数据库搜索萱草花化学成分, 通过PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获得结构, 利用SwissADME(<http://www.swissadme.ch/index.php>)、TCMSP(<https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>)进行筛选, 并建立数据库。通过Swiss Target Prediction预测活性成分作用靶点, 利用UniProt(<https://www.uniprot.org/>)校正名称, 合并各活性成分靶点后删除重复数据。

2.1.2 AD靶点及交集靶点获取 通过OMIM([收稿日期: 2023-08-23](https://</p></div><div data-bbox=)

基金项目: 山西省科技厅基础研究计划项目(202103021223369); 山西省教育厅高等学校科技创新项目(2021L462); 忻州市科技局应用基础研究项目(20210103)

作者简介: 徐梦洁(1990—), 女, 博士, 研究方向为中药成分功能筛选及评价。Tel: 18842369690, E-mail: xumj1019@126.com

*通信作者: 颜廷旭(1984—), 男, 博士, 副教授, 研究方向为中药成分功能筛选及评价。Tel: 18842411904, E-mail: ytxsyphu@163.com

omim. org/)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)数据库筛选“Alzheimer disease”靶点,构建疾病靶点数据库,绘制AD与萱草花的交集靶点。

2.1.3 “活性成分-AD”网络构建 通过 Cytoscape 3.7.2 软件可视化“萱草花活性成分-AD”网络,连接的节点越密集,受该成分调控的靶点越多,即该成分是萱草花抗AD的重要活性成分。

2.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建及关键靶点筛选 将交集靶点导入 STING 11.0 数据库 (<https://cn.stringdb.org>) 进行分析,模式设置为多种蛋白,物种限定为“Homo sapiens”。

2.1.5 GO 功能、KEGG 通路富集分析 利用 R3.6.0 软件进行 GO 功能富集分析,从靶细胞的分子功能(molecular function, MF)、细胞成分(cellular component, CC)和生物过程(biological process, BP)确定基因富集的功能, P 值与富集程度呈正相关,选取筛选校正后 $P < 0.05$ 的结果,绘制相应气泡图。利用 KEGG 途径富集分析获得枢纽靶点作用的途径,将结果绘制成相应气泡图。

2.1.6 分子对接 利用分子对接模拟软件对7种活性成分与筛选得到的核心靶点与 PI3KR1 蛋白靶点进行对接,将结果利用 Pymol 软件进行可视化处理。

2.2 动物实验

2.2.1 模型制备 将小鼠随机分为空白组、模型组、阳性药组和萱草花低、高剂量组(400、800 mg/kg,质量浓度分别为40、80 mg/mL),每组10只。将萱草花溶于 CMC-

Na 中,其中给药组灌胃给予相应剂量药物,对照组灌胃给予等体积 CMC-Na 溶液。

2.2.2 行为学实验检测学习记忆力 采用 Y 迷宫实验,记录6min内小鼠对迷宫臂的探索情况,若连续3次进入3个臂则认为完成1次正确交替反应,自交替率 = [正确交替反应次数 / (总进臂次数 - 2)] × 100%。

2.2.3 HE 染色观察脑组织病理变化 每组取3只小鼠,麻醉后用4%多聚甲醛进行心脏灌流,取出完整脑组织,浸泡在磷酸盐缓冲液中48h,脱水,石蜡包埋,切片(5 μm),用苏木精和伊红染色,在显微镜下观察病理变化。

2.2.4 免疫组化检测脑组织 Aβ、IL-1β、GFAP 表达 取小鼠脑组织切片,放入60℃恒温烘箱中2h,脱蜡,经抗原修复、封闭后加一抗 Aβ、IL-1β、GFAP 孵育过夜,次日加二抗37℃孵育。使用 AXIOCam 50 相机获得显微照片,Image Pro Plus 6.0 版软件进行分析。

2.2.5 统计学分析 通过 GraphPad Prism 7 软件进行处理,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学研究

3.1.1 活性成分作用靶点 结合文献及 TCMSP 数据库检索结果,得到活性成分7种(表1),将其 SMILES 导入 Swiss Target Prediction 数据库进行靶点预测,共获得457个作用靶点,去除重复靶点后得到149个活性成分作用靶点。

表1 萱草花活性成分信息

分子编号	中文名	英文名	相对分子质量	OB/%	DL
MOL000114	香草酸	vanillic acid	168.16	35.47	0.04
MOL000422	山柰酚	kaempferol	286.25	41.88	0.24
MOL000354	异鼠李素	isorhamnetin	316.28	49.60	0.31
MOL000098	槲皮素	quercetin	302.25	46.43	0.28
MOL000492	(+)-儿茶素	(+)-catechin	290.29	54.83	0.24
MOL000173	汉黄芩素	wogonin	284.28	30.68	0.23
MOL003871	绿原酸	chlorogenic acid	354.34	13.61	0.31

