网络出版时间:2025-09-10 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.03.013

连翘苷-柚皮素抗 APAP 肝损伤的作用机制

张建辉,潘阳阳,蒲思思,刘慧敏,张倩,
王立斌,李亮,张志勇,王萌
(甘肃农业大学 动物医学院,甘肃 兰州 730070)

[摘 要] 【目的】探讨连翘苷-柚皮素(phillyrin-naringenin,PN)缓解对乙酰氨基酚(acetaminophen,APAP)诱导肝损伤的潜在作用机制。【方法】通过网络药理学筛选 PN 与药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)的交集靶点,将其导入 STRING 数据库进行蛋白互作网络分析筛选核心靶点,并对核心靶点进行 GO 和 KEGG 分析。分子对接验证 PN 与磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)、蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)、肿瘤蛋白 P53(tumor protein 53,P53)和细胞色素 P450 酶 2E1(cytochrome P450 2E1,CYP2E1)的亲和力。将小鼠随机分为空白对照组(normal control,NC)、APAP 组(APAP)、乙酰半胱氨酸组(N-acetylcysteine,NAC)、连翘苷-柚皮素低/中/高治疗组(low/medium/high dose PN treatnent,LPN/MPN/HPN),采用试剂盒检测不同处理小鼠谷丙转氨酶(alanine transaminase,ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)、N-乙酰基-对-苯醌亚胺(N-acetyl-p-benzoquinone imine,NAPQI)、谷胱甘肽(Glutathione,GSH)、超氧化物歧化酶(super oxide dismutase,SOD)和过氧化氢(hydrogen peroxide,H_2O_2)水平及丙二醛(malonaldehyde,MDA)含量,用显微镜观察小鼠肝组织病变,采用探针法检测小鼠肝脏 CYP2E1 活性,并用 Western blot 检测 CYP2E1、PI3K、AKT 和 P53 蛋白变化。【结果】①网络药理学筛选 PN 和 DILI 作用靶点分别为 426 和 2 576 个,PN 与 DILI 的交集靶点为 288 个,核心靶点为 37 个,且核心靶点集中在 PI3K/AKT 通路。分子对接结果表明,PN 与 PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 蛋白结合较强。②与 NC 组相比,APAP 组小鼠 ALT 和 AST 活性显著升高,显微观察发现小鼠肝组织有明显出血点与水肿情况;CYP2E1 蛋白表达显著上升,APAP 毒性产物 NAPQI 在肝组织中积累;谷胱甘肽和超氧化物歧化酶水平降低,MDA 和 H_2O_2 含量增加;PI3K/AKT 通路被抑制,P53 蛋白表达上调。与 APAP 组相比,LPN、HPN 和 MPN 组 ALT 和 AST 活性显著降低,肝组织水肿有所缓解;CYP2E1 蛋白表达水平和 NAPQI 水平降低,谷胱甘肽和超氧化物歧化酶水平升高,MDA 和 H_2O_2 含量降低,磷酸化 PI3K 和 AKT 蛋白表达水平升高,P53 蛋白表达水平降低。【结论】PN 可通过激活 PI3K/AKT 通路来抑制 APAP 代谢,缓解氧化应激,治疗 APAP 诱导的 DILI。

[关键词] 连翘苷-柚皮素;氧化应激;药物性肝损伤;PI3K/AKT 通路
[中图分类号] S853.74 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)03-0121-12

Effect of phillyrin-naringenin combination against APAP liver injury

ZHANG Jianhui, PAN Yangyang, PU Sisi, LIU Huimin, ZHANG Qian,
WANG Libin, LI Liang, ZHANG Zhiyong, WANG Meng
(*College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu* 730070, *China*)

Abstract: 【Objective】 This research aims to explore the effects of phillyrin-naringenin (PN) combination on alleviating the liver injury induced by acetaminophen (APAP). 【Method】 Intersecting targets of PN

[收稿日期] 2024-11-22 [修回日期] 2025-04-07
[基金项目] 国家自然科学基金项目(32160850,32160859)
[作者简介] 张建辉(2000—),男,甘肃定西人,在读硕士,主要从事兽医药理与新兽药研发。E-mail:zjh50042023@163.com
[通信作者] 王萌(1984—),女,山东淄博人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事兽医药理与新兽药开发研究。
E-mail:wangmeng@gsau.edu.cn

and drug-induced liver injury (DILI) were screened by network pharmacology method. These targets were imported into the STRING database for protein-protein interaction (PPI) network analysis to identify core targets. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analyses were performed on the core targets. Molecular docking was conducted to validate the binding affinity of PN with phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (AKT), tumor protein P53 (P53), and cytochrome P450 2E1 (CYP2E1). The mice were randomly divided into normal control group (NC), APAP group (APAP), N-acetylcysteine group (NAC), low/medium/high dose PN treatment (LPN/MPN/HPN). Serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), and hydrogen peroxide (H_2O_2) were measured by commercial assay kits. Liver histopathological changes were evaluated by microscopic observation. CYP2E1 activity in the liver was determined by a fluorescent probe-based method. Protein expression levels of CYP2E1, PI3K, AKT, and p53 were analyzed by Western blot. 【Result】① Network pharmacology screening identified 426 potential targets of PN and 2 576 targets associated with DILI, with 288 overlapping targets between PN and DILI. Among these, 37 core targets were significantly enriched in the PI3K/AKT signaling pathway. Molecular docking results demonstrated that PN exhibited strong binding affinities to PI3K, AKT, P53, and CYP2E1. ② Compared with NC group, the activity of ALT/AST in APAP group was significantly increased, and there were obvious bleeding points and edema in liver tissue under microscopic observation. CYP2E1 protein expression level/enzyme activity increased significantly, and APAP toxic product NAPQI accumulated in liver tissue. The levels of GSH and SOD were decreased, and the contents of MDA and H_2O_2 were increased. The PI3K/AKT pathway was inhibited and the expression of P53 protein was up-regulated. Compared with APAP group, LPN, HPN and MPN could significantly reduce ALT/AST activity and alleviate liver tissue edema. CYP2E1 protein expression/enzyme activity and NAPQI levels were decreased, the levels of GSH and SOD were increased, and the accumulation of MDA and H_2O_2 was decreased. The expression level of p-PI3 K and p-AKT protein was increased, and the expression level of P53 protein was decreased. 【Conclusion】 PN exerts its hepatoprotective effects by activating the PI3K/AKT pathway, thereby inhibiting APAP metabolism (reducing toxic metabolite accumulation) and alleviating oxidative stress, ultimately offering a therapeutic strategy against APAP-induced DILI.

Key words: phillyrin-naringenin; oxidative stress; drug-induced liver injury (DILI); PI3K/AKT pathway

网络药理学是将网络分析与药理学相结合解释药物作用机制的方法[1],可在可能的靶点设定后,系统地分析药物单体与靶标蛋白之间的关系。分子对接则可以计算分子之间的亲和力,模拟分子之间的相互作用[2],现已广泛应用于药物开发领域。连翘苷-柚皮素(phillyrin-naringenin,PN)单体均具有羟基和苯环,可与靶标蛋白的氨基酸残基和疏水区域形成氢键和疏水作用力,符合分子对接所需单体的特点[3]。研究者通过网络药理学与分子对接发现柚皮素(naringenin,NE)、木犀草素(luteolin,Lut)、山萘酚(kaempferol,KF)、连翘脂苷 A(forsythoside A,FA)和槲皮素(quercetin,Que)均可缓解肝损伤[4-8]。所以网络药理学与分子对接适用于探究 PN 对药物性肝损伤(drug-induced liver injury,DILI)的作用机制。

对乙酰氨基酚(acetaminophen,APAP)是一种广泛使用的解热镇痛药物,过量 APAP 可导致 DILI,严重时可引起急性肝衰竭(acute liver failure,ALF)[9-11]。APAP 进入肝脏后被细胞色素 P450 酶 2E1(cytochrome P450 2E1,CYP2E1)代谢并生成 N-乙酰基-对-苯醌亚胺(N-acetyl-p-benzoquinone imine,NAPQI)[12-13],引起肝细胞氧化应激,进而造成肝脏损伤[14]。

