

基于网络药理学和分子对接分析柴胡 抗氧化应激作用机制

任海伟^{1,2,3}, 彭丹妮^{1,2,3}, 魏洽夷^{1,2,3}, 申兴国⁴, 郭晓鹏^{1,2,3}, 赵洪源^{1,2,3*}, 潘立超^{1,2,3}, 田亚琴^{1,2,3}

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050; 2. 甘肃省食药资源开发与生物制造行业技术中心, 甘肃 兰州 730050; 3. 甘肃省中藏药筛选评价及深加工高校重点实验室, 甘肃 兰州 730050; 4. 卓尼县农畜产品质量安全检测检验中心, 甘肃 甘南 747699)

摘要: 运用网络药理学和分子对接技术分析柴胡抗氧化应激的作用机制, 通过网络药理学方法分析得到柴胡抗氧化应激的主要活性成分与核心靶点、柴胡与氧化应激的交集靶点以及可能的信号通路, 预测柴胡主要活性成分与氧化应激核心靶点的结合能力。结果显示: 从柴胡中筛选得到 14 种活性成分及 378 个作用靶点, 后与 1 934 个氧化应激相关靶点取交集, 得到 191 个共同靶点。基因本体(Gene Ontology, GO)功能和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析发现, 柴胡的抗氧化应激作用主要通过影响癌症通路、阿尔茨海默病通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路、Rap1 信号通路、白细胞介素-17 信号通路等实现。分子对接结果显示, 从柴胡中筛选出的主要活性成分与抗氧化应激核心靶点间均具有较好的结合活性。综上, 柴胡可通过多成分、多靶点、多通路调节机体氧化应激。

关键词: 网络药理学; 分子对接; 柴胡; 氧化应激; 作用机制

Network Pharmacology and Molecular Docking Reveal Anti-Oxidative Stress Mechanism of *Bupleuri Radix*

REN Haiwei^{1,2,3}, PENG Danni^{1,2,3}, WEI Hanyi^{1,2,3}, SHEN Xingguo⁴, GUO Xiaopeng^{1,2,3},
ZHAO Hongyuan^{1,2,3*}, PAN Lichao^{1,2,3}, TIAN Yaqin^{1,2,3}

(1. School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, Gansu, China; 2. Gansu Industrial Technology Center for Development and Biomufacturing of Food and Pharmaceutical Resources, Lanzhou 730050, Gansu, China; 3. Key Laboratory of Screening, Evaluation and Deep Processing of Chinese and Tibetan Medicines in Gansu Province, Lanzhou 730050, Gansu, China; 4. Zhuoni County Testing and Inspection Center for Quality and Safety of Agricultural and Livestock Products, Gannan 747699, Gansu, China)

Abstract: The anti-oxidative stress mechanism of *Bupleuri Radix* was studied by network pharmacology and molecular docking. The major anti-oxidative stress components and core targets of *Bupleuri Radix* and the common targets and signaling pathways shared by *Bupleuri Radix* and oxidative stress were obtained by network pharmacological methods. The binding affinity of major components to core target proteins was predicted. The results showed that 14 anti-oxidative stress components and 378 targets were screened from *Bupleuri Radix*, and 191 common targets were shared by *Bupleuri Radix* and oxidative stress (1 934 targets). Gene Ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analyses showed that *Bupleuri Radix* mainly regulated oxidative stress via the cancer pathway, Alzheimer's disease pathway, phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B signaling pathway, Rap1 signaling pathway, and interleukin-17 signaling pathway. The molecular docking results showed that the main anti-oxidative stress components of *Bupleuri Radix* exhibited good binding affinity to the core targets related to oxidative stress. In conclusion, *Bupleuri Radix* might regulate oxidative stress via multiple components, targets, and pathways.

基金项目: 甘肃省知识产权计划项目(23ZSCQ036); 兰州市科技计划项目(2022-2-94); 兰州市青年科技人才创新项目(2023-QN-145)

作者简介: 任海伟(1983—), 男(汉), 教授, 博士, 研究方向: 食药资源开发与功能评价。

*通信作者: 赵洪源(1987—), 男(汉), 讲师, 博士, 研究方向: 食品微生物营养与功能。

Key words: network pharmacology; molecular docking; *Bupleuri Radix*; oxidative stress; mechanism

引文格式:

任海伟,彭丹妮,魏洽夷,等.基于网络药理学和分子对接分析柴胡抗氧化应激作用机制[J].食品研究与开发,2025,46(8):80-89.

REN Haiwei, PENG Danni, WEI Hanyi, et al. Network Pharmacology and Molecular Docking Reveal Anti-Oxidative Stress Mechanism of *Bupleuri Radix*[J]. Food Research and Development, 2025, 46(8): 80-89.

柴胡为伞形科植物柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)或狭叶柴胡(*Bupleurum scorzonerifolium* Willd)的干燥根^[1],主要用于治疗感冒发热、胸肋疼痛、肝郁气滞、月经不调等症状^[2]。现代药理学研究表明,柴胡具有抗氧化、抗炎、护肝、抗肿瘤、解热、镇痛等作用^[3]。柴胡中存在皂苷、挥发油、多糖、黄酮、香豆素等多种生物活性成分^[4],可通过抑制自由基产生或清除细胞内自由基、提高抗氧化酶活性等途径发挥抗氧化作用,进而预防和治疗消化系统疾病、神经系统疾病、心血管系统疾病和妇科疾病等^[5-8]。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生物学功能是调节吞噬作用、细胞增殖、细胞代谢和细胞间信号传导^[9],但机体内的活性氧自由基产生或积累过多,会造成氧化与抗氧化系统失衡,发生氧化应激^[10]。氧化应激会造成蛋白质、脂质和脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)等细胞组分损伤,从而导致细胞功能障碍、细胞凋亡异常和细胞坏死,引发许多严重的疾病,如癌症、糖尿病、心血管疾病和神经退行性疾病(包括帕金森病和阿尔茨海默病)等^[11-12]。研究表明,丹参、党参、当归和黄芪等的提取物都是天然的抗氧化剂,可通过直接清除氧自由基、抑制脂质过氧化、调节核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)/血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)、p38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)等氧化应激相关的信号通路的表达水平来进行抗氧化治疗^[13-14]。此外,也有研究发现天然抗氧化剂(如维生素E、表没食子儿茶素没食子酸酯)的使用能防止酒精性肝病动物模型中的肝损伤,有效缓解炎症性肠病和胰腺炎,说明抗氧化剂药物在预防疾病的发生和抑制疾病的发展中起关键作用^[15]。由于植物源性的抗氧化剂成分复杂,多数作用机制尚不明确,因此在临床中尚未得到广泛应用^[16]。

网络药理学是一种结合系统生物学和生物信息学的分析方法,可以全面阐述药物、靶点和疾病之间的复杂网络关系,进一步预测药物对疾病潜在的作用机制,使用网络药理学对分析具有多成分、多靶点、多途径等特点的中药有着独特优势^[17-18]。随着网络药理学和生