3.1.2 活性成分靶点与AD靶点交集分析 通过 GENE Cards、OMIM 数据库检索到AD疾病相关的靶点基因共13240个,对两者取交集后获得交集靶点基因125个,见图1。

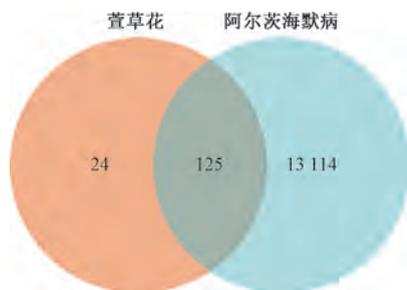


图1 萱草花活性成分与AD疾病共同靶点韦恩图

3.1.3 活性成分-作用靶点网络构建 运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建“药物-活性成分-靶标”网络图,见图2。其中,

黄色椭圆节点代表萱草花,红色菱形节点代表萱草花中7种活性成分,紫色椭圆节点代表潜在靶点,节点之间的线代表活性成分与作用靶点之间的相互作用,共包含133个节点和352个连接。

3.1.4 PPI 网络分析及核心靶点筛选 将125个萱草花与AD的交集靶点输入 STRING,设置 minimum required interaction score 为0.7,并隐藏网络中断开连接的节点,构建PPI网络,见图3,共获得290条连线。再通过 CytoHubba 的 MCC 对核心靶点进行计算,获得排名前二十者,见图4。

3.1.5 GO 及 KEGG 富集分析 将125个共同靶点进行GO功能富集分析,发现活性成分作用靶点富集在1141个BP,主要包括细胞对化学刺激的反应、细胞死亡的调节、对刺激的反应、程序性细胞死亡的调控等;98个CC,主要包括膜结合细胞器、囊泡、膜结合细胞器等;138个MF,主要

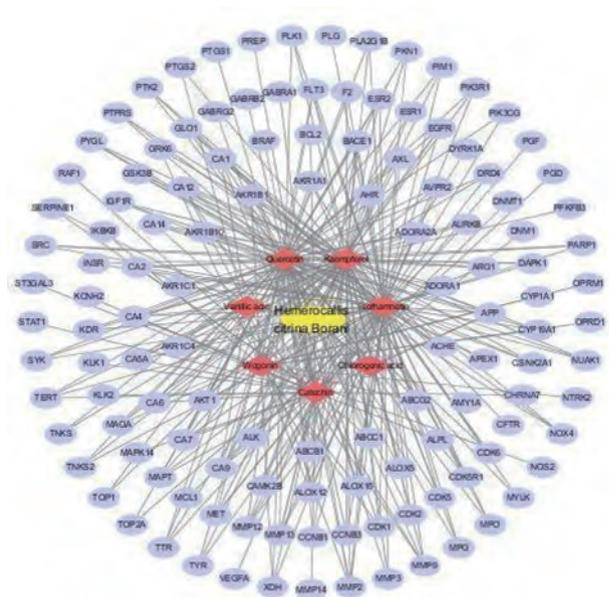


图2 萱草花活性成分-靶点网络图

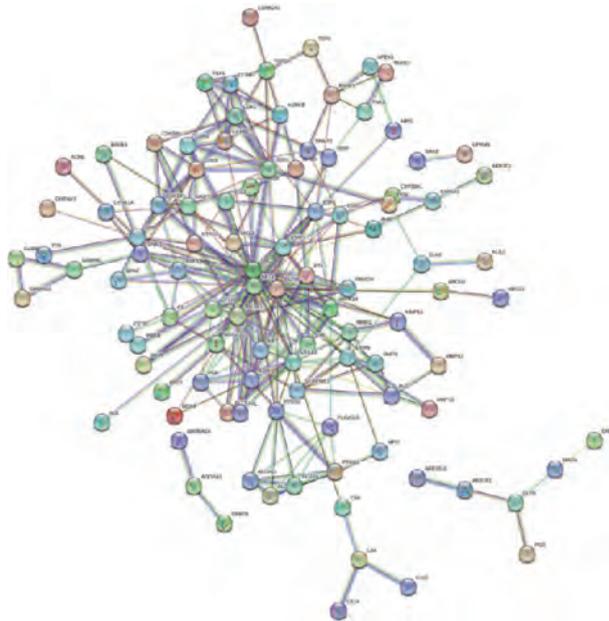


图3 PPI网络

包括催化活性、蛋白激酶活性、磷酸转移酶活性、离子结合等，见图5A。

对萱草花与AD的交集靶点进行KEGG通路富集分析，筛选出10条信号通路包括氮代谢、EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药性、TNF信号通路、T细胞受体信号通路、NF-κB信号通路、MAPK信号通路等，见图5B。

