

基于入血成分与计算药理学探讨赶黄草治疗原发性硬化性胆管炎的作用机制

Exploring the mechanism of *Penthorum chinense* Pursh in treating primary sclerosing cholangitis based on blood – absorbing components and computational pharmacology

苦阿华, 李雨鑫, 李晓宁,
吉 荣, 张紫璐, 宋彬彬

(中央民族大学 药学院 民族医药教育部重点实验室, 北京 100081)

KU A – hua, LI Yu – xin,
LI Xiao – ning, JI Rong,
ZHANG Zi – jun, SONG Bin – bin

(*Key Laboratory of Ethnomedicine,
Ministry of Education, School of
Pharmacy, Minzu University of China,
Beijing 100081, China*)

基金项目: 中央民族大学研究生科研基金资助项目 (SZKY – X2025094); 北京市自然科学基金资助项目 (7214282)

作者简介: 苦阿华 (2000 –), 男, 硕士研究生, 主要从事肝病药理方面的研究

通信作者: 宋彬彬, 讲师, 硕士生导师

MP: 18810026001

E – mail: songbinbin0824@163.com

摘要:目的 采用高分辨超高效液相色谱串联质谱 (UPLC – MS/MS) 技术分析赶黄草入血成分, 结合网络药理学及分子对接, 系统解析其治疗原发性硬化性胆管炎 (PSC) 的物质基础及作用机制。**方法** 利用高分辨 UPLC – MS/MS 分析赶黄草入血成分, 通过数据库 Swiss Target Prediction 获取成分靶点; 通过 GEO 数据库以 “Primary sclerosing cholangitis” 为关键词, 获取 PSC 相关疾病靶点, 并筛选成分靶点与疾病靶点的交集靶点; 利用 STRING 数据库构建蛋白 – 蛋白互作 (PPI) 网络, 筛选核心靶点; 通过 Metascape 平台进行基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析; 最后通过 AutoDock Vina 软件进行分子对接验证。**结果** 共鉴定出赶黄草入血成分 174 个, 成分靶点 661 个, 疾病相关靶点 2 878 个, 交集靶点 105 个; PPI 网络分析显示核心靶点为 RAC – α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1)、热休克蛋白 HSP90 – α (HSP90AA1)、CXC 趋化因子受体 4 (CXCR4)、酪氨酸蛋白激酶 Lyn (LYN) 以及雄激素受体 (AR) 等; GO 分析表明, 赶黄草可能通过调节膜筏上的磷酸转移酶活性等分子功能参与炎症反应等过程; KEGG 富集分析显示, 交集靶点显著富集于辅助性 T 细胞 17 (Th17) 细胞分化及胆汁分泌等与 PSC 病理机制有关的通路; 分子对接结果显示关键成分与核心靶点具有良好的结合稳定性。**结论** 本研究分析了赶黄草入血成分, 并揭示了其治疗 PSC 的 “多成分、多靶点、多通路” 机制, 为赶黄草临床治疗 PSC 提供科学依据。

关键词: 赶黄草; 原发性硬化性胆管炎; 网络药理学; 分子对接; 作用机制

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.02.016

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001 – 6821 (2026) 02 – 0247 – 07

Abstract: Objective To analyze the blood – absorbing components of *Penthorum chinense* Pursh using high – resolution ultra – performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry (UPLC – MS/MS), and to systematically investigate the material basis and mechanism of its therapeutic effect on primary sclerosing cholangitis (PSC) by integrating network pharmacology and molecular docking. **Methods** High – resolution UPLC – MS/MS was employed to identify the blood – absorbing components of *Penthorum chinense* Pursh. Potential target proteins of these components were predicted using the Swiss Target Prediction database. Disease – related targets of PSC were retrieved from the Gene Expression Omnibus (GEO) database using the keyword "Primary sclerosing cholangitis." The intersection of component targets and disease