物信息学领域的发展与结合,使有关中药潜在活性成分与其作用的蛋白靶点研究具备了可行性和科学性^[19],而且网络药理学的预测结果可进一步为药物研究提供理论依据^[20]。分子对接是利用计算机技术,研究蛋白质受体与小分子配体间相互作用和识别,并预测其结合方式和亲和力的一种方法^[21-22]。本研究通过运用网络药理学和分子对接技术对柴胡的主要活性成分、相关靶点进行分析,初步探究柴胡抗氧化应激的潜在作用机制,以期研究柴胡对疾病的预防和治疗提供新的思路和参考依据,同时为柴胡的进一步开发及应用提供理论基础。

1 方法

1.1 柴胡活性成分及相关靶点筛选

通过中药系统药理学数据库(TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)检索柴胡的活性成分,由于中药活性成分进入体内后多经胃肠道吸收进入血液并发挥作用,故按照口服生物利用度(oral bioadoption, OB)≥30%、类药性(drug-likeness, DL)≥0.18的标准进行初步筛选^[23]。通过有机小分子生物活性数据库(PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)查找活性成分名称对应的 Canonical SMILES 式,分别导入小分子药物靶点预测在线数据库(SwissTarget Prediction, <http://www.swisstargetprediction.ch/>)进行靶点预测,以可能性(probability) > 0 作为标准筛选活性成分靶点^[24],并将靶点合并后删除重复项。

1.2 氧化应激相关靶点筛选

使用 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)和 OMIM (<https://www.omim.org/>)疾病靶点数据库,以“oxidative stress”为关键词检索。在 GeneCards 数据库中,分值越高则代表该靶点与疾病联系越密切,以相关性分数(relevance score) > 5 为标准筛选疾病靶点。将2个数据库所得到的疾病靶点合并去重,得到疾病相关靶点名称。

1.3 交集靶点的筛选及柴胡“活性成分-靶点”网络的构建

将柴胡活性成分靶点和疾病靶点上传至 Venny 2.1.0 在线作图工具(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>),分析后得到交集靶点^[25]。使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“柴胡活性成分-靶点”网络图,利用内置工具

Analyzer Network 分析网络拓扑参数,筛选柴胡抗氧化应激的主要活性成分。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络分析

为更有效了解柴胡抗氧化应激的作用机制,将获得的柴胡-氧化应激的交集靶点上传至 STRING 数据库(<https://www.stringdb.org/>),物种选择为“人”(Homo sapiens),根据相互作用最佳可视化分析,设置最小相互作用阈值为“Highest confidence>0.7”^[26],隐藏游离节点,其余设置均为默认,将网络参数以“tsv”格式输出,将“tsv”文件导入 Cytoscape 3.9.1 软件,用 Analyzer Network 工具对网络进行分析,得到 PPI 网络图。结合内置插件 CytoNCA 分析,筛选出核心靶点^[27]。

1.5 基因本体(Gene Ontology, GO)功能富集分析及京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析

利用 Metascape 平台(<http://metascape.org/gp/index.html>)对交集基因进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。物种设置为“H.sapiens”,选择 Custom Analysis,设置 $P<0.01$,分析其主要的生物学过程与代谢通路并进行富集分析。筛选 GO 功能富集分析的前 10 项结果和 KEGG 通路富集分析的前 20 条通路,利用 GraphPad Prism 8.0 软件和微生信在线作图网站(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)将结果分别绘制成柱状图和气泡图进行可视化。

1.6 分子对接验证

选择 PPI 网络中度值排名靠前的 3 个靶点作为核心靶点,分别与上述筛选出的主要活性成分进行分子对接验证。在 TCMSPP 数据库中输入主要活性成分名,导出“mol2”格式文件,再导入 AutoDock Tools 1.5.7 软件进行常规预处理,设为配体并保存为“pdbqt”格式。在 Uniport 数据库中输入核心靶点名称,找到对应的 Entry 编号,根据 Entry 编号从 PDB(<http://www.rcsb.org/>)数据库中筛选出符合要求(人源蛋白,原始配体与要对接的活性成分结构相似,分辨率高)的关键蛋白并下载;将蛋白导入 PyMOL 2.5.4 软件去除原始配体和水分子,然后再导入 AutoDock Tools 1.5.7 软件加氢处理,设为受体并保存为“pdbqt”格式。将上述蛋白受体和配体小分子的“pdbqt”文件导入 AutoDock Tools 1.5.7 软件,以大分子蛋白为中心设置 Grid Box,保证蛋白被完全包裹,再选择 AutoGrid 插件获得对接活性位点,进行半柔性对接,得到结合能。选取与靶蛋白对接结果较好的成分,采用 PyMOL 2.5.4 软件对结果进行可视化。

2 结果与分析

2.1 柴胡活性成分相关靶点的获取

通过 TCMSPP 数据库检索,并以 $OB\geq 30\%$ 和 $DL\geq$

0.18 的标准初步筛选得到 17 种柴胡有效活性成分。通过 PubChem 数据库和 SwissTarget Prediction 平台检索预测柴胡活性成分的相关靶点,最终整合预测到 1 037 个活性成分对应的靶点,删除重复性靶点和无靶点活性成分,最终筛选得到 14 种有效活性成分,378 个对应的靶点蛋白。柴胡主要活性成分信息见表 1。

表 1 柴胡的活性成分

Table 1 Active components of Bupleuri Radix

MOL ID	活性成分	OB/%	DL
MOL004653	白花前胡乙素	46.06	0.66
MOL004598	3,3",4",5,5",6,7-六甲氧基黄酮	31.97	0.59
MOL004609	茵陈黄酮	48.96	0.41
MOL002776	黄芩苷	40.12	0.75
MOL013187	笨澄茄素	57.13	0.64
MOL000354	异鼠李素	49.60	0.31
MOL000422	山奈酚	41.88	0.24
MOL001645	乙酸亚油醇酯	42.10	0.20
MOL004628	羟基羽扇豆烷宁	47.82	0.28
MOL000490	矮牵牛素	30.05	0.31
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28
MOL004644	圣呋喃	79.91	0.23
MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76
MOL004648	曲克芦丁	31.60	0.28

2.2 氧化应激相关靶点的获取

通过 GeneCards 数据库检索“oxidative stress”疾病靶点,以 relevance score>5 为筛选标准,得到 1 792 个靶点,再通过 OMIM 数据库检索“oxidative stress”疾病靶点,得到 202 个靶点,将两个数据库所得到的疾病靶点合并去重,最终得到 1 934 个氧化应激相关靶点。