3.1.6 分子对接 将KEGG通路位于PI3K/Akt通路的核心蛋白(包括KDR、PIK3R1、PKT2、RAF1、VEGFA1)与7种活性成分进行分子对接，结合能越低，结合越稳定。结果，除香草酸以外其余6种活性成分均与PIK3R1蛋白表现出了良好的结合，见表2和图6。

3.2 药理实验

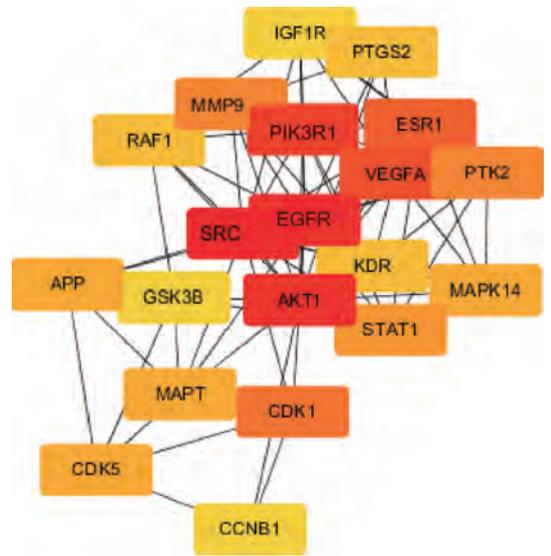


图4 核心靶点基因网络图

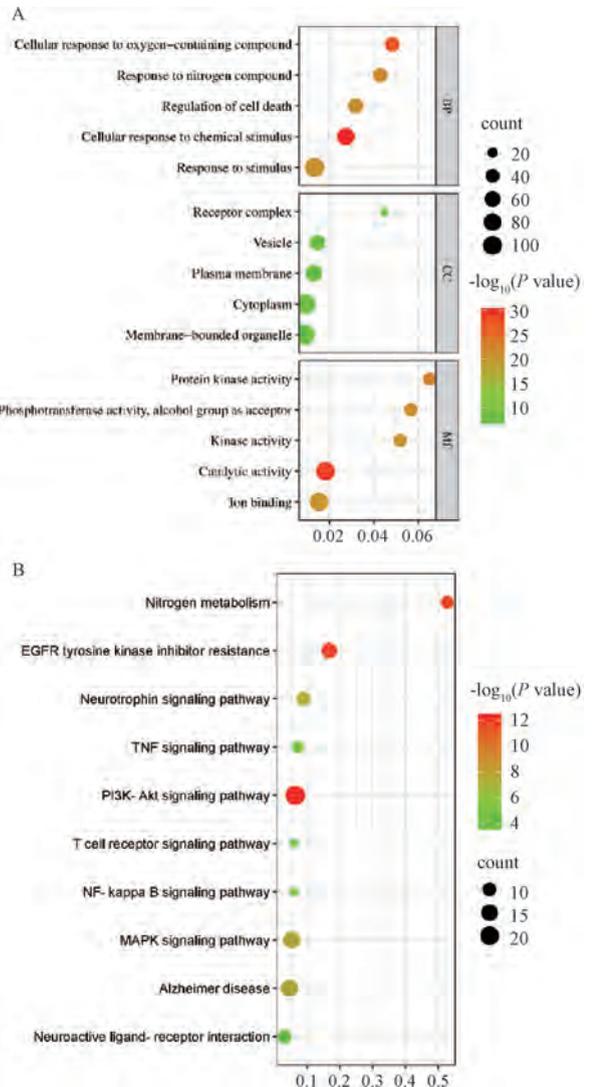


图5 GO功能(A)、KEGG通路(B)富集分析

3.2.1 萱草花对AD小鼠学习记忆力的影响 如图7A所示，与空白组比较，模型组小鼠在Y迷宫中的自发交替行

表2 核心活性成分与核心蛋白 PIK3R1 的结合能

分子编号	英文名	中文名	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
MOL000422	kaempferol	山柰酚	-9.3
MOL000098	quercetin	槲皮素	-9.3
MOL000173	wogonin	汉黄芩素	-8.7
MOL000354	isorhamnetin	异鼠李素	-8.6
MOL003871	chlorogenic acid	绿原酸	-7.6
MOL000492	(+)-catechin	(+)-儿茶素	-7.4
MOL000114	vanillic acid	香草酸	-5.7