targets was identified to obtain common targets. A protein – protein interaction (PPI) network was constructed using the Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins (STRING) database to screen for core targets. Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed using the Metascape platform. Finally, molecular docking validation of key components with core targets was conducted using AutoDock Vina software. **Results** A total of 174 blood – absorbing components were identified from *Penthorum chinense Pursh*, corresponding to 661 predicted component targets. 2 878 PSC – related disease targets were obtained, and 105 intersection targets were screened. PPI network analysis revealed core targets including RAC – alpha serine/threonine – protein kinase (AKT1), heat shock protein HSP 90 – alpha (HSP90AA1), C – X – C chemokine receptor type 4 (CXCR4), tyrosine – protein kinase Lyn (LYN), and androgen receptor (AR). GO analysis indicated that *Penthorum chinense Pursh* may participate in inflammatory response and other processes by regulating molecular functions such as phosphotransferase activity on membrane rafts. KEGG enrichment analysis demonstrated that the intersecting targets were significantly enriched in pathways associated with the pathological mechanisms of PSC, including T helper 17 (Th17) cell differentiation and bile secretion. Molecular docking results demonstrated favorable binding stability between key components and core targets. **Conclusion** This study identified the blood – absorbing components of *Penthorum chinense Pursh* and preliminarily revealed its potential mechanism in treating PSC through a "multi component, multi target, multi pathway" synergistic approach, providing a scientific basis for the clinical application of *Penthorum chinense Pursh* in PSC treatment.

Key words: *Penthorum chinense Pursh*; primary sclerosing cholangitis; network pharmacology; molecular docking; mechanism of action

原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)是一种以免疫介导的慢性胆管进行性炎症和纤维化为特征的肝胆疾病。其病理过程主要表现为肝内外胆管的炎性损伤与结构破坏,导致胆汁流动受阻、胆管狭窄及继发性肝纤维化。若不加以干预,病情可逐步进展为肝硬化、门静脉高压乃至肝功能衰竭^[1-3]。目前临床上尚无针对PSC的特效药物,现有治疗手段主要集中在缓解症状和并发症管理,疾病调控效果有限。赶黄草,又名扯根菜,为虎耳草科扯根菜属植物赶黄草 *Penthorum chinense Pursh* 的全草,作为我国传统中药之一,最早记载于明代《救荒本草》。其性味苦凉,具清热解毒、利湿退黄、活血散瘀、利水消肿之功效,在民间常用于治疗黄疸、水肿及跌打损伤等症。本课题组前期研究发现,赶黄草总黄酮提取物可显著改善PSC模型动物的肝组织损伤、减轻胆汁淤积及抑制肝纤维化进程^[4]。然而,其发挥药效的物质基础及分子机制尚未明确。网络药理学及分子对接技术作为计算药理学的重要部分,在中药复杂体系作用机制解析中展现出重要价值。该方法通过构建“成分 – 靶点 – 通路 – 疾病”多维网络,能够系统阐释中药多成分、多靶点、多通路的协同调控特性^[5]。然而,传统网络药理学研究多依赖数据库已有成分信息,可能造成分析结果同质化,难以真实反映特定药材的体内药效物质。为克服这一局限,本研究采用超

高效液相色谱 – 串联质谱(ultra – performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry, UPLC – MS/MS)技术鉴定赶黄草的体内入血成分,在此基础上结合网络药理学与分子对接方法,系统筛选其作用于PSC的关键靶点与信号通路,揭示赶黄草治疗PSC的药效物质基础及分子机制,以期为该药材的现代化研究与临床转化提供科学依据。

材料与方法

1 材料

动物 SPF级雄性C57BL/6J小鼠,鼠龄8周,体重18~22 g,斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(京)2024 – 0001。本研究经中央民族大学动物伦理委员会批准(伦理批号:ECMUC2024008AA)。

药品与试剂 赶黄草中药材,规格:每袋1 kg,批号:G210913,产地:四川泸州,购自河北保定安国云天商贸有限公司,经中央民族大学黄火强副教授鉴定为虎耳草科扯根菜属植物赶黄草的干燥全草;75%乙醇,规格:每瓶2.5 L,纯度:≥75.0%,批号:20230319,北京市通广精细化工公司生产;甲醇,规格:每瓶1 L,纯度:≥99.92%,批号:900688,美国Merck公司生产;乙腈,规格:每瓶1 L,纯度:

≥99.92%,批号:900667,美国 Merck 公司生产;甲酸,规格:每瓶 50 mL,纯度:98%~100%,批号:5330020050,美国 Merck 公司生产。