2.3 交集靶点的获取及柴胡“活性成分-靶点”网络的构建与分析

采用 Venny 2.1.0 在线作图工具将筛选的柴胡活性成分靶点与氧化应激相关靶点取交集,共得到柴胡-氧化应激交集靶点 191 个,具体见图 1。

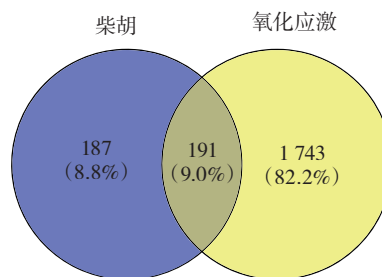
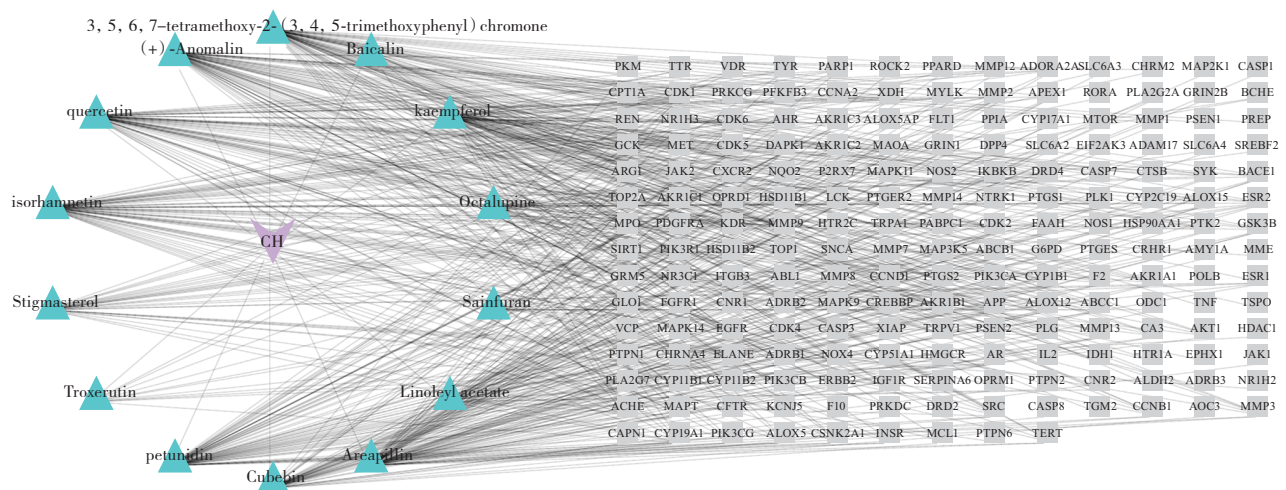


图 1 柴胡活性成分靶点与氧化应激靶点韦恩图

Fig.1 Venn diagram of targets related to active components of Bupleuri Radix and oxidative stress

使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建柴胡“活性成分-靶点”网络图见图 2。



三角形代表柴胡活性成分;矩形代表活性成分对应的靶点;节点与节点之间的连线代表活性成分与靶点之间的相互作用关系。

图 2 柴胡“活性成分-靶点”网络

Fig.2 “Active component-target” network of *Bupleuri Radix*

由图 2 可知,柴胡“活性成分-靶点”网络由 206 个节点和 611 条边组成。

在 Cytoscape 3.9.1 软件构建的柴胡“活性成分-靶点”网络图中,每个节点的度值越高,表明活性成分在网络中发挥的作用越关键,柴胡“活性成分-靶点”网络节点度值见表 2。

表 2 柴胡活性成分网络节点度值		
Table 2 Network node degree of active components of <i>Bupleuri Radix</i>		
MOL ID	活性成分	度值
MOL004598	3,3",4",5,5",6,7-六甲氧基黄酮	66
MOL000490	矮牵牛素	65
MOL004653	白花前胡乙素	64
MOL000354	异鼠李素	64
MOL004609	茵陈黄酮	63
MOL000422	山奈酚	63
MOL000098	槲皮素	63
MOL013187	笨澄茄素	47
MOL000449	豆甾醇	30
MOL001645	乙酸亚油醇酯	28
MOL004628	羟基羽扇豆烷宁	23
MOL004648	曲克芦丁	12
MOL004644	圣味喃	12
MOL002776	黄芩苷	11

由表 2 可知,度值排名前 7 的活性成分为 3,3",4",5,5",6,7-六甲氧基黄酮、矮牵牛素、白花前胡乙素、异鼠李素、茵陈黄酮、山奈酚和槲皮素,可能是柴胡抗氧化应激的主要活性成分。

2.4 PPI 网络及核心靶点

将获取的柴胡-氧化应激交集靶点导入 STRING 数据库获得靶点间的相互作用,进行拓扑分析,以度值大小反映靶点大小及颜色深浅,从而构建网络,结果

见图 3。

由图 3 可知,该网络共有 179 个节点和 860 条边,网络平均邻居节点数为 9.609 0。

在 Cytoscape 3.9.1 软件构建的 PPI 网络图中,利用 CytoNCA 插件分析度值、介度、紧密度等拓扑学参数,进一步筛选出核心靶点。其中度值越大,节点越大,则靶点之间的关系越紧密。重要靶点网络节点特征参数见表 3。

表 3 重要靶点网络节点特征参数			
Table 3 Network node characteristic parameters of key targets			
靶点	度值	介度	紧密度
SRC	56	0.158 6	0.507 1
HSP90AA1	51	0.099 0	0.494 4
AKT1	44	0.085 5	0.487 7
EGFR	42	0.077 3	0.489 0
PIK3R1	34	0.017 3	0.434 1
PIK3CA	31	0.013 2	0.432 0
CASP3	31	0.054 0	0.449 5
APP	27	0.078 0	0.436 3
TNF	27	0.076 7	0.439 5
PTK2	27	0.019 1	0.417 8

由表 3 可知, SRC 在网络中的度值为 56, HSP90AA1 度值为 51, AKT1 度值为 44, 预测 SRC、HSP90AA1、AKT1 是柴胡抗氧化应激的核心靶点。此外,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、PIK3R1、PIK3CA、半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3, CASP3)、淀粉样 β 前体蛋白(amyloid-beta precursor protein, APP)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、蛋白酪氨酸激酶 2(protein tyrosine kinase 2, PTK2)等也是重要的靶点。