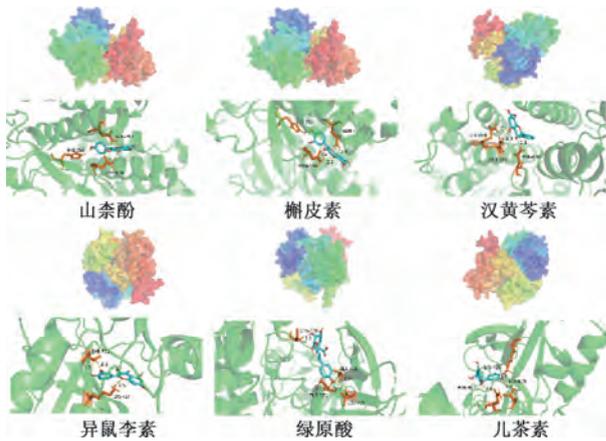
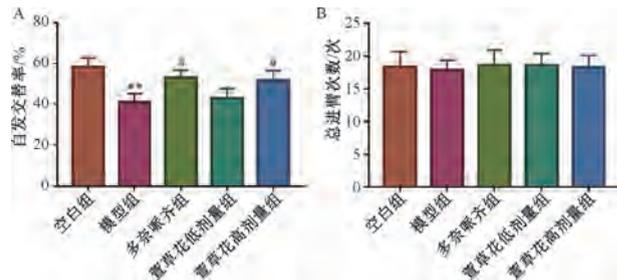


图6 分子对接图

为减少 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 多奈哌齐组和萱草花高剂量组自发交替率 ($P < 0.05$)。如图 7B 所示, 各组小鼠总进臂次数无明显变化 ($P > 0.05$)。



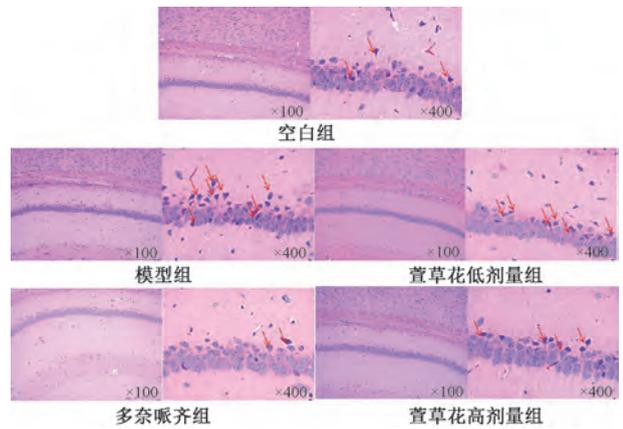
注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图7 萱草花对 AD 小鼠学习记忆力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2.2 萱草花对 AD 小鼠脑组织病理学的影响 如图 8 所示, 空白组小鼠海马神经元排列有序、紧密, 核固缩现象较少; 模型组小鼠海马区神经元排列无序, 核固缩神经元数量增加; 与模型组比较, 多奈哌齐组和萱草花高剂量组可改善 LPS 诱导的核固缩现象。

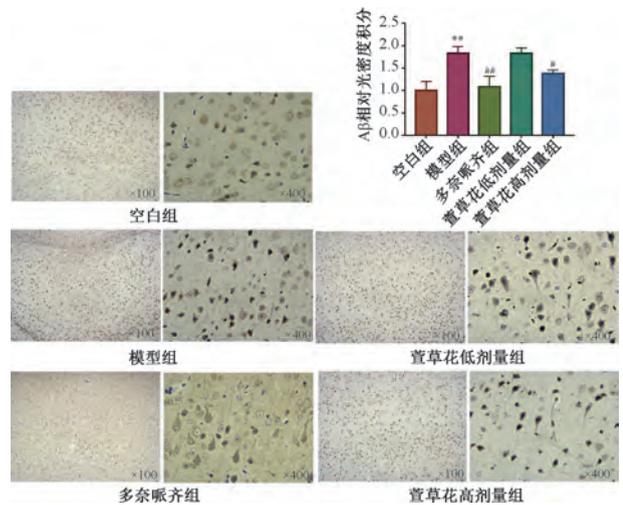
3.2.3 萱草花对小鼠脑组织 $A\beta$ 表达的影响 如图 9 所示, 空白组小鼠海马区可见少量 $A\beta$ 沉积; 与空白组比较, 模型组小鼠海马区 $A\beta$ 沉积水平升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 多奈哌齐组和萱草花高剂量组小鼠海马区 $A\beta$ 沉积减少 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

3.2.4 萱草花对小鼠脑组织 IL-1 β 表达的影响 如图 10 所示, 与模型组比较, LPS 组小鼠海马区 IL-1 β 表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 多奈哌齐组和萱草花各剂量组