仪器 RE-2000A 型旋转蒸发仪,中国上海亚荣生化仪器厂产品;CHRIST ALPHA1-2 型冷冻干燥机,德国 Christ/Sigma 公司产品;MH-1650R 型台式高速冷冻离心机,中国美瑞克仪器有限公司产品。TripleTOF 6600 型和 QTRAP 4500 型 UPLC-MS/MS,美国 SCIEX 公司产品。

2 实验方法

2.1 赶黄草提取物成分及入血成分分析

2.1.1 赶黄草的提取

将 500 g 赶黄草全草切成小段,加入 5 000 mL 75% 乙醇中,加热回流提取 2 h,该提取过程重复 3 次。合并赶黄草提取液经滤过、浓缩及冷冻干燥后获得赶黄草提取物冻干粉 79.4 g,赶黄草提取物得率为 15.88%^[4]。

2.1.2 动物实验

10 只小鼠通过口服灌胃给予赶黄草每次 4 g·kg⁻¹(以生药量计)^[6],每天给药 2 次,共给药 7 次,于首次给药前(设为空白血清对照)及末次给药后 0.5、2、8 h,通过眼眶静脉丛采血约 50 μL,为了最大化捕获中药成分,等体积合并给药后各采血点的血清作为含药血清,储存于 -80℃,待后续质谱分析。

2.1.3 样品前处理

采用高分辨 UPLC-MS/MS 对赶黄草提取物及含药血清中的成分进行分析。称取 50 mg 赶黄草提取物冻干粉加入 1 200 μL 预冷至 -20℃ 的 70% 甲醇水提取液。吸取 50 μL 血清,加入 300 μL 70% 甲醇水提取液。提取物及血清样本分别经涡旋震荡处理,随后以 12 000 rpm 离心 3 min。上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后上样分析。

2.1.4 质谱检测方法

质谱检测委托迈维代谢生物科技公司进行。

定性分析采用高分辨 TripleTOF 6600 质谱系统。离子源参数设置如下:雾化气与辅助气压力均为 50 psi,气帘气压力 25 psi,离子源温度 500℃,去簇电压 ±60 V,喷雾电压 5 500/-4 500 V。一级全扫描质量范围为 m/z 50-1 250,累积时间 200 ms,采用动态背景扣除;二级扫描质量范围为 m/z 50-1 250,累积时间 50 ms,碰撞能量 ±30 V,碰撞能量扩展 ±15 V,触发强度阈值为 100 cps。实验设置中排除 4 Da 内的同位素峰,质量偏差容限 50 ppm,每个扫描周期最多采集 10 个二级质谱图。化合物鉴定基于精确分子质

量、二级碎片、同位素分布及保留时间,通过智能二级谱匹配方法将样本数据与 MetWare 数据库进行比对,质量误差与二级谱匹配误差容限均设为 20 ppm。相对定量分析采用 Agilent SB-C₁₈ 反相色谱柱(1.8 μm, 2.1 mm×100 mm)。流动相组成:A 相为 0.1% 甲酸水溶液,B 相为 0.1% 甲酸乙腈溶液。梯度洗脱程序设定为:初始 5% B 相,随后于 9 min 内线性递增至 95% B 相并维持 1 min,10~11 min 恢复至初始比例后平衡至 14 min。柱温 40℃,流速 0.35 mL·min⁻¹,进样量 2 μL。质谱检测采用 QTRAP 4500 质谱系统。电喷雾离子源温度 550℃,喷雾电压 5 500/-4 500 V,气帘气、雾化气与辅助气压力分别为 25、50 和 60 psi。采用多反应监测模式进行分析,碰撞能量设置为中级。

2.2 活性成分与靶点验证

2.2.1 赶黄草成分靶点筛选^[7]

将 UPLC-MS/MS 鉴定出的赶黄草入血成分输入瑞士吸收、分布、代谢、排泄预测平台(Swiss absorption, distribution, metabolism, and excretion prediction platform, Swiss ADME)(<https://swissadme.ch/>),以胃肠吸收显示“Hight”并且类药性结果中至少有 3 个“YES”为标准,筛选成分。将筛选后成分输入瑞士靶点预测平台(Swiss Target Prediction)(<https://www.swisstargetprediction.ch/>),以 Probability>0.1 为标准,去除重复靶点,得到赶黄草成分靶点。