2.5 GO 功能与 KEGG 通路富集分析

“活性成分-疾病”靶点 GO 功能富集分析见图 4。

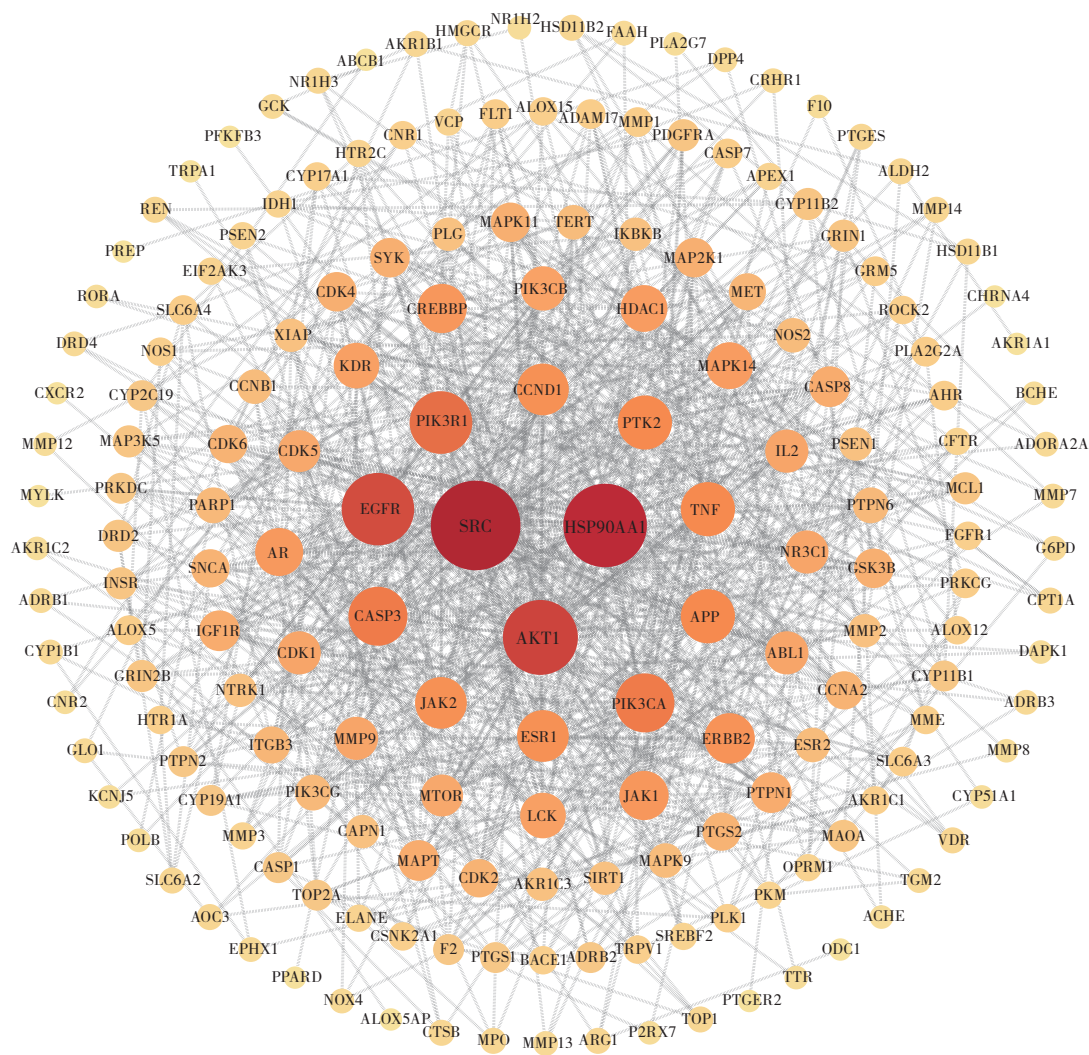


图 3 191 个交集靶点的 PPI 网络

Fig.3 PPI network of 191 common targets

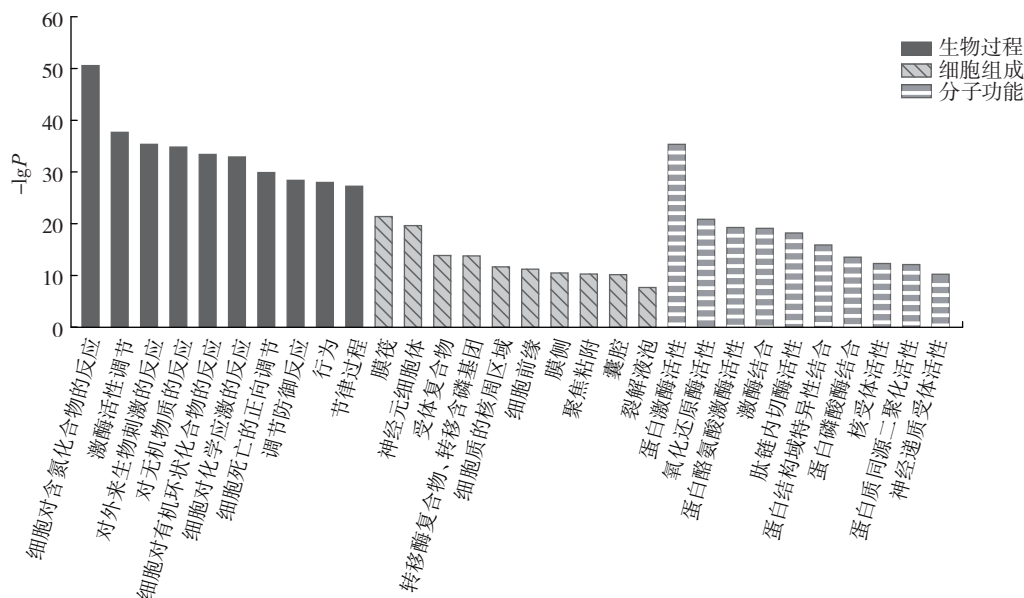


图 4 “活性成分-疾病”靶点 GO 功能富集分析

Fig.4 GO enrichment analysis of targets shared by active components and disease

由图 4 可知,GO 功能富集分析中,共得到生物过程(biological process, BP)富集结果 189 个、细胞组成(cellular component, CC)富集结果 107 个、分子功能(molecular function, MF)富集结果 134 个。BP 主要涉及细胞对含氮化合物的反应、激酶活性调节、对外来生物刺激的反应、对无机物质的反应、细胞对有机环状化合物的反应等;CC 主要涉及膜筏、神经元细胞体、受体复合物、转移酶复合物、转移含磷基团、细胞质的核周区域等;MF 主要涉及蛋白激酶活性、氧化还原酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、激酶结合、肽链内切酶活性等。

“活性成分-疾病”靶点 KEGG 通路富集分析见图 5。

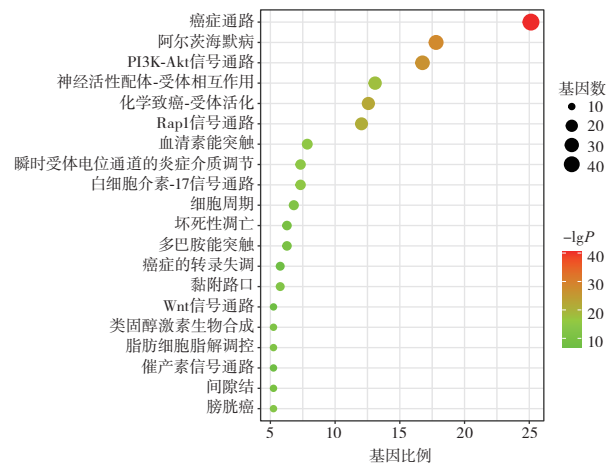


图 5 “活性成分-疾病”靶点 KEGG 通路富集分析(前 20)
Fig.5 KEGG pathway enrichment analysis of targets shared by active components and disease (top 20)

由图 5 可知,KEGG 通路富集分析中,共得到 168 条结果,选取 P 值排列前 20 的通路结果进行可视化,其中气泡面积大小代表该通路上富集基因的数量,气泡越大说明基因数量越多;气泡颜色代表富集显著性,颜色越深说明富集越明显。柴胡抗氧化应激主要涉及癌症、炎症、神经兴奋、信号传导、细胞周期等几大类通路。主要集中在癌症通路、阿尔茨海默病、PI3K-Akt 信号通路、Rap1 信号通路、神经活性配体-受体相互作用通路、化学致癌-受体活化、白细胞介素-17 信号通路、血清素能突触、瞬时受体电位通道的炎症介质调节、脂肪细胞脂解调控、细胞周期等。