注: 红色箭头代表核固缩现象。

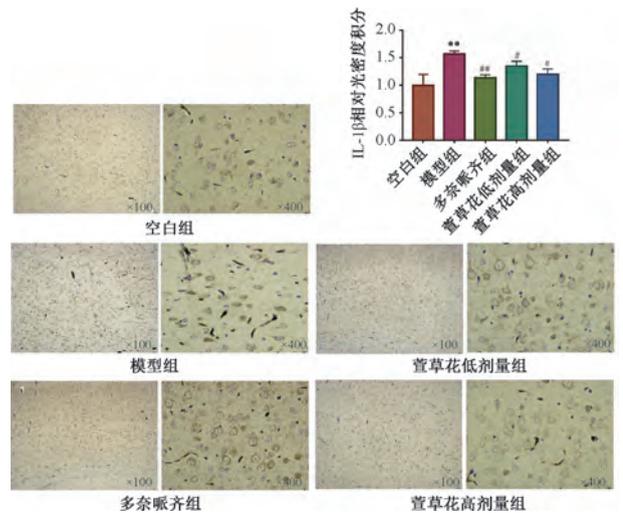
图8 萱草花对小鼠神经元病理变化的影响



注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图9 萱草花对小鼠脑组织 $A\beta$ 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

小鼠海马区 IL-1 β 表达降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。



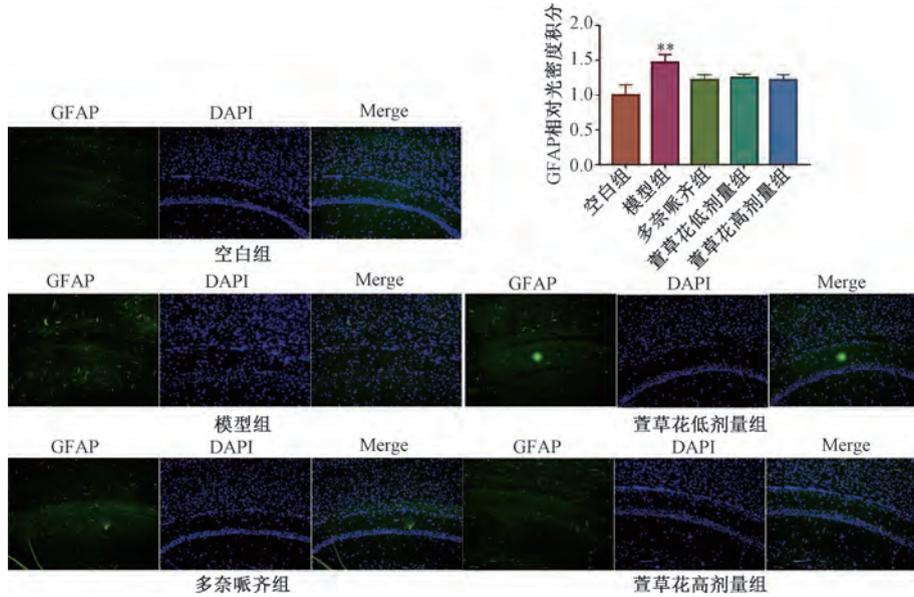
注: 与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图10 萱草花对小鼠脑组织 IL-1 β 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2.5 萱草花对小鼠脑组织 GFAP 表达的影响 如图 11 所

示,与空白组比较,模型组小鼠海马区 GFAP 水平升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,多奈哌齐组和萱草花各剂量组