连翘(*Forsythia suspensa* (Thunb.) *VahI* 具有护肝作用[15]。本研究团队前期通过体内外试验验证了连翘叶提取物中的连翘苷(phillyrin,PH)、NE、Lut、KF、FA、Que 均可以减轻肝损伤,缓解氧化应激[16-17],且通过正交试验结合体外试验研究发现,当 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que 的质量比为

4∶4∶2∶2∶1∶1 时，其抗 APAP 诱导肝损伤的效果最好。已有研究表明，PH 可通过磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B（phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B，PI3K/AKT）通路抗氧化应激[18]；NE 和 Que 通过上调抗氧化物酶表达增强抗氧化防御能力来抗肝损伤[19]；Lut 和 KF 通过抑制 CYP2E1 酶的表达来增强抗氧化能力，从而保护肝脏[16-17,20]；FA 可通过调节 PI3K/AKT 通路诱导抗氧化酶基因表达来治疗 APAP 诱导的肝损伤[2,21]。但关于 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que 等 6 种单体组合是否有抗 APAP 肝损伤的作用尚未见报道。因此，本研究利用网络药理学与分子对接相结合的方法，筛选 PN 治疗 APAP 诱导 DILI 的核心靶点及其通路，并通过体内试验验证 PN 的作用机制并评价其药效，以期为治疗 DILI 新药物的研发提供依据。

1　材料与方法

1.1　试验动物

4 周龄 48 只无特定病原体（specific pathogen-free，SPF）昆明白鼠，雌雄各半，体质量为（20±3）g/只，购自中国农业科学院兰州兽医研究所，饲养于甘肃农业大学动物医学院实验室，适量饲水饲料。动物试验经甘肃农业大学伦理委员会批准。

1.2　药品与试剂

单体 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que，均购自上海源叶生物科技有限公司；APAP 购自阿拉丁化学公司；谷丙转氨酶（alanine transaminase，ALT）、谷草转氨酶（aspartate aminotransferase，AST）、谷胱甘肽（Glutathione，GSH）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、丙二醛（malonaldehyde，MDA）和过氧化氢（hydrogen peroxide，H_2O_2）检测试剂盒，均购自南京建成生物工程研究所；NAPQI 含量 ELISA 检测试剂盒，购自上海化邦生物；脱脂奶粉、牛血清白蛋白（bovine serum albumin，BSA）、RIPA 细胞/组织高效裂解液、蛋白酶抑制剂、4×蛋白上样缓冲 Buffer 和 BCA 蛋白定量试剂盒，均购自北京索莱宝科技有限公司；磷酸酶抑制剂，购自北京博奥森生物技术有限公司；ECL 化学发光超敏显色试验盒，购自上海翊圣生物科技有限公司；甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）、CYP2E1、PI3K、AKT 和 p-AKT 抗体，均购自武汉三鹰生物技术有限公司；p-PI3K 抗体，购自亲科生物研究中心有限公司；肿瘤蛋白 P53（tumor protein 53，P53）抗体，购自北京博奥森有限公司；线粒体 A 液（甘露醇、蔗糖、羟乙基哌嗪乙硫磺酸、Tris-HCl 和 EDTA 按一定比例配制）、线粒体 B 液（甘露醇、蔗糖、Tris-HCl 和 EDTA 按一定比例配置）、NADPH 再生系统（NADP，6-磷酸葡萄糖，六水合氯化镁，按一定比例溶于 PBS 溶液中）、4-硝基苯酚、4-硝基儿茶酚、6-磷酸葡萄糖、6-磷酸葡萄糖脱氢酶和三氯乙酸（Trichloroacetic acid，TCA），均购自 Sigma 公司。

取 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que，按质量比 4∶4∶2∶2∶1∶1 混合后溶于生理盐水中，分别配制 1.7，3.3 和 6.7 mg/mL 药液备用。

1.3　PN 与 DILI 交集靶点的网络药理学分析

1.3.1　*PN 靶点与 DILI 靶点的获取*　将 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que 分别输入 TCMSP（https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php）数据库和 HIT 2.0（https://www.badd-cao.net:2345/）数据库，获得单体靶点，然后导入 uniprot（https://www.uniprot.org/）数据库转化为基因名称；以上述 6 种单体 CAS 号为搜索条件，结合 Pubmed（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）数据库获取单体的 SMILES 号，并导入 Swiss target prediction（http://swisstargetprediction.ch/）数据库，物种选择“Homo sapiens”预测相关靶点。将所有单体的靶点整理、去除重复得到 PN 的潜在靶点。以 DILI 为搜索条件从 Genecards（https://www.genecards.org/）数据库和 OMIM（https://www.omim.org/）数据库获取与 DILI 有关的疾病靶点。

1.3.2　*蛋白互作网络构建及核心靶点筛选*　将 PN 的潜在靶点与 DILI 靶点导入在线工具 VENNY2.1，利用韦恩图求得其交集靶点集，将交集靶点导入 STRING（https://cn.string-db.org/）数据库，物种选择“Homo sapiens”，置信度选择 0.9 并将其聚类，隐藏无连接的节点，得到蛋白之间的网络关系图。设置筛选条件为 Closeness、Betweenness 和 Degree，利用 Cytoscape 9.1 软件进行核心靶点筛选。

1.3.3　*GO 功能富集与 KEGG 通路分析*　通过 DAVID（https://david.ncifcrf.gov/）数据库分析交集靶点集，选择 OFFICIAL-GENE-SYMBOL，Homo sapiens，Gene list 等条件进行 GO 功能富集与 KEGG 通路分析，寻找相关通路。

1.3.4　*药物-核心靶点-信号通路可视化网络构建*　收集 KEGG 相关通路、核心靶点，运用 Cytoscape 3.9.1 构建药物-核心靶点-信号通路网络可视化分析图，利用软件分析得出药物作用疾病的通路及相

关核心靶点。

1.3.5 6种单体与PI3K、AKT、P53和CYP2E1蛋白亲和力的分子对接验证 将PI3K(PDB ID:5GJI)、AKT(PDB ID:1UNQ)、P53(PDB ID:3D06)和CYP2E1(PDB ID:3E6I)分别与PH、NE、Lut、KF、FA和Que进行分子对接验证。在Pubchem数据库查找药物小分子的2D结构,通过ChemOffice将2D结构转化为3D结构。以Uniprot数据库和PDB数据库为基础,收集关键靶点的3D结构。利用AutoDock Tools软件对药物小分子和蛋白大分子加氢去水,设置对接盒子运行软件进行对接,将对接得到的PDBQT文件通过Pymol进行可视化分析。

1.4 PN对APAP肝损伤的治疗作用

1.4.1 动物分组与给药方案 将48只无特定病原体昆明白鼠随机分为6组,每组8只,分别为:(1)空白对照组(normal control,NC):腹腔注射生理盐水15 mL/kg,每天2次;(2)APAP组(APAP):APAP溶于生理盐水得到350 mg/kg溶液,腹腔注射350 mg/kg APAP溶液15 mL/kg,每天1次;(3)乙酰半胱氨酸组(NAC):APAP组小鼠腹腔注射APAP 2 h后,再腹腔注射50 mg/kg NAC溶液15 mL/kg,每天1次;(4)连翘苷-柚皮素低剂量治疗组(LPN):APAP组小鼠腹腔注射APAP 2 h后,灌胃25 mg/kg PN溶液15 mL/kg,每天1次;(5)连翘苷-柚皮素中剂量治疗组(MPN):APAP组小鼠腹腔注射APAP 2 h后,灌胃50 mg/kg PN溶液15 mL/kg,每天1次;(6)连翘苷-柚皮素高剂量治疗组(HPN):APAP组小鼠腹腔注射APAP 2 h后,灌胃100 mg/kg PN溶液15 mL/kg,每天1次。APAP组给药后24 h腹腔注射100 g/L水合氯醛(2 mL/kg)麻醉小鼠,心脏采血,于4 ℃、3 000 r/min离心10 min,收集血清并于-80 ℃储存。小鼠处死后收集肝组织,其中0.5 g肝脏用于提取线粒体,0.5 g肝脏用于检测氧化应激指标和NAPQI含量,剩余肝脏的2/3保存于-80 ℃用于提取蛋白,另外1/3固定在40 g/L多聚甲醛中备用。