2.6 分子对接结果

根据分析结果,选取 PPI 网络中度值较大的 3 个靶点 SRC(PDB-ID 1fmk)、HSP90AA1(PDB-ID 5j80)和 AKT1(PDB-ID 1unq),分别与 7 个度值较大的活性成分 3,3",4",5,5",6,7-六甲氧基黄酮、矮牵牛素、白花前胡乙素、异鼠李素、茵陈黄酮、山奈酚、槲皮素为对象,进行半柔性对接,结果见表 4。化合物与靶点之间的结合自由能 ≤ -1.2 kcal/mol(即 -5.0 kJ/mol, 1 kcal/mol= 4.18 kJ)表明该化合物与其靶点之间具有较好亲和力^[28]。

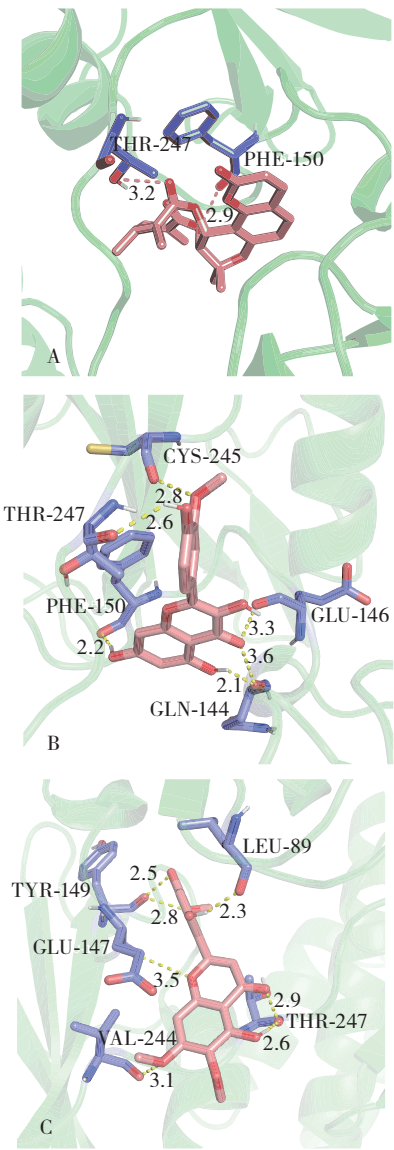
表 4 主要活性成分与核心靶点的分子对接

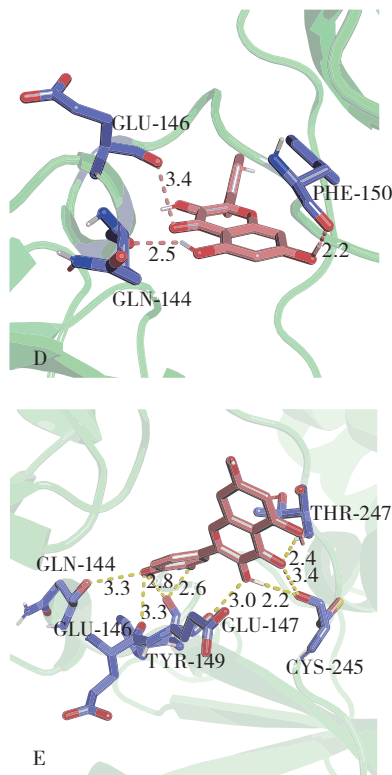
Table 4 Molecular docking between main active components and core targets

活性成分	结合能/(kJ/mol)		
	SRC	HSP90AA1	AKT1
3,3",4",5,5",6,7-六甲氧基黄酮	-20.816 4	-14.421 0	-14.421 0
矮牵牛素	-21.485 2	-15.716 8	-12.832 6
白花前胡乙素	-25.999 6	-18.350 2	-17.848 6
异鼠李素	-25.748 8	-18.057 6	-16.302 0
茵陈黄酮	-25.707 0	-15.424 2	-14.044 8
山奈酚	-24.076 8	-20.649 2	-18.475 6
槲皮素	-23.658 8	-16.761 8	-14.880 8

由表 4 可知,主要活性成分与核心靶点之间均具有较好的亲和力。对接结果较好的 5 个分别为白花前胡乙素-SRC($-25.999 6$ kJ/mol)、异鼠李素-SRC($-25.748 8$ kJ/mol)、茵陈黄酮-SRC($-25.707 0$ kJ/mol)、山奈酚-SRC($-24.076 8$ kJ/mol)、槲皮素-SRC($-23.658 8$ kJ/mol)。

将对接结果在 PyMol 软件中可视化,结果见图 6。





A. 白花前胡乙素-SRC; B. 异鼠李素-SRC; C. 茵陈黄酮-SRC; D. 山奈酚-SRC; E. 槲皮素-SRC。

图6 结合性较好的活性成分与靶点对接示意图

Fig.6 Schematic diagrams of docking between active components and targets with strong binding affinity

由图6可知,活性成分白花前胡乙素与靶点SRC的2个氨基酸残基(THR-247、PHE-150)形成2个氢键,活性成分异鼠李素与靶点SRC的5个氨基酸残基(CYS-245、THR-247、PHE-150、GLU-146、GLN-144)形成6个氢键,活性成分茵陈黄酮与靶点SRC的5个氨基酸残基(TYR-149、GLU-147、VAL-244、LEU-89、THR-247)形成7个氢键,活性成分山奈酚与靶点SRC的3个氨基酸残基(GLU-146、GLN-144、PHE-150)形成3个氢键,活性成分槲皮素与靶点SRC的6个氨基酸残基(GLU-146、GLN-144、TYR-149、GLU-147、CYS-245、THR-247)形成8个氢键。

3 讨论与结论

本研究通过网络药理学方法,发现柴胡抗氧化应激的主要活性成分为3,3',4'',5,5'',6,7-六甲氧基黄酮、矮牵牛素、白花前胡乙素、异鼠李素、茵陈黄酮、山奈酚、槲皮素。其中3,3',4'',5,5'',6,7-六甲氧基黄酮、矮牵牛素、异鼠李素、茵陈黄酮、山奈酚、槲皮素属于黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗衰老、抗肿瘤和免疫调节等作用^[29-30]。矮牵牛素作为一种重要的植物花青素,可以通过调节NADPH氧化酶4的表达来抑制ROS产生,从而保护心肌细胞免受氧化应激损伤,并通