小鼠海马区星形胶质细胞的激活情况得到了一定的缓解,但 GFAP 水平无明显变化 ($P > 0.05$)。

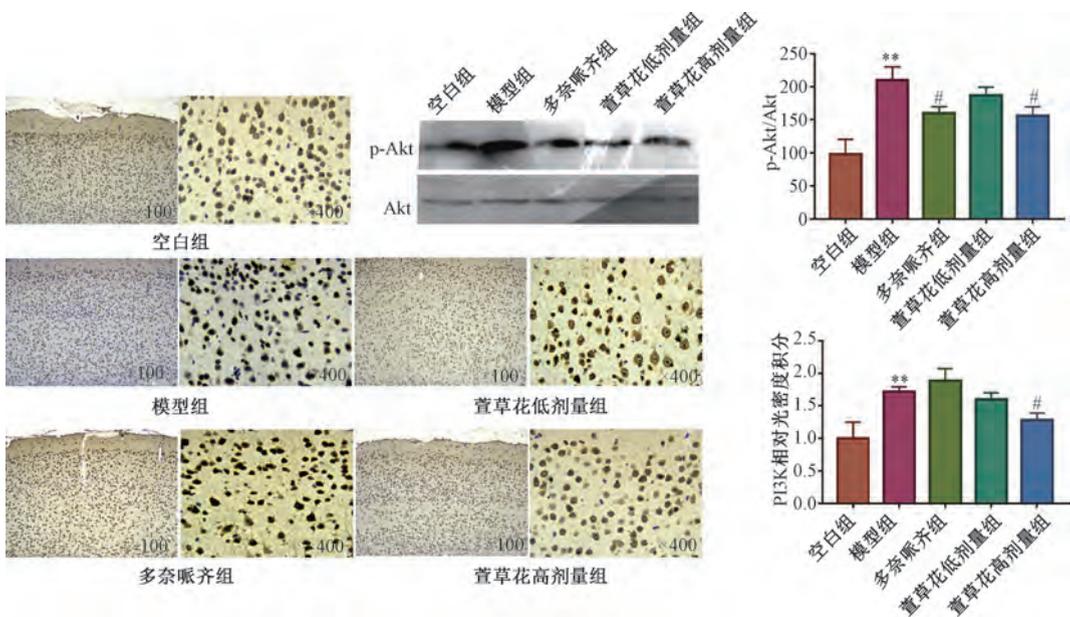


注:与空白组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 11 萱草花对小鼠脑组织 GFAP 激活的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2.6 萱草花对小鼠脑组织 PI3K/Akt 信号通路蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠脑组织 PI3K、p-Akt 蛋白表达升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,多奈哌齐组和

萱草花高剂量组小鼠脑组织 p-Akt 蛋白表达降低 ($P < 0.05$),萱草花高剂量组小鼠脑组织 PI3K 蛋白表达降低 ($P < 0.05$),见图 12。



注:与空白组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图 12 萱草花对小鼠脑组织 PI3K/Akt 通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

中医将 AD 归于“痴呆”“健忘”范畴,认为肝郁气滞,内生毒邪,上阻脑络,易致痴呆^[14]。萱草花可改善抑郁诱发的记忆力损伤,通过疏肝解郁、调畅气机发挥治疗“健忘”的作用^[15]。

网络药理学分析表明,萱草花的抗 AD 活性可能与炎症信号通路相关,这也与先前的研究报道相一致^[16]。腹腔

注射 LPS 可以通过外周炎症诱导脑部神经炎症的发生,整体破坏模型动物的炎症平衡体系而造成神经损伤,是一种典型的 AD 造模方法,结果表明,腹腔注射 LPS 损伤了小鼠在 Y 迷宫中的学习记忆力,同时 IL-1 β 水平的升高和星形胶质细胞的激活也意味着神经炎症的发生^[17-19]。AD 患者的临床常用药多奈哌齐作为一种乙酰胆碱酯酶抑制剂,在改善 AD 样症状的同时可以干预 AD 模型中炎症的表达,但

是其具体的抗炎作用机制尚未明了^[20]。A β 是一种关键的AD病理毒性蛋白,神经炎症的过度激活可以促进A β 的生成,可能是加剧A β 毒性的重要途径^[21-23]。腹腔注射LPS后,小鼠海马内A β 的沉积水平升高,这是诱导小鼠学习记忆力损伤的重要原因^[24-25];高剂量组萱草花给药后,小鼠的A β 沉积水平伴随着记忆力的改善得到了回调,这表明萱草花确实具有潜在的抗AD活性,与改善神经炎症相关,具体作用机制有待进一步研究。

综上所述,本研究通过网络药理学预测了萱草花抗AD的作用机制,并进一步通过体内实验验证它可改善LPS诱导的AD模型鼠在Y迷宫中的学习记忆力和病理损伤,抑制IL-1 β 水平,调控星形胶质细胞的激活,为相关治疗提供了实验依据。

参考文献:

[1] Bachmann T, Schroeter M L, Chen K, et al. Longitudinal changes in surface based brain morphometry measures in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease [J]. *Neuroimage Clin*, 2023, 38: 103371.

[2] Jang I, Li B, Riphagen J M, et al. Multiscale structural mapping of Alzheimer's disease neurodegeneration [J]. *Neuroimage Clin*, 2022, 33: 102948.

[3] Bigam B, Zamanpour S A, Zare H, et al. Features of the superficial white matter as biomarkers for the detection of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment; A diffusion tensor imaging study[J]. *Heliyon*, 2022, 8: e08725.

[4] Chen X, Holtzman D M. Emerging roles of innate and adaptive immunity in Alzheimer's disease [J]. *Immunity*, 2022, 55: 2236-2254.

[5] Ding M R, Qu Y J, Hu B. Signal pathways in the treatment of Alzheimer's disease with traditional Chinese medicine [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 152: 113208.