1.4.2 谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性检测 使用ALT和AST检测试剂盒,根据使用说明书检测血清ALT和AST活性。

1.4.3 组织病理学观察 取1 cm^3用40 g/L多聚甲醛固定的肝脏组织,置于水中冲洗,石蜡包埋并切片,切片厚度为5 μm,HE染色,光学显微镜下观察肝脏组织病理变化。

1.4.4 PN对肝损伤小鼠CYP2E1水平及活性的影响 小鼠肝脏线粒体制备。取适量新鲜肝脏,用预冷的生理盐水冲洗至土黄色,组织研磨成匀浆。按质量体积比1∶4加入线粒体A液,4 ℃、2 200 *g*离心15 min,取上清;再按质量体积比1∶1加入线粒体B液,4 ℃、12 000 *g*离心30 min,取沉淀即得肝脏线粒体,加入甘油Tris-HCl备用。

采用Western blot法检测CYP2E1蛋白表达水平。称取小鼠肝脏样品50 mg,加入500 μL裂解体系(蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂、RIPA裂解液混合液)充分裂解,4 ℃、12 000 r/min离心5 min,取上清测定蛋白浓度并变性。110 V恒压下进行SDS-PAGE电泳、转膜,用50 g/L脱脂奶粉孵育3 h,换用CYP2E1(1∶2 000)、GAPDH(1∶8 000,内参蛋白)多克隆抗体4 ℃孵育过夜,PBST缓冲液摇洗1 h,室温孵育羊抗兔(1∶8 000)二抗1 h,PBST缓冲液摇洗1 h,将PVDF膜置于凝胶成像仪后加入ECL化学发光液检测目的蛋白,使用Image J分析显影结果,计算目的蛋白与内参蛋白灰度值的比值,得到目的蛋白表达量。

CYP2E1活性检测。配制浓度分别为0.125,0.250,0.500,1.0,2.0 mmol/L 4-硝基儿茶酚,替换孵育体系中的4-硝基苯酚,于535 nm处测样品吸光度,建立4-硝基儿茶酚浓度标准曲线。将线粒体稀释液加入500 μL孵育体系中(PBS 440 μL、NADP再生系统25 μL、6-磷酸葡萄糖脱氢酶5 μL、4-硝基苯酚10 μL、线粒体稀释液20 μL),37 ℃孵育40 min,TCA终止反应后加NaOH显色,于535 nm处测吸光度,基于标准曲线计算CYP2E1活性。

1.4.5 代谢产物NAPQI含量检测 根据ELIAS检测试剂盒说明书检测NAPQI含量。

1.4.6 氧化应激指标检测 取100 mg新鲜肝脏样品,制备成100 g/L组织匀浆,4 ℃、4 000 r/min离心10 min,取上清,按照检测试剂盒说明书检测GSH、MDA和H_2O_2含量以及SOD活性。

1.4.7 PN对PI3K、AKT、P53表达的影响 采用Western blot法检测PN对PI3K、AKT和P53表达的影响。使用1.4.4节所变性的蛋白样品,110 V恒压下进行SDS-PAGE电泳、转膜,用50 g/L脱脂奶粉或BSA室温孵育3 h,换用PI3K(1∶5 000)、AKT(1∶6 000)、磷酸化PI3K(p-PI3K,1∶3 000)、磷酸化AKT(p-AKT,1∶5 000)、P53(1∶2 000)、和GAPDH(1∶8 000,内参蛋白)多克隆抗体4 ℃孵育过夜,TBST缓冲液摇洗1 h,室温孵育羊抗兔(1∶8 000)、羊抗鼠(1∶3 000)二抗1 h,

TBST 缓冲液摇洗 1 h，将 PVDF 膜置于凝胶成像仪后加入 ECL 化学发光液检测目的蛋白，使用 Image J 分析显影结果，计算目的与内参蛋白灰度值的比值，得到目的蛋白的相对表达量。

1.5　数据处理与分析

使用 Image J 软件分析蛋白表达水平，采用 SPSS 27.0 对试验数据差异显著性进行单因素方差分析（ANOVA），采用 GraphPad Prism 6.02 绘图。

2　结果与分析

2.1　PN 及 DILI 的潜在靶点

PN 在不同数据库的潜在靶点数如表 1 所示。

表 1　PN 在不同数据库的潜在靶点数

Table 1　Number of potential targets of PN in different databases

数据库 Database	连翘苷 Phillyrin	柚皮素 Naringenin	木犀草素 Luteolin	山柰酚 Kaempferol	连翘脂苷 A Forsythoside A	槲皮素 Quercetin	合计 Total
TCMSP	0	0	55	58	0	146	259
HIT2.0	2	20	76	42	2	201	343
Swiss target prediction	7	100	104	104	18	104	437

由表 1 可知，PN 涉及单体在 TCMSP、HIT 2.0 和 Swiss target prediction 数据库分别得到 259，343 和 437 个潜在靶点，PN 所有单体潜在靶点去除重复，得到 PN 潜在靶点 426 个。以 DILI 为搜索条件可从 Genecards 和 OMIM 数据库分别得到 2 489 和 98 个靶点，去除重复后得到 2 576 个 DILI 潜在靶点。

2.2　PN 与 DILI 交集靶点的筛选

利用韦恩图求 PN 与 DILI 潜在靶点的交集，得到其交集靶点集。结果（图 1）显示，PN 与 DILI 有 288 个交集靶点。

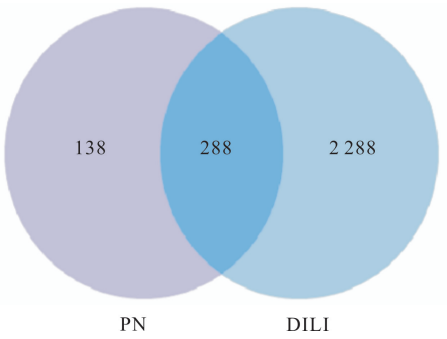


图 1　PN 与 DILI 交集靶点的韦恩图

Fig. 1　Venn diagram of the intersection target of PN and DILI

2.3　蛋白互作网络构建及核心靶点的筛选

将 PN 与 DILI 的交集靶点导入 STRING 数据库进行蛋白互作（protein-protein interaction，PPI）网络分析，隐藏无连接的节点，通过网络统计分析得到 PPI 网络节点数 288 个，边数 1 232 条，PPI 富集 $P<0.01$，平均节点度数 8.56。导出 STRING 文件，并利用 Cytoscape 9.1 软件设置筛选条件为 Closeness unDir：0.001348639963655824 2、Betweenness unDir：525.8436213991773 和 Degree unDir：10.08230452674897，筛选核心靶点，删除无连接的靶点，得到 37 个核心靶点，其中 Degree 值排名前 20 的核心靶点为 TP53、STAT3、AKT1、SRC、JUN、HSP90AA1、TNF、ESR1、CTNNB1、EGFR、IL6、MYC、MAPK3、NFKB1、MAPK1、PIK3CA、PIK3R1、CASP3、BCL2 和 IL1B。