过调节B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)途径防止心肌细胞凋亡^[31]。异鼠李素在体外可清除DPPH自由基和ABTS⁺自由基,抑制肝脏线粒体脂质过氧化,具有较好的抗氧化活性^[32]。异鼠李素能够通过激活PI3K-Akt信号通路保护人类视网膜色素上皮(RPE)细胞免受氧化应激诱导的细胞死亡^[33],还可以通过激活Nrf2/HO-1和细胞外信号调节激酶(extracellular regulating kinase, ERK)途径来增强细胞抗氧化防御能力,从而防止小鼠成肌(C2C12)细胞来自H₂O₂诱导的细胞毒性^[34]。与维生素C相比,茵陈黄酮对OH自由基和DPPH自由基具有良好的清除能力^[35]。山奈酚不仅可以通过激活Nrf2/HO-1信号通路抑制氧化应激和炎症,从而缓解急性血管损伤^[36],还能够激活HO-1表达,抑制诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)及NO的产生,从而保护RAW264.7巨噬细胞(小鼠单核巨噬细胞)不受脂多糖的损伤^[37],同时也能通过PI3K-Akt介导的Nrf2信号通路抑制玉米赤霉烯酮诱导的氧化应激和肝细胞凋亡^[38]。槲皮素是一种天然的抗氧化剂,Alía等^[39]证实槲皮素可以降低人肝癌细胞HepG2中的ROS及丙二醛(malondialdehyde, MDA)浓度,从而延缓或阻止氧化应激的发生。槲皮素还能够通过调节PI3K/Akt信号通路改善线粒体功能和黏膜屏障,抑制炎症,从而减轻胃黏膜上皮细胞的氧化应激损伤^[40]。白花前胡乙素属于香豆素类化合物,白花前胡香豆素组分对氧自由基有较强的清除作用,并可抑制脂质过氧化反应^[41]。综合上述研究结果,柴胡中的7种有效成分均具有较好的抗氧化活性,目前对于3,3',4'',5,5'',6,7-六甲氧基黄酮、白花前胡乙素、茵陈黄酮相关机制的研究相对较少,因此可以作为后续试验研究的重点方向。

PPI网络分析筛选得到柴胡抗氧化应激核心靶点为SRC、HSP90AA1、AKT1、EGFR、PIK3R1、PIK3CA、CASP3、APP、TNF、PTK2。其中SRC是Src家族激酶(Src family kinases, SFKs)中的成员,是一种非受体酪氨酸激酶,参与调控细胞增生与存活以及炎症反应等多种信号传递途径^[42]。研究表明,ROS的积累能增强SFK的活性,诱导脂质过氧化、蛋白质修饰、DNA链断裂和氧化损伤,从而导致细胞功能进行性丧失,而PP2(一种泛SFK抑制剂)可以通过抑制NADPH氧化酶活性来减弱高氧介导的ROS,进一步缓解炎症和氧化应激^[43]。HSP90AA1是HSP90α的功能基因,是进化过程中高度保守且必不可少的一种分子伴侣,具有调节DNA损伤修复、细胞周期、基因表达、氧化应激诱导的细胞凋亡和自噬等作用^[44-45]。AKT1是丝氨酸/苏氨酸激酶(AKT)主要的异构体之一,参与细胞凋亡、葡萄糖代谢等细胞过程,AKT能抑制凋亡信号调节激酶1(ASK1)对氧化应激的反应,从而抑制氧化应激诱导

的细胞凋亡^[46]。通过本文分析发现,柴胡的主要活性成分与 SRC、HSP90AA1、AKT1 等多个靶点相互作用,进一步利用分子对接手段验证了网络药理学结果的可靠性,证明了这些活性成分与核心靶点之间都具有较好的结合能力。

GO 功能富集分析显示,柴胡的活性成分主要通过调节细胞对含氮化合物的反应、激酶活性、对外来生物刺激的反应等 BP、膜筏、神经元细胞体、受体复合物等 CC,蛋白激酶活性、氧化还原酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性等 MF 实现抗氧化应激。KEGG 通路富集结果显示,柴胡的活性成分抗氧化应激主要涉及癌症、阿尔茨海默病、PI3K-Akt、Rap1、IL17 等信号通路。氧化应激是引发癌症、阿尔茨海默病等疾病的共同原因,缓解氧化应激是预防和治疗这几类疾病的共同方法。其中,PI3K-Akt 是细胞中重要的信号转导分子,是调节细胞增殖和凋亡所必需的,PI3K-Akt 信号传导可以调节 ROS 表达和细胞氧化应激途径。范元赫^[47]研究认为 Rap1 信号通路在骨关节炎发病中起着一定的作用,通过抑制其信号通路表达可以抑制软骨细胞凋亡并减轻炎症反应,从而保护软骨细胞并降低膝骨关节炎的发生。此外,激活的 Rap1 可以抑制 TNF- α 诱导的脉络膜内皮细胞(choroidal endothelial cell, CEC)中 ROS 生成并减少 CEC 迁移,降低脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)发展,而炎症和氧化应激都与 CNV 发展有关^[48]。IL-17 是一种促炎细胞因子,抑制 IL-17 信号通路可以减弱胎盘氧化应激,促使胎盘炎症正常化并降低胎儿死亡的可能性^[49]。以上研究表明,柴胡活性成分发挥抗氧化应激作用主要是通过调控多条信号通路实现的,与炎症、癌症、细胞凋亡等紧密相关。

本研究采用分子对接,验证了柴胡的 7 种主要活性成分 3,3",4",5,5",6,7-六甲氧基黄酮、矮牵牛素、白花前胡乙素、异鼠李素、茵陈黄酮、山奈酚、槲皮素与 3 个核心靶点 SRC、HSP90AA1、AKT1 的结合能力,结果显示主要活性成分与核心靶点间均存在结合位点,其中结合能力最高的为 SRC 与白花前胡乙素,结合能为-25.999 6 kJ/mol;结合能力最低的为 AKT1 与茵陈黄酮,结合能为-14.044 8 kJ/mol,主要由氢键连接。

综上所述,柴胡中的 3,3",4",5,5",6,7-六甲氧基黄酮、矮牵牛素、白花前胡乙素、异鼠李素、茵陈黄酮、山奈酚、槲皮素等活性成分可能通过作用于 SRC、HSP90AA1、AKT1 等核心靶点,干预 PI3K-Akt、Rap1、IL17、癌症、阿尔茨海默病等信号通路,从而调控癌症反应、炎症反应、细胞增殖和凋亡等过程发挥抗氧化应激作用。本文研究结果表明柴胡具有多成分、多靶点、多通路防治疾病等特点,可为进一步深入探究其作用机制提供理论依据,为探索柴胡在疾病的预防和治疗

方面提供了方向指引,同时为柴胡的进一步开发及应用提供了参考依据。

参考文献:

- [1] 谭天宇,冯建军,景正义,等.超声辅助低共熔溶剂提取柴胡皂苷工艺及其抗氧化活性研究[J].山东农业科学,2022,54(10):127-134.
TAN Tianyu, FENG Junjun, JING Zhengyi, et al. Extraction process optimization of saikosaponin with ultrasonic-assisted deep-eutectic solvents and study on its antioxidant activity[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2022, 54(10): 127-134.
- [2] 王淑惠,刘泽干,黄小凤,等.柴胡 4 种活性成分的体外抗氧化作用[J].医药导报,2023,42(9):1318-1325.
WANG Shuhui, LIU Zegao, HUANG Xiaofeng, et al. Study on antioxidant effects of four active components of *Bupleurum in vitro*[J]. Herald of Medicine, 2023, 42(9): 1318-1325.
- [3] 黄小凤.柴胡药效成分的提取及基于抗氧化保肝作用研究[D].十堰:湖北医药学院,2021.
HUANG Xiaofeng. Extraction of effective components from *Bupleurum chinense* DC. and its antioxidant and liver-protecting effects [D]. Shiyan: Hubei University of Medicine, 2021.
- [4] 颜美玲,杨柳,侯阿娇,等.柴胡化学成分及药理作用研究进展[J].中医药信息,2018,35(5):103-109.
YAN Meiling, YANG Liu, HOU Ajiao, et al. Research progress on chemical composition and pharmacological effect of *Bupleurum chinense*[J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2018, 35(5): 103-109.
- [5] 宋见喜,任婷,满枋霖,等.柴胡多糖硫酸化修饰条件的优化及其修饰前后抗氧化能力比较[J].吉林大学学报(医学版),2017,43(6):1165-1170.
SONG Jianxi, REN Ting, MAN Fanglin, et al. Optimization of sulfated modification conditions of polysaccharide from *Bupleurum chinense* and comparison of their antioxidant abilities between before and after modification[J]. Journal of Jilin University (Medicine Edition), 2017, 43(6): 1165-1170.
- [6] 余刘勤,贾爱梅,宋永砚.柴胡皂苷抗炎、抗氧化和降脂研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2020,28(1):87-92.
YU Liuqin, JIA Aimei, SONG Yongyan. Progress in the study of saikosaponins on anti-inflammation, anti-oxidation and lipid-lowering effects[J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 2020, 28(1): 87-92.
- [7] 徐先祥,夏伦祝,高家荣.中药皂苷类物质抗氧化作用研究进展[J].中国中医药科技,2004,11(2):126-128.
XU Xianxiang, XIA Lunzhu, GAO Jiarong. Research progress on antioxidant effect of saponins from traditional Chinese medicine[J]. Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology, 2004, 11(2): 126-128.
- [8] 廖丹丹,梁皓,伍漫漫,等.柴胡疏肝散临床应用研究进展[J].亚太传统医药,2022,18(12):228-234.
LIAO Dandan, LIANG Hao, WU Manman, et al. Research progress in clinical application of Chaihu Shugan powder[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2022, 18(12): 228-234.
- [9] LEE J H, KIM T K, KANG M C, et al. Protective effects of edible insect protein extracts from *Protaetia brevitarsis* against H₂O₂-induced oxidative stress in mouse C2C12 myoblast cells[J]. Food Bioscience, 2023, 52: 102396.
- [10] SIES H. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine [J]. Redox Biology, 2015, 4: 180-183.
- [11] SOMADE O T, OYINLOYE B E, AJIBOYE B O, et al. Methyl cel-

- losolve-induced hepatic oxidative stress: The modulatory effect of syringic acid on Nrf2-Keap1-Hmox1-NQO1 signaling pathway in rats[J]. *Phytomedicine Plus*, 2023, 3(2): 100434.
- [12] SUN L W, FENG K, JIANG R, et al. Water-soluble polysaccharide from *Bupleurum chinense* DC: Isolation, structural features and antioxidant activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 79(1): 180-183.
- [13] 万千帆, 杨丹. 天然抗氧化剂治疗糖尿病睾丸氧化应激损伤的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2023, 20(2): 35-38, 51.
- WAN Qianfan, YANG Dan. Research progress on natural antioxidants in the treatment of oxidative stress injury of testis in diabetes mellitus[J]. *China Medical Herald*, 2023, 20(2): 35-38, 51.
- [14] 金善花, 全光石. 中药材抗氧化剂的研究概况和发展趋势[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2011, 9(12): 157-160.
- JIN Shanhua, QUAN Guangshi. Research survey and development trend of antioxidants in Chinese herbal medicines[J]. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 2011, 9(12): 157-160.
- [15] DRYDEN G W Jr, DEACIUC I, ARTEEL G, et al. Clinical implications of oxidative stress and antioxidant therapy[J]. *Current Gastroenterology Reports*, 2005, 7(4): 308-316.
- [16] 胡祖超, 扶小华. 抗氧化剂治疗肝纤维化的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(7): 1038-1042.
- HU Zuchao, FU Xiaohua. Progress of antioxidants in the treatment of hepatic fibrosis[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2015, 24(7): 1038-1042.
- [17] 李东航, 李宁, 宋从宽, 等. 基于网络药理学探究当归补血汤治疗肺纤维化的作用机制[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2023, 44(9): 1109-1116.
- LI Donghang, LI Ning, SONG Congkuan, et al. Mechanism of Danggui Buxue decoction in the treatment of pulmonary fibrosis based on network pharmacology[J]. *Medical Journal of Wuhan University*, 2023, 44(9): 1109-1116.
- [18] 楚建芝, 郑娜, 崔琪, 等. 网络药理学和分子对接技术研究桑黄类真菌对疾病的潜在作用机制[J]. *菌物学报*, 2023, 42(1): 365-382.
- CHU Jianzhi, ZHENG Na, CUI Qi, et al. Analyses of potential mechanism of 'Sanghuang' in treatment of diseases based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Mycosystema*, 2023, 42(1): 365-382.
- [19] 王挺帅, 张荣臻, 王明刚, 等. 基于网络药理学及生物信息学探讨大黄促进肝再生的机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(6): 1297-1301.
- WANG Tingshuai, ZHANG Rongzhen, WANG Minggang, et al. Mechanism of rhubarb promoting liver regeneration based on network pharmacology and bioinformatics[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2020, 31(6): 1297-1301.
- [20] 马旭东, 杨进, 陈林, 等. 基于网络药理学和生物信息学的黄杨碱抑制肾癌细胞的作用机制及实验验证研究[J]. *海南医学*, 2023, 34(4): 462-469.
- MA Xudong, YANG Jin, CHEN Lin, et al. Mechanism and experimental verification of cycloviobuxine D in inhibiting renal carcinoma cells based on network pharmacology and bioinformatics[J]. *Hainan Medical Journal*, 2023, 34(4): 462-469.
- [21] LIU J Q, LIU J, TONG X L, et al. Network pharmacology prediction and molecular docking - based strategy to discover the potential pharmacological mechanism of *Huai Hua san* against ulcerative colitis[J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2021, 15: 3255-3276.
- [22] 宗阳, 丁美林, 贾可可, 等. 基于网络药理学和分子对接法探寻达原饮治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)活性化合物的研究[J]. *中草药*, 2020, 51(4): 836-844.
- ZONG Yang, DING Meilin, JIA Keke, et al. Exploring active compounds of Da-Yuan-Yin in treatment of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking method[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51(4): 836-844.
- [23] 单丽芳, 康国娇, 张超, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨四物汤抗乳腺癌的作用机制[J]. *中草药*, 2021, 52(13): 3943-3953.
- SHAN Lifang, KANG Guojiao, ZHANG Chao, et al. Mechanism of Siwu decoction on breast cancer based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(13): 3943-3953.
- [24] 张雨恬, 伍振峰, 黄艺, 等. 基于网络药理学与分子对接技术的鲜竹沥治疗“咳、喘、痰”机制及其质量标志物预测分析[J]. *中草药*, 2021, 52(24): 7538-7549.
- ZHANG Yutian, WU Zhenfeng, HUANG Yi, et al. Predictive analysis of mechanism and quality marker of fresh bamboo sap on 'cough, asthma, sputum' based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(24): 7538-7549.
- [25] 张祖峰, 张宇欣, 孙悦龙, 等. 基于网络药理学和分子对接探究山楂调节氧化应激的作用机制[J]. *中国畜牧兽医*, 2023, 50(1): 408-420.
- ZHANG Zufeng, ZHANG Yuxin, SUN Yuelong, et al. Study on mechanism of hawthorn in regulating oxidative stress based on network pharmacology and molecular docking[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2023, 50(1): 408-420.
- [26] 袁名扬, 周学刚, 扈丹丹, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨“柴胡-当归”药对治疗乳腺增生的作用机制[J]. *药学研究*, 2022, 41(2): 71-78.
- YUAN Mingyang, ZHOU Xuegang, HU Dandan, et al. Discussion on the mechanisms of couplet medicine of "*Bupleuri Radix-Angelicae Sinensis Radix*" for mammary gland hyperplasia based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2022, 41(2): 71-78.
- [27] 牛肖飞, 袁雪晶, 马凤娟. 基于网络药理学和分子对接技术探讨固本防哮饮治疗小儿哮喘的作用机制[J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(12): 1882-1889.
- NIU Xiaofei, YUAN Xuejing, MA Fengjuan. Mechanism of gubenfangxiaoyin drinking in the treatment of infantile asthma prevention by network pharmacology and molecular docking[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2022, 38(12): 1882-1889.
- [28] 孙雅嘉, 孙九许, 侯思瀚, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨刺老苞防治骨质疏松症的作用机制[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(8): 11-21.
- SUN Yajia, SUN Jiuxu, HOU Sihan, et al. Mechanism of *Aralia echinocaulis* in treatment of osteoporosis based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(8): 11-21.
- [29] 孙然, 张小卿, 吴景东. 基于网络药理学和分子对接探讨桃红四物汤治疗光老化的机制[J]. *实用中医内科杂志*, 2023, 37(9): 102-106, 190-192.
- SUN Ran, ZHANG Xiaoqing, WU Jingdong. Analysis of the mechanism of Taohong Siwu decoction in the treatment of photoaging based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine*, 2023, 37(9): 102-106, 190-192.
- [30] 程玉鹏, 李弘琨, 马爱萍, 等. 柴胡黄酮类抗氧化作用机制最新研究进展[J]. *化学工程师*, 2017, 31(7): 47-48.
- CHENG Yupeng, LI Hongkun, MA Aiping, et al. Latest progress on antioxidant mechanism of flavonoids from *Bupleurum*[J]. *Chemical Engineer*, 2017, 31(7): 47-48.
- [31] CAI X Y, YANG C L, SHAO L, et al. Targeting NOX 4 by petuni-