[6] Fernandes F, Barroso M F, De Simone A, et al. Multi-target neuroprotective effects of herbal medicines for Alzheimer's disease[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 290: 115107.

[7] Dai R, Sun Y, Su R, et al. Anti-Alzheimer's disease potential of traditional Chinese medicinal herbs as inhibitors of BACE1 and AChE enzymes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 154: 113576.

[8] Ma T, Sun Y, Lin J, et al. Chemical constituents and mechanisms from *Hemerocallis citrina* Baroni with anti-neuroinflammatory activity[J]. *J Funct Foods*, 2023, 102: 1-10.

[9] Xu P, Wang K Z, Lu C, et al. Antidepressant-like effects and cognitive enhancement of the total phenols extract of *Hemerocallis citrina* Baroni in chronic unpredictable mild stress rats and its related mechanism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 194: 819-826.

[10] Li C F, Chen X Q, Chen S M, et al. Evaluation of the toxicological properties and anti-inflammatory mechanism of *Hemerocallis citrina* in LPS-induced depressive-like mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 167-173.

[11] Yang H Y, Liu M L, Luo P, et al. Network pharmacology provides a systematic approach to understanding the treatment of ischemic heart diseases with traditional Chinese medicine [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154268.

[12] Zhang Y, Li X, Guo C, et al. Mechanisms of *Spica Prunellae* against thyroid-associated ophthalmopathy based on network pharmacology and molecular docking[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 229.

[13] Tian J, Xu Y, Xiong Y, et al. Metabolomics combined with network pharmacology to explore the mechanisms of modified Guishen pill to ameliorate polycystic ovary syndrome[J]. *Comput Biol Med*, 2022, 148: 105790.

[14] Wang Y, Wang N, Xu Z, et al. Clinical efficacy and safety of compound Congrong Yizhi Capsules on Alzheimer's disease in mainland China: A systematic review with trial sequential analysis and GRADE assessment[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116208.

[15] Liang Y, Zhan X, Wei X, et al. Study on the material basis and mechanism of *Hemerocallis citrina* Baroni on sleep-improvement using drosophila activity monitoring, metabolomic, targeted screening and transcriptomic [J]. *Food Res Int*, 2023, 172: 112562.

[16] Liu X L, Luo L, Liu B B, et al. Ethanol extracts from *Hemerocallis citrina* attenuate the upregulation of proinflammatory cytokines and indoleamine 2, 3-dioxygenase in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153: 484-490.

[17] Whitson H E, Colton C, El Khoury J, et al. Infection and inflammation: New perspectives on Alzheimer's disease [J]. *Brain Behav Immun Health*, 2022, 22: 100462.

[18] MacKenzie J L, Ivanova N, Nell H J, et al. Microglial inflammation and cognitive dysfunction in comorbid rat models of striatal ischemic stroke and Alzheimer's disease: Effects of antioxidant catalase-SKL on behavioral and cellular pathology [J]. *Neuroscience*, 2022, 487: 47-65.

[19] Gao P, Wang Z, Lei M, et al. Daphnetin ameliorates A β pathogenesis via STAT3/GFAP signaling in an APP/PS1 double-transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 180: 106227.

[20] Eman M, Reham M, Kawkab A, et al. Donepezil halts acetic acid-induced experimental colitis in rats and its associated cognitive impairment through regulating inflammatory/oxidative/apoptotic cascades: An add-on to its anti-dementia activity[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 116: 109841.

[21] Ghaderi S, Gholipour P, Komaki A, et al. p-Coumaric acid ameliorates cognitive and non-cognitive disturbances in a rat model of Alzheimer's disease; The role of oxidative stress and inflammation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 112: 109295.

[22] Tofighi N, Asle-Rousta M, Rahnema M, et al. Protective effect of alpha-linoleic acid on A β -induced oxidative stress, neuroinflammation, and memory impairment by alteration of α 7 nAChR and NMDAR gene expression in the hippocampus of rats[J]. *Neurotoxicology*, 2021, 85: 245-253.

- [23] Mao M, Xu Y, Zhang X Y, et al. MicroRNA-195 prevents hippocampal microglial/macrophage polarization towards the M1 phenotype induced by chronic brain hypoperfusion through regulating CX3CL1/CX3CR1 signaling[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17: 244.
- [24] Hong Y, Liu Y, Yu D, et al. The neuroprotection of progesterone against A β -induced NLRP3-caspase-1 inflammatory activation via enhancing autophagy in astrocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105669.
- [25] Lang W, Li X, Wang Y, et al. Sodium propionate improves cognitive and memory function in mouse models of Alzheimer's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2022, 791: 136887.