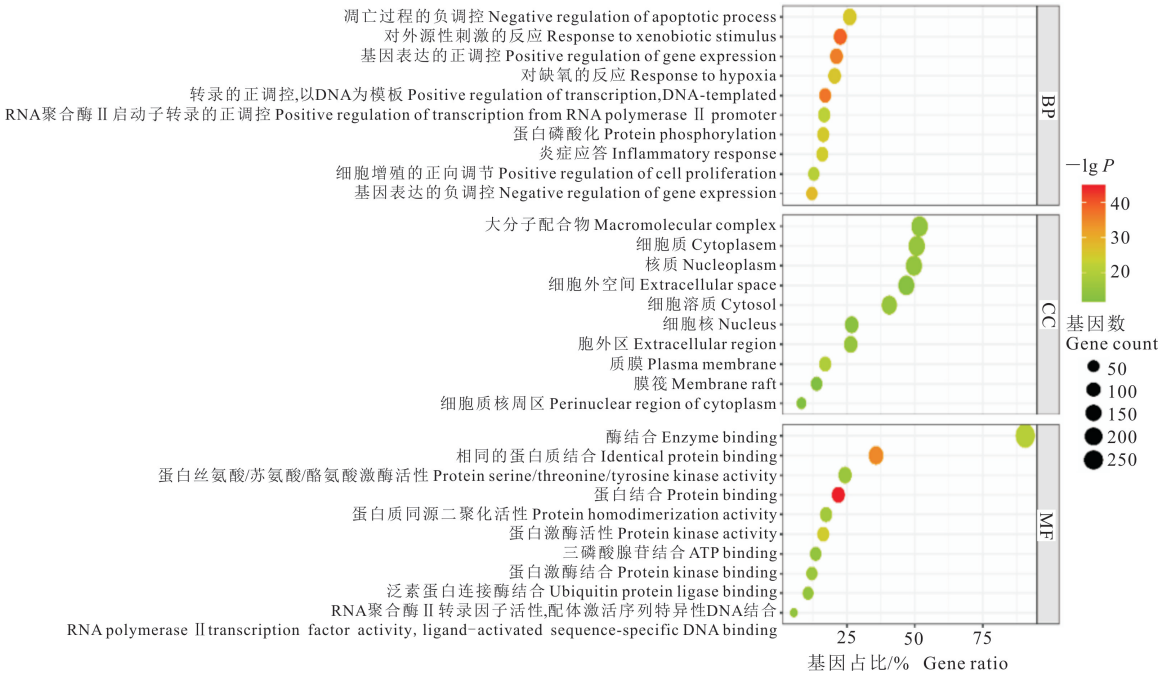
2.4　GO 功能富集与 KEGG 通路分析

将 PN 与 DILI 的交集靶点导入 DAVID（https://david.ncifcrf.gov/）数据库进行 GO 功能富集分析。通过 P 值筛选分析生物过程、细胞组分和分子功能的前 10 项条目，结果如图 2 所示。其中涉及对外源生物刺激的反应、蛋白磷酸化、基因表达的负调控和炎症应答等生物过程；细胞质、核质、细胞核和质膜等细胞组分；蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、蛋白激酶活性、三磷酸腺苷结合和蛋白激酶结合等分子功能（图 2）。

为了探究 PN 治疗 DILI 的通路机制，进行 KEGG 通路分析，结果如图 3 所示。图 3 表明，PI3K/AKT、TNF 等信号通路与 PN 治疗 DILI 有关。

2.5　药物-核心靶点-信号通路网络的构建

通过 Cytoscape 9.1 软件构建药物-核心靶点-信号通路网络，结果如图 4 所示。由图 4 可知，导入药物单体、核心靶点、PI3K/AKT 和 TNF 通路数据，利用 Network Analyzer 插件分析后，以核心靶点 Degree 值与信号通路相关性进行筛选，即 Degree 大小与相关性成正比，选取 PN 作用于 DILI 的信号通路为 PI3K/AKT，核心靶点是 AKT1（AKT 亚型）、PIK3R1（PI3K 的调控亚基 p85α）和 TP53（P53）。



BP. 生物过程;CC. 细胞组分;MF. 分子功能。

BP. Biological processes;CC. Cell components;MF. Molecular function.

图 2 PN 与 DILI 交集靶点 GO 功能分析气泡图

Fig. 2 PN and DILI intersection targets GO functional analysis bubble chart

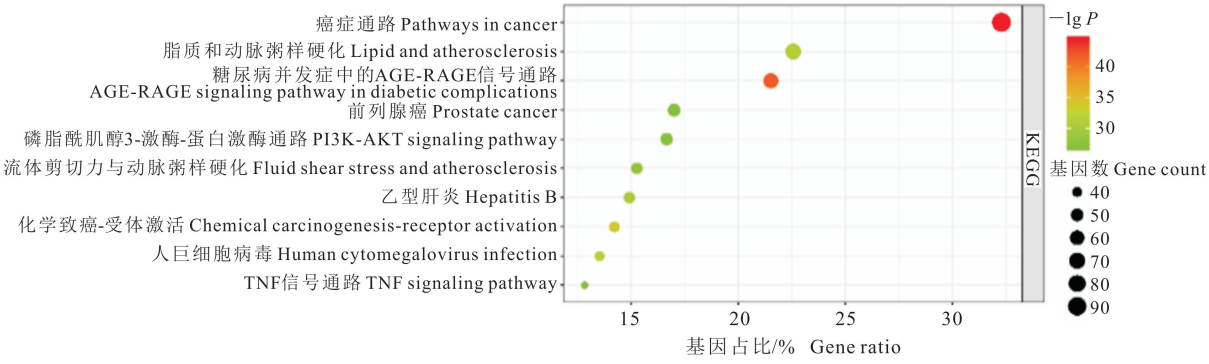


图 3 PN 与 DILI 交集靶点 KEGG 通路气泡图

Fig. 3 KEGG pathway bubble chart of PN and DILI intersection targets

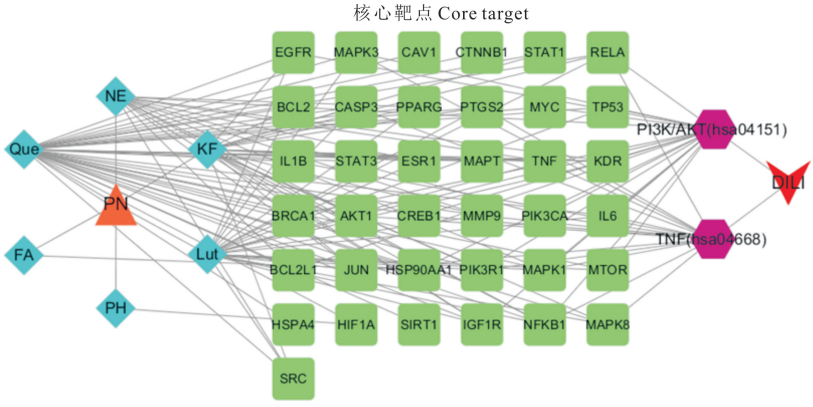


图 4 PN 治疗 DILI 的药物-核心靶点-信号通路网络图

Fig. 4 Drugs-core targets-signaling pathways network diagram of PN treatment DILI

2.6　6 种 PN 单体与 PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 的亲和力

利用 AutoDock Tools 软件将 PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 分别与药物单体 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que 进行分子对接，计算配体小分子与受体大分子之间的亲和力，结果（表 4）显示，PN 单体与 PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 的对接能量均小于 −5.02 kJ，表明 PN 单体与 PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 结合较强。

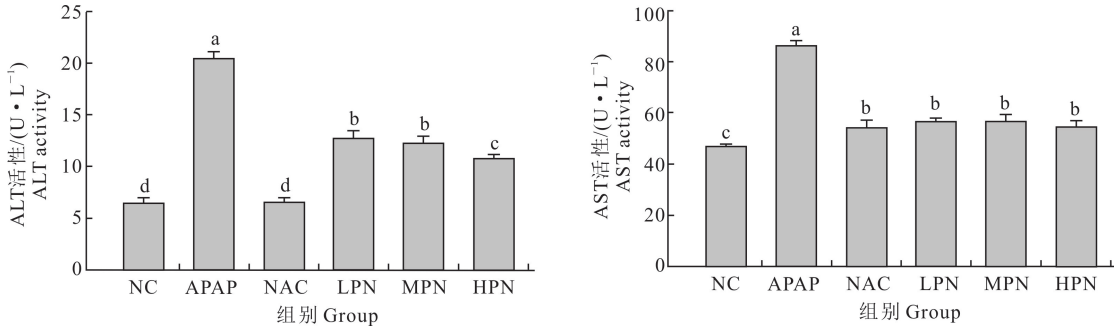
表 2　PN 单体与 PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 的亲和力

Table 2　Affinity of PN monomer to PI3K, AKT, P53, and CYP2E1　　kJ/mol

项目 Item	连翘苷 Phillyrin	柚皮素 Naringenin	木犀草素 Luteolin	山柰酚 Kaempferol	连翘脂苷 A Forsythoside A	槲皮素 Quercetin
PI3K	−16.41	−25.33	−25.71	−24.49	−13.36	−23.66
AKT	−14.91	−22.11	−23015	−19.97	−13.31	−17.17
P53	−20.05	−23.74	−24.41	−21.02	−9.67	−21.60
CYP2E1	−12.52	−18.67	−21.02	−21.52	−7.29	−20.93