- din improves Anoxia/reoxygenation-induced myocardium injury[J]. European Journal of Pharmacology, 2020, 888: 173414.
- [32] GONG G, GUAN Y Y, ZHANG Z L, et al. Isorhamnetin: A review of pharmacological effects[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 128: 110301.
- [33] WANG J, GONG H M, ZOU H H, et al. Isorhamnetin prevents H₂O₂-induced oxidative stress in human retinal pigment epithelial cells[J]. Molecular Medicine Reports, 2018, 17(1): 648-652.
- [34] CHOI Y H. The cytoprotective effect of isorhamnetin against oxidative stress is mediated by the upregulation of the Nrf2-dependent HO-1 expression in C2C12 myoblasts through scavenging reactive oxygen species and ERK inactivation[J]. General Physiology and Biophysics, 2016, 35(2): 145-154.
- [35] 齐善厚. 茵陈黄酮的抗氧化及镇痛作用研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(3): 501-504.
QI Shanhou. Antioxidant and analgesia activities of flavonoids from the capillary *Artemisia*[J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(3): 501-504.
- [36] YAO H, SUN J Y, WEI J, et al. Kaempferol protects blood vessels from damage induced by oxidative stress and inflammation in association with the Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 1118.
- [37] DEVI K P, MALAR D S, NABAVI S F, et al. Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine[J]. Pharmacological Research, 2015, 99: 1-10.
- [38] RAJENDRAN P, AMMAR R B, AL-SAEEDI F J, et al. Kaempferol inhibits Zearalenone-induced oxidative stress and apoptosis via the PI3K/Akt-mediated Nrf2 signaling pathway: *in vitro* and *in vivo* studies[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 22(1): 217.
- [39] ALÍA M, MATEOS R, RAMOS S, et al. Influence of quercetin and rutin on growth and antioxidant defense system of a human hepatoma cell line (HepG2)[J]. European Journal of Nutrition, 2006, 45(1): 19-28.
- [40] YAO X T, MEI Y B, MAO W Y. Quercetin improves mitochondrial function and inflammation in H₂O₂-induced oxidative stress damage in the gastric mucosal epithelial cell by regulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021, 2021: 1386078.
- [41] 王德才, 张显忠, 冯蕾. 白花前胡香豆素组分体外抗氧化活性研究[J]. 医药导报, 2008, 27(8): 899-901.
WANG Decai, ZHANG Xianzhong, FENG Lei. Antioxidative effects of total coumarins from *Peucedanum praeruptorum* dunn *in vitro*[J]. Herald of Medicine, 2008, 27(8): 899-901.
- [42] PAK E S, UDDIN M J, HA H. Inhibition of src family kinases ameliorates LPS-induced acute kidney injury and mitochondrial dysfunction in mice[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(21): 8246.
- [43] HAENDELER J, HOFFMANN J, DIEHL J F, et al. Antioxidants inhibit nuclear export of telomerase reverse transcriptase and delay replicative senescence of endothelial cells[J]. Circulation Research, 2004, 94(6): 768-775.
- [44] ZUEHLKE A D, BEEBE K, NECKERS L, et al. Regulation and function of the human HSP90AA1 gene[J]. Gene, 2015, 570(1): 8-16.
- [45] ZHANG H, HUANG J, FAN X S, et al. HSP90AA1 promotes the inflammation in human gingival fibroblasts induced by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide via regulating of autophagy[J]. BMC Oral Health, 2022, 22(1): 366.
- [46] KIM A H, KHURSIGARA G, SUN X, et al. Akt phosphorylates and negatively regulates apoptosis signal-regulating kinase 1[J]. Molecular and Cellular Biology, 2001, 21(3): 893-901.
- [47] 范元赫. 右归丸干预 Rap1 信号通路防治 KOA 的实验研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.
FAN Yuanhe. Experimental study on Yougui pill's intervention on Rap1 signal pathway to prevent and treat KOA[D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- [48] WANG H B, FOTHERINGHAM L, WITTCHEN E S, et al. Rap1 GTPase inhibits tumor necrosis factor- α -induced choroidal endothelial migration via NADPH oxidase-and NF- κ B-dependent activation of Rac1[J]. The American Journal of Pathology, 2015, 185(12): 3316-3325.
- [49] CORNELIUS D C, LAMARCA B. TH17-and IL-17-mediated autoantibodies and placental oxidative stress play a role in the pathophysiology of pre-eclampsia[J]. Minerva Ginecologica, 2014, 66(3): 243-249.

责任编辑:冯娜

收稿日期:2024-02-17