基于网络药理学和动物实验探讨芪遂逐水膏敷贴剂抗肝硬化腹水的作用机制

刘茵¹, 邱华^{2*}, 毛德文¹, 王明刚¹, 余钰娟³, 宋振恒³, 周晓云³, 黄永林³

(1. 广西中医药大学第一附属医院肝病科, 广西南宁 530023; 2. 广西医科大学附属肿瘤医院中医科, 广西南宁 530000; 3. 广西中医药大学研究生院, 广西南宁 530001)

摘要: 目的 基于网络药理学和动物实验探讨芪遂逐水膏敷贴剂调控肝硬化腹水的作用机制。方法 采用 TCMS 数据库筛选芪遂逐水膏活性成分及对应靶点, 构建 PPI 网络。通过 DAVID 进行 GO 和 KEGG 分析, GeneCards 数据库查找肝硬化腹水相关靶点, 对芪遂逐水膏和肝硬化腹水的共有靶点进行 PPI 分析, 通过 Cytoscape 软件分析共有靶点的核心基因。构建肝硬化腹水大鼠模型, 给予高、低剂量芪遂逐水膏敷贴治疗 (1 cm×1 cm、2 cm×2 cm), 检测血清 ALT、AST 活性及 TBIL、ALB 水平, HE 染色观察肝脏病理变化, Western Blot 法检测 VEGFA、CASP3、MAPK8、AKT1、TP53 蛋白表达。结果 收集得到芪遂逐水膏 13 种活性成分和 240 个预测靶点, 参与药物反应、氧化应激、活性氧代谢过程, 芪遂逐水膏与肝硬化腹水共同靶点 86 个, 涉及脂质和动脉粥样硬化、流体剪切应力和动脉粥样硬化等通路。肝硬化腹水大鼠肝脏有大量炎性细胞, 血清 ALT、AST 活性和 TBIL 水平升高, ALB 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 芪遂逐水膏能改善肝脏病理变化, 降低 ALT、AST 活性和 TBIL 水平, 升高 ALB 水平 ($P<0.05$, $P<0.01$), 同时能下调 VEGFA、CASP3、MAPK8、AKT1、TP53 蛋白在肝硬化腹水中的表达。结论 芪遂逐水膏调控肝硬化腹水具有多成分、多靶点、多通路协同作用的特点, 可能与 VEGFA、CASP3、MAPK8、AKT1、TP53 相关靶点有关。

关键词: 芪遂逐水膏敷贴剂; 肝硬化腹水; 网络药理学; 动物实验

中图分类号: R285.5; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)01-0298-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.01.051

肝硬化是一种以弥漫性纤维化、肝内静脉血流严重中断、门脉高压和肝衰竭为特征的进行性慢性肝病。当出现腹水、静脉曲张出血时, 会出现失代偿性肝硬化^[1], 其发病率高, 能诱发许多自发性腹膜炎、肝肾综合征等致命的并发症^[2]。目前, 治疗肝硬化腹水方法包括控制水和钠盐的摄入、利尿剂、腹腔穿刺放液配合静脉输注白蛋白、生长抑素及肝移植等, 但远期疗效欠佳, 且复发率高, 需要巨额的医疗费用^[3]。近年来, 中药具有多成分、多靶点、多途径的特点, 在肝病治疗中协同作用好且副作用低^[4]。芪遂逐水膏由黄芪、甘遂、木香、茯苓、丹参、益母草和大腹皮组成, 具有益气健脾、活血柔肝、温阳暖肾、利水

消肿等功效^[5], 能有效促进肝硬化顽固性腹水患者腹水消退, 改善肝功能^[6]。本研究利用网络药理学分析芪遂逐水膏敷贴有效活性成分及其可能作用通路, 构建复方中药-单体化合物-药物作用靶点-通路的作用网络, 并通过动物实验验证, 为临床更好地利用芪遂逐水膏敷贴提供理论基础。

1 材料

1.1 药物 芪遂逐水膏由黄芪、甘遂、木香、茯苓、益母草、丹参、大腹皮 7 味中药组成, 由广西中医药大学第一附属医院药房提供, 经广西中医药大学何报作教授鉴定为正品, 按照前期确定的药物提取方法、制剂基质配方、制剂工艺及质量标准制备芪遂逐水膏的凝胶膏剂型^[7-9]。黄

收稿日期: 2023-01-14

基金项目: 广西自然科学基金 (2018JJA140500)

作者简介: 刘茵 (1978—), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向为中西医结合治疗肝病。Tel: (0771) 5850023, E-mail: 417198973@qq.com

* 通信作者: 邱华 (1980—), 男, 博士, 副主任医师, 研究方向为中西医结合治疗肝病。Tel: (0771) 5330622, E-mail: linwys7@163.com