2.7　PN 对 APAP 诱导小鼠肝损伤的治疗作用

2.7.1　对 ALT 和 AST 活性的影响　转氨酶是肝功的主要指标，PN 对肝损伤小鼠体内 ALT 和 AST 活性的影响如图 5 所示。由图 5 可知，与空白对照组（NC）相比，APAP 作用后小鼠血清中 ALT 和 AST 活性显著升高，表明小鼠肝受到损伤。与 APAP 组相比，给予 PN 治疗后，小鼠血清中 ALT 和 AST 活性显著降低，表明 PN 治疗缓解了 APAP 诱导的肝损伤。从图 5 还可知，随着 PN 剂量的增加，小鼠血清中 ALT 活性显著下降，AST 活性无显著变化。上述结果表明，PN 降低了小鼠血清中 ALT 和 AST 活性，缓解了 APAP 诱导的肝损伤。



图柱上标不同小写字母表示不同处理间差异显著（$P<0.05$）。下同。

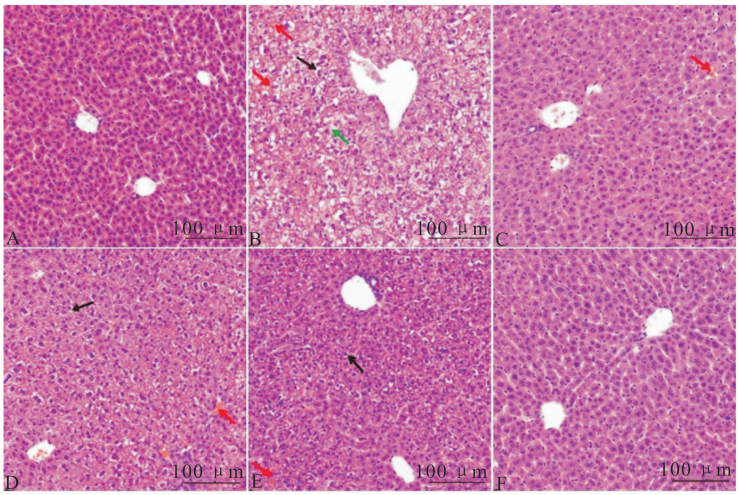
Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments ($P<0.05$). The same below.

图 5　PN 对肝损伤小鼠体内 ALT 和 AST 活性的影响

Fig. 5　Effects of PN combination on ALT and AST activity in mice with liver damage

2.7.2　组织病理学观察　不同处理小鼠肝脏组织 HE 染色结果如图 6 所示。由图 6 可知，与 NC 组相比，APAP 作用后小鼠肝脏组织广泛可见水肿变性，细胞质疏松淡染，肝窦有少量红细胞沉积，肝索基本消失，说明肝脏受到严重损伤。与 APAP 组相比，给予 PN 药物治疗后，LPN 和 MPN 组小鼠肝细胞水肿减轻，红细胞沉积减少；HPN 组小鼠肝板断面呈整齐的锁状，核大，细胞质丰富。表明 PN 治疗缓解了 APAP 诱导的肝损伤，肝组织病理变化减轻程度具有 PN 剂量依赖性。

2.7.3　对 CYP2E1 水平及其活性的影响　CYP2E1 是 APAP 的主要代谢酶，PN 对肝损伤小鼠 CYP2E1 表达及活性的影响如图 7 所示。由图 7 可知，与 NC 组相比，APAP 处理小鼠 CYP2E1 表达及活性显著上升，表明 APAP 组小鼠肝代谢功能异常。与 APAP 组相比，给予 PN 治疗后，LPN、MPN 和 HPN 组小鼠 CYP2E1 表达水平及活性显著下降，说明 LPN、MPN 和 HPN 组小鼠恢复了肝脏代谢功能。由图 7 还可知，PN 剂量由低到高，CYP2E1 表达无显著差异，但 CYP2E1 活性下降程度具有剂量依赖性。表明 PN 降低了小鼠 CYP2E1 表达与活性，恢复了肝脏代谢，且 CYP2E1 活性降低具有 PN 剂量依赖性。



A. NC 组;B. APAP 组;C. NAC 组;D. LPN 组;E. MPN 组;F. HPN 组;黑色箭头. 水肿变性;绿色箭头. 肝板;红色箭头. 红细胞。

A. NC group;B. APAP group;C. NAC group;D. LPN group;E. MPN group;F. HPN group;Black arrow. Edema degeneration;Green arrow. Hepatic plate;Red arrow. Red blood cells.

图 6 PN 对肝损伤小鼠肝脏组织病理变化的影响(×200)

Fig. 6 Effects of PN on histopathological changes in liver tissue of mice with liver damage(×200)

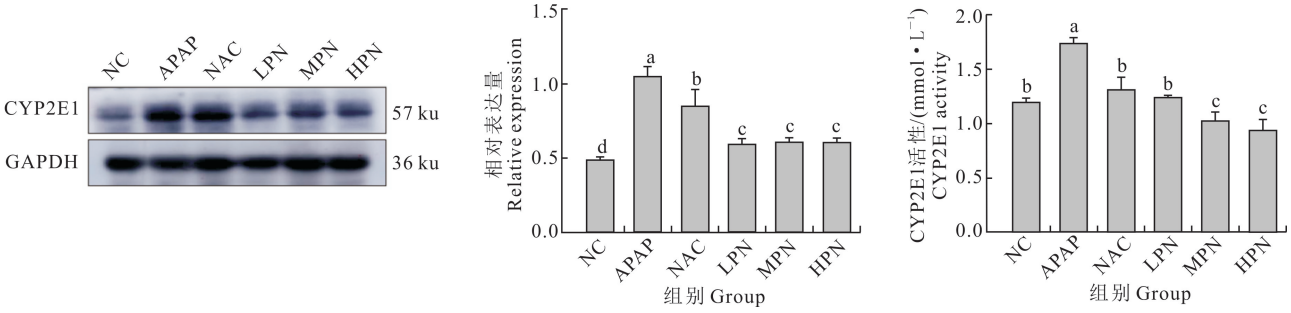


图 7 PN 对肝损伤小鼠 CYP2E1 表达及活性的影响

Fig. 7 Effects of PN on CYP2E1 expression and activity in mice with liver injury

2.7.4 对 NAPQI 积累的影响 NAPQI 是 APAP 经 CYP2E1 代谢后的毒性产物,PN 对肝损伤小鼠体内 NAPQI 含量的影响如图 8 所示。

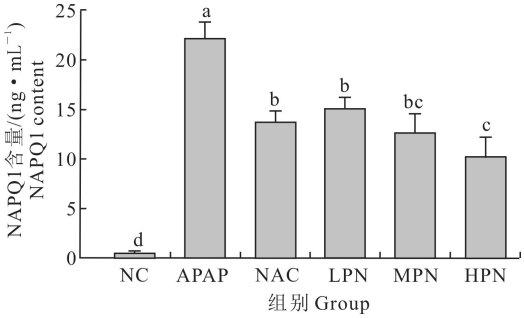


图 8 PN 对肝损伤小鼠体内 NAPQI 含量的影响

Fig. 8 Effects of PN combination on NAPQI content in mice with liver damage

由图 8 可知,与 NC 组相比,APAP 作用后小鼠体内 NAPQI 含量显著升高,说明毒性产物 NAPQI 积累,肝脏受到损伤。与 APAP 组相比,给与 PN 治疗后,LPN、MPN 和 HPN 组肝脏组织中 NAPQI 含量显著降低,说明 PN 降低了 NAPQI 积累,缓解了因毒性产物导致的肝损伤;NAPQI 含量变化具有 PN 剂量依赖性。

2.7.5 对氧化应激的影响 PN 对肝损伤小鼠体内氧化应激水平的影响如图 9 所示。SOD 和 GSH 是抗氧化物,可清除体内有害自由基。MDA 和 H_2O_2 分别是氧化应激标志物和产物。由图 9 可知,与 NC 组相比,APAP 作用后小鼠体内 GSH 和 SOD 水平显著降低,MDA 和 H_2O_2 含量显著升高,说明发生了氧化应激。与 APAP 组相比,给予 PN 治疗后,LPN、MPN 和 HPN 组小鼠体内 GSH 水平显著上升,SOD 活性显著增强,MDA 与 H_2O_2 含量显著降低,说明 PN 缓解了 APAP 诱导的氧化应激。

2.7.6 对核心靶点 PI3K、AKT 和 P53 表达的影响

由图 10 可知,与 NC 组相比,APAP 作用后 PI3K 和 AKT 在肝脏中的表达量(分别用 p-PI3K/PI3K 和 p-AKT/AKT 表示)显著降低,而 P53 蛋白的表达量升高,说明 APAP 可抑制 PI3K/AKT 通路,激

活 P53 蛋白的表达。与 APAP 组相比，给予 PN 治疗后，LPN、MPN 和 HPN 组小鼠 PI3K 和 AKT 的表达量显著升高，P53 的表达量显著降低，说明 PN 可激活 PI3K/AKT 通路，抑制 P53 蛋白的表达。上述结果表明，PN 可能通过激活 PI3K/AKT 通路以及抑制 P53 表达来治疗 APAP 诱导的肝损伤。

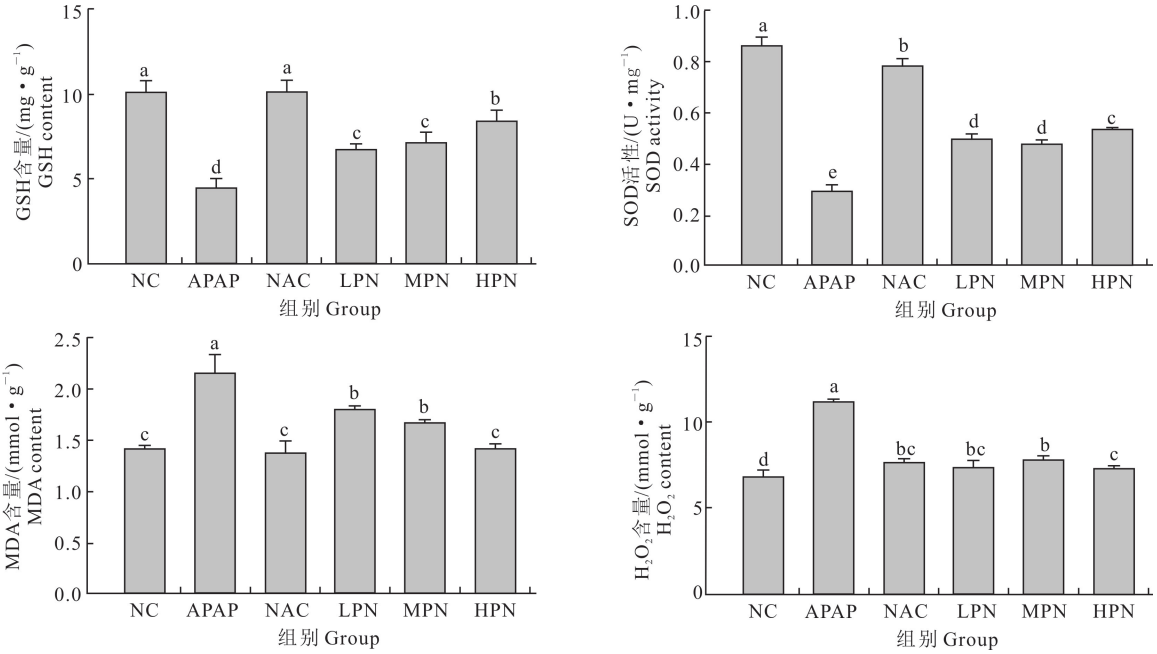


图 9　PN 对肝损伤小鼠体内氧化应激水平的影响

Fig. 9　Effects of PN combination on oxidative stress level in mice with liver damage

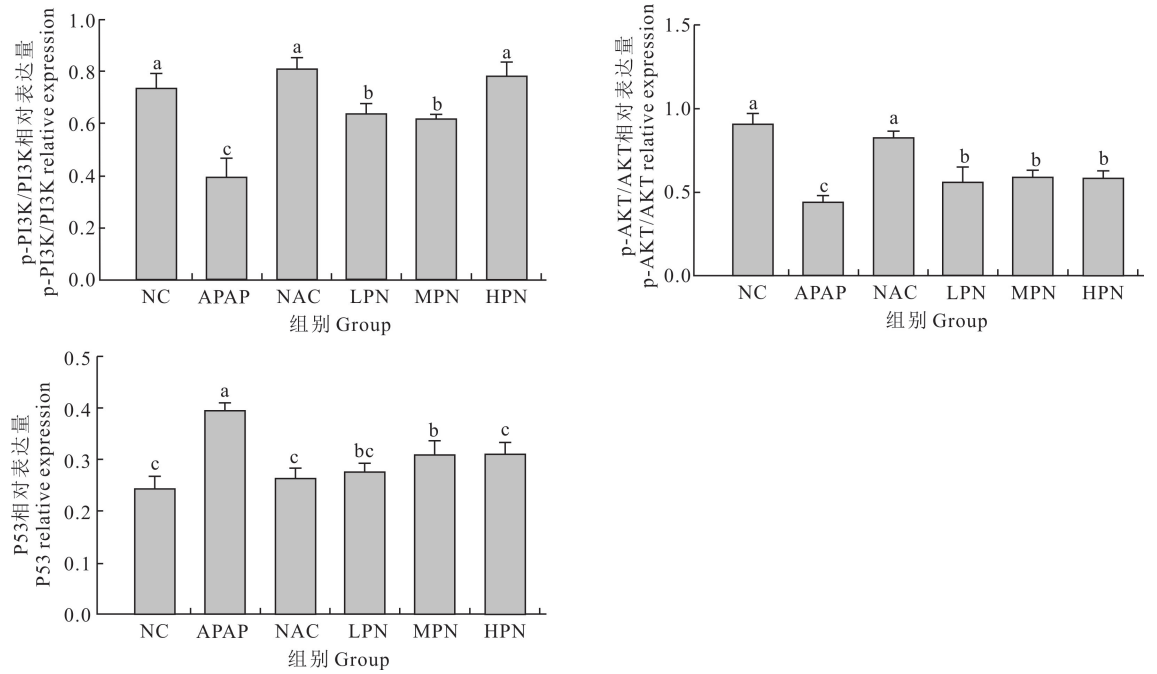


图 10　PN 对肝损伤小鼠 PI3K/AKT 通路蛋白表达的影响

Fig. 10　Effects of PN combination on the expression of PI3K/AKT pathway protein in mice with liver injury

3　讨　论

网络药理学分析发现，PN 可通过影响凋亡过程的负调控、蛋白磷酸化、炎症反应、AKT 信号的正向调节等途径在 DILI 中发挥治疗作用，与这些过程相关的有 PI3K/AKT 和 TNF 等通路，进一步结合 STRING 数据库和 Cytoscape 软件筛选发现，与 TNF 信号通路相比，PI3K/AKT 信号通路评分更高，可能是 PN 治疗 DILI 的关键通路。ZHAI 等[22]通过网络药理学分析发现，PI3K/AKT 参与治疗

DILI 过程,与本研究结果相一致。本试验构建药物-核心靶点-信号通路网络图,发现 PI3K、AKT 和 P53 共 3 个靶点与 PN 治疗 DILI 的过程相关。一般认为,结合能低于-5.02 kJ/mol 表明有较强的结合活性[23],本研究分子对接验证结果表明,PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 与 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que 的对接能量均小于-5.02 kJ/mol,表明小分子配体与蛋白大分子受体之间有很好的亲和性。因此推测 PN 可通过 PI3K、AKT、P53 和 CYP2E1 及 PI3K/AKT 通路来治疗 DILI。

血清中 ALT/AST 活性是评价肝功的金指标[24],APAP 诱导 DILI 时,ALT/AST 活性显著升高[25]。而药物 NE、Lut、KF、FA 和 Que 均可以降低 APAP 诱导肝损小鼠血清中 ALT/AST 含量[2,20,26-28];且药物 PH、NE、Lut、KF、FA 和 Que 可改善 APAP 诱导的肝细胞水肿[2,20,26-27,29]。本研究发现,APAP 升高了 ALT/AST 活性,PN 可逆转 APAP 对转氨酶的上调作用。HE 染色结果显示,PN 处理减轻了 APAP 诱导的肝脏组织病变,这与前人的研究结果[2,20,26-29]一致,表明 PN 对肝脏有一定的保护作用。

研究表明,APAP 使用过量会导致 CYP450 家族成员 CYP2E1 表达上升,并将 APAP 氧化为 NAPQI,NAPQI 的大量积累会使抗氧化剂耗竭,导致氧化应激,降低 CYP2E1 活性,减少代谢产物 NAPQI 过量积累均可以减轻 APAP 引起的肝损伤[30-34]。还有研究表明,NE、Lut、KF 可抑制 CYP2E1 的表达[16-17,20,35];Que 可通过抑制 CYP2E1 活性减少 NAPQI 的产生,从而缓解 APAP 诱导的肝损伤[29]。本试验结果发现,PN 可通过降低 CYP2E1 的表达与活性以及 NAPQI 的积累来缓解肝损伤,表明 PN 可通过影响代谢来改善 APAP 诱导的肝损伤。

据报道,APAP 诱导肝损伤后,肝细胞发生氧化应激,脂质过氧化增强,进而导致肝脏 SOD 和 GSH 水平降低,MDA 和 H_2O_2 含量上调[16,30]。已有研究表明,PH、Lut 和 Que 均可抑制 MDA 和 H_2O_2 升高,上调 GSH 和 SOD 水平,缓解因肝损伤引起的氧化应激[16,18-19]。本研究结果发现,PN 可恢复 APAP 抑制的抗氧化物 GSH 和 SOD 水平降低,减少氧化标志物 MDA 和产物 H_2O_2 的含量,这与前人研究结果[16,18-19,30]一致,表明 PN 可通过改善氧化应激来缓解 APAP 诱导的肝损伤。

结合网络药理学探究 PN 治疗 APAP 诱导的 DILI 作用机制,结果发现 PN 可通过激活 PI3K/AKT 通路,抑制该通路下游因子 P53 的表达来缓解 APAP 诱导的肝损伤。已有研究显示,PI3K/AKT 信号通路调控细胞代谢与存活,并与肝脏再生有关,PI3K/AKT 通路的激活可有效增强细胞抗氧化能力[36-38]。P53 是经典的转录因子,作为 PI3K/AKT 通路的下游靶蛋白,参与细胞增殖与死亡过程,其可通过维持细胞稳态来缓解 APAP 诱导的肝损伤[39]。当 APAP 诱导肝损伤时,PI3K/AKT 磷酸化水平降低,P53 被 APAP 的毒性激活,抑制 PI3K/AKT 通路下游相关靶蛋白 P53 可保护肝脏[40-43]。还有研究表明,PH、NE、Lut、KF 和 Que 处理后可激活 PI3K/AKT 通路,且 Lut 可下调 P53 蛋白的表达[38,43-47]。上述研究与本试验结果一致,证明 PN 可通过激活 PI3K/AKT 通路、抑制调节因子 P53 来缓解 APAP 诱导的肝损伤。

综上所述,本研究通过网络药理学与分子对接分析,发现 PN 治疗 DILI 涉及 PI3K/AKT 通路;动物试验证明 PN 可减少 APAP 代谢,缓解氧化应激,激活 PI3K/AKT 通路来治疗 APAP 诱导的肝损伤。该研究结果为进一步研发抗 APAP 肝损伤新药物提供了理论依据。

[参考文献]

[1] ZHANG J T,FAN F Y,LIU A F,et al. Icariin:a potential molecule for treatment of knee osteoarthritis[J]. Frontiers in Pharmacology,2022,13:811808.

[2] GONG L H,ZHOU H L,WANG C,et al. Hepatoprotective effect of forsythiaside a against acetaminophen-induced liver injury in zebrafish:coupling network pharmacology with biochemical pharmacology[J]. Journal of Ethnopharmacology,2021,271:113890.

[3] CUI H W,LI H Y,WU Y,et al. Identification,flavor characteristics and molecular docking of umami taste peptides of Xuanwei ham[J]. Food Research International,2023,173:113211.

[4] ZHU Q Z,JIANG Y Z,LIN W Y,et al. Naringin as a natural candidate for anti-autoimmune hepatitis:inhibitory potency and hepatoprotective mechanism[J]. Phytomedicine,2024,129:155722.

[5] WANG H T,ZHAO Z T,SONG M M,et al. Luteolin detoxifies DEHP and prevents liver injury by degrading Uroc1 protein in mice[J]. EMBO Molecular Medicine,2024,16(11):2699-2724.

[6] 左文明,李锦萍,李彩明,等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 结合网络药理学和分子对接探讨椭圆叶花锚抗肝炎的药效物质及作用机制[J]. 天然产物研究与开发,2021,33(11):1946-1956.
ZUO W M,LI J P,LI C M,et al. Study on the effective sub-

stances and mechanism of *Halenia elliptica* D. Don in anti-hepatitis based on UPLC-Q-TOF-MS/MS combined network pharmacology and molecular docking[J]. Natural Product Research and Development, 2021, 33(11): 1946-1956.

[7] FU K, LI Y Z, DAI S, et al. Exploration of the molecular basis of *Forsythia* fruit in the prevention and treatment of cholestatic liver injury through network pharmacology and molecular docking[J]. Nutrients, 2023, 15(9): 2065.

[8] 李建华，刘沛瑶，王志鹏，等. GEO 芯片分析联合网络药理学探讨五味子-枸杞子保护放射性肝损伤的机制研究[J]. 天然产物研究与开发，2023，35(6)：1058-1067，1057.
LI J H, LIU P Y, WANG Z P, et al. Protective effect of *Schisandrae chinensis* Fructus and *Lycii fructus* on radiation-induced liver injury based on GEO chip analysis and network pharmacology[J]. Natural Product Research and Development, 2023, 35(6): 1058-1067, 1057.

[9] GARCÍA-ROMÁN R, FRANCÉS R. Acetaminophen-induced liver damage in hepatic steatosis[J]. Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2020, 107(5): 1068-1081.

[10] KOTULKAR M, PAINE-CABRERA D, ABERNATHY S, et al. Role of HNF4alpha-cMyc interaction in liver regeneration and recovery after acetaminophen-induced acute liver injury[J]. Hepatology, 2023, 78(4): 1106-1117.

[11] JAESCHKE H, RAMACHANDRAN A. Acetaminophen hepatotoxicity: paradigm for understanding mechanisms of drug-induced liver injury[J]. Annual Review of Pathology, 2024, 19: 453-478.

[12] NI H M, MCGILL M R, CHAO X J, et al. Removal of acetaminophen protein adducts by autophagy protects against acetaminophen-induced liver injury in mice[J]. Journal of Hepatology, 2016, 65(2): 354-362.

[13] SUBRAMANYA S B, VENKATARAMAN B, MEERAN M F N, et al. Therapeutic potential of plants and plant derived phytochemicals against acetaminophen-induced liver injury[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(12): 3776.

[14] CHEN S, LU Z, JIA H Y, et al. Hepatocyte-specific Mas activation enhances lipophagy and fatty acid oxidation to protect against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice[J]. Journal of Hepatology, 2023, 78(3): 543-557.

[15] GONG L H, WANG C, ZHOU H L, et al. A review of pharmacological and pharmacokinetic properties of Forsythiaside A[J]. Pharmacological Research, 2021, 169: 105690.

[16] 张治杰，潘阳阳，姚亚乐，等. 木犀草素对对乙酰氨基酚诱导肝损伤的保护作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)，2024，52(2)：12-21，31.
ZHANG Z J, PAN Y Y, YAO Y L, et al. Protective effects of luteolin on acetaminophen-induced liver injury[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2024, 52(2): 12-21, 31.

[17] WANG M, SUN J G, JIANG Z H, et al. Hepatoprotective effect of kaempferol against alcoholic liver injury in mice[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2015, 43(2): 241-254.

[18] ZHAO M H, LI C, SHEN F J, et al. Naringenin ameliorates LPS-induced acute lung injury through its anti-oxidative and anti-inflammatory activity and by inhibition of the PI3K/AKT pathway[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2017, 14(3): 2228-2234.

[19] ZHOU C Y, LU M Y, CHENG J L, et al. Review on the pharmacological properties of phillyrin[J]. Molecules, 2022, 27(12): 3670.

[20] BINMOWYNA M N, ALFARIS N A. Kaempferol suppresses acetaminophen-induced liver damage by upregulation/activation of SIRT1[J]. Pharmaceutical Biology, 2021, 59(1): 146-156.

[21] KIM Y E, BAK S B, KIM M J, et al. Forsythiaside A activates AMP-activated protein kinase and regulates oxidative stress via Nrf2 signaling[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(23): 17033.

[22] ZHAI F G, WANG J L, WAN X Y, et al. Dual anti-inflammatory effects of curcumin and berberine on acetaminophen-induced liver injury in mice by inhibiting NF-κB activation via PI3K/AKT and PPARγ signaling pathways[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2024, 734: 150772.

[23] LIU S H, ZHOU X T, ZHANG L L, et al. Network pharmacology and bioinformatics approach to unravel the mechanism of Xiao-chai-hu-tang herbal formula in tinnitus treatment[J]. Heliyon, 2024, 10(18): e37584.

[24] SCHOMAKER S, POTTER D, WARNER R, et al. Serum glutamate dehydrogenase activity enables early detection of liver injury in subjects with underlying muscle impairments[J]. PLoS ONE, 2020, 15(5): e0229753.

[25] ZHAO R W, ZHANG Q, LIU W J, et al. Pien Tze Huang attenuated acetaminophen-induced liver injury by autophagy mediated-NLRP3 inflammasome inhibition[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 311: 116285.

[26] ADIL M, KANDHARE A D, GHOSH P, et al. Ameliorative effect of naringin in acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity in laboratory rats: role of FXR and KIM-1[J]. Renal Failure, 2016, 38(6): 1007-1020.

[27] TAI M H, ZHANG J Y, SONG S D, et al. Protective effects of luteolin against acetaminophen-induced acute liver failure in mouse[J]. International Immunopharmacology, 2015, 27(1): 164-170.

[28] EL-SHAFEY M M, ABD-ALLAH G M, MOHAMADIN A M, et al. Quercetin protects against acetaminophen-induced hepatorenal toxicity by reducing reactive oxygen and nitrogen species[J]. Pathophysiology, 2015, 22(1): 49-55.

[29] PINGILI R, PAWAR A K, CHALLA S R. Quercetin reduced the formation of N-acetyl-p-benzoquinoneimine, a toxic metabolite of paracetamol in rats and isolated rat hepatocytes[J]. Phytotherapy Research, 2019, 33(7): 1770-1783.

[30] GUO H L, SUN J Y, LI D Y, et al. Shikonin attenuates acetaminophen-induced acute liver injury via inhibition of oxida-

tive stress and inflammation[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy,2019,112:108704.

[31] MASSART J,BEGRICHE K,HARTMAN J H,et al. Role of mitochondrial cytochrome P450 2E1 in healthy and diseased liver[J]. Cells,2022,11(2):288.

[32] ZHAO W,LUO H S,LIN Z L,et al. Wogonin mitigates acetaminophen-induced liver injury in mice through inhibition of the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology,2024,332:118364.

[33] 代炆璋,柏兆方,何婷婷,等. 五味子丙素调控 Nrf2 信号通路改善对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝损伤[J]. 中国中药杂志,2022,47(19):5299-5305.
DAI W Z,BAI Z F,HE T T,et al. Schisandrin C improves acetaminophen-induced liver injury in mice by regulating Nrf2 signaling pathway[J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2022,47(19):5299-5305.

[34] YANG W P,LIANG Z X,WEN C M,et al. Silymarin protects against acute liver injury induced by acetaminophen by down-regulating the expression and activity of the CYP2E1 enzyme [J]. Molecules,2022,27(24):8855.

[35] SANTES-PALACIOS R,OLGUÍN-REYES S,HERNÁNDEZ-OJEDA S L,et al. Differential inhibition of naringenin on human and rat cytochrome P450 2E1 activity[J]. Toxicology in Vitro,2020,69:105009.

[36] WANG S Y,LIU R C,YU Q,et al. Metabolic reprogramming of macrophages during infections and cancer[J]. Cancer Letters,2019,452:14-22.

[37] JUNG K,KIM M,SO J,et al. Farnesoid X receptor activation impairs liver progenitor cell-mediated liver regeneration via the PTEN-PI3K-AKT-mTOR axis in zebrafish[J]. Hepatology,2021,74(1):397-410.

[38] LI F W,ZHAN Z J,QIAN J,et al. Naringin attenuates rat myocardial ischemia/reperfusion injury via PI3K/Akt pathway-mediated inhibition of apoptosis,oxidative stress and autophagy[J]. Experimental and Therapeutic Medicine,2021,22(2):811.

[39] BORUDE P,BHUSHAN B,GUNEWARDENA S,et al. Pleiotropic role of P53 in injury and liver regeneration after acetaminophen overdose[J]. The American Journal of Pathology,2018,188(6):1406-1418.

[40] HUO Y Z,YIN S T,YAN M Z,et al. Protective role of P53 in acetaminophen hepatotoxicity[J]. Free Radical Biology and Medicine,2017,106:111-117.

[41] WANG Z,HAO W N,HU J N,et al. Maltol improves APAP-induced hepatotoxicity by inhibiting oxidative stress and inflammation response via NF-κB and PI3K/Akt signal pathways[J]. Antioxidants,2019,8(9):395.

[42] YU Y J,ZHOU S Z,WANG Y,et al. Leonurine alleviates acetaminophen-induced acute liver injury by regulating the PI3K/AKT signaling pathway in mice[J]. International Immunopharmacology,2023,120:110375.

[43] WU J,GOU W F,WANG Z Y,et al. Discovery of the radioprotecting effect of Ecliptae Herba,its constituents and targeting P53-mediated apoptosis *in vitro* and *in vivo*[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B,2023,13(3):1216-1230.

[44] 马笑祎,陈桐楷,肖海鹏. 柚皮素改善非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. 中华糖尿病杂志,2021,13(11):1094-1097.
MA X Y,CHEN T K,XIAO H P. Research advances of naringenin in improving non-alcoholic fatty liver disease[J]. Chinese Journal of Diabetes Mellitus,2021,13(11):1094-1097.

[45] CHAI S,YANG Y B,WEI L W,et al. Luteolin rescues postmenopausal osteoporosis elicited by OVX through alleviating osteoblast pyroptosis via activating PI3K-AKT signaling[J]. Phytomedicine,2024,128:155516.

[46] FENG Z,WANG C,JIN Y,et al. Kaempferol-induced GPER upregulation attenuates atherosclerosis via the PI3K/AKT/Nrf2 pathway[J]. Pharmaceutical Biology,2021,59(1):1106-1116.

[47] WANG M,WANG B,ZHOU S S,et al. Quercetin ameliorates chicken quality by activating the PI3K/PKB/AMPK signaling pathway in broilers[J]. Frontiers in Veterinary Science,2022,9:951512.

(责任编辑:陈丽)

(上接第 120 页)

[25] 淡江华,李国柱,冯燕平,等. 不同饲料添加剂对断奶仔猪生长性能、免疫性能、肠道健康及粪便微生物的影响[J]. 动物营养学报,2024,36(9):5581-5593.
DAN J H,LI G Z,FENG Y P,et al. Effects of different feed additives on growth performance,immune performance,intestinal health and fecal microorganisms of weaned piglets[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition,2024,36(9):5581-5593.

[26] ALAM M T,AMOS G C A,MURPHY A R J,et al. Microbial imbalance in inflammatory bowel disease patients at different taxonomic levels[J]. Gut Pathogens,2020,12:1.

(责任编辑:马秋明)