2.2.2 PSC 相关靶点筛选^[8]

在基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库中,以“Primary sclerosing cholangitis”为关键词检索,筛选得到与 PSC 相关数据集 GSE159676,从数据集中选取 6 名健康志愿者与 12 名 PSC 患者的肝组织转录组测序数据。使用 GEO 在线分析工具 GEO2R,以健康志愿者样本作为对照,PSC 患者样本作为实验组进行差异表达分析。基因表达差异的统计显著性设定为 P 值<0.05,据此筛选出 PSC 患者相较于健康志愿者具有显著表达差异的基因,去除重复值,作为后续分析的 PSC 疾病靶点。

2.2.3 交集靶点的获取

将赶黄草成分靶点与 PSC 疾病靶点取交集,获得交集靶点。

2.2.4 赶黄草有效成分-交集靶点网络图的构建及分析^[9]

用 Cytoscape 3.10.1 软件构建赶黄草有效成分-交集靶点网络,并分析有效成分及靶点的网络拓扑参

数,推测核心靶点及发挥药效的主要有效成分。

2.2.5 蛋白-蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 分析、基因本体论 (gene ontology, GO) 及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析^[10]

将交集靶点导入相互作用基因/蛋白质检索工具 (search tool for the retrieval of interacting genes/proteins, STRING) (<https://cn.string-db.org/>), 进行 PPI 分析, 利用 Cytoscape 3.10.1 软件进行可视化。将交集靶点导入 Metascape 平台 (<https://metascape.org/gp/#/main/step1>), 依次进行 GO 和 KEGG 富集分析, 并利用微生信平台 (<https://bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化。

2.2.6 活性成分与核心靶点的分子对接验证^[11]

在公共化学化合物数据库 (PubChem) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 分别搜索 “Naringenin chalcone”、“Tangeretin”、“6,10,14-Trimethylpentadeca-5,9-Diene-2,13-Dione”、“3',4',5',5,7-Pentamethoxyflavone”、“Ethyl (10Z,13Z)-hexadeca-10,13-dienoate” 获得活性成分小分子 2D 结构的结构数据文件 (structure-data file, SDF), 并用 OpenBabel 3.1.1 软件将 SDF 格式文件转化为 Tripos Mol2 格式文件; 从蛋白质结构数据库 (protein data bank, PDB) (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心靶点的 PDB 文件格式。利用 AutoDock Vina 软件进行分子对接。通过结合能值评价活性成分与靶蛋白匹配的稳定性。最后使用 Pymol 软件作出 3D 结合模式图。

结 果

1 赶黄草入血成分、成分靶点及 PSC 疾病靶点的筛选

利用 UPLC-MS/MS 共鉴定出赶黄草提取物成分 331 个, 其中入血成分 174 个。将 174 个入血成分输入 Swiss ADME 根据方法 2.2.1 中吸收及类药性判断, 得到符合条件的成分有 95 个。将符合条件的 95 个化合物输入 Swiss Target Prediction 数据库中, 获取对应的靶点, 以 Probability > 0.1 为筛选标准, 去除重复后获得成分靶点 661 个。按照方法 2.2.2 获得 PSC 疾病靶点 2 878 个。将赶黄草成分靶点与 PSC 疾病靶点取交集, 获得 105 个交集靶点。此 105 个交集靶点对应的赶黄草成分有 47 个, 见表 1, 这 47 个成分可能是赶黄草治疗 PSC 的有效成分。利用 Cytoscape 3.10.1 软件构建赶黄草有效成分-交集靶点网络关

表 1 赶黄草有效成分

Table 1 Active ingredients of *Penthorum chinense* Pursh

中文名	英文名	度值
柚皮素查耳酮	Naringenin chalcone	21
桔皮素	Tangeretin	20
6,10,14-三甲基十五碳-5,9-二烯-2,13-二酮	6,10,14-Trimethylpentadeca-5,9-Diene-2,13-Dione	19
3',4',5',5,7-五甲氧基黄酮	3',4',5',5,7-Pentamethoxyflavone	18
十六碳-10,13-二烯酸乙酯	Ethyl (10Z,13Z)-hexadeca-10,13-dienoate	18
乔松素	Pinocembrin	17
山姜素	Alpinetin	17
4-[3-(4,8-二甲基壬-3,7-二苯基)-3-甲基环氧乙烷-2-基]丁-2-酮	4-[3-(4,8-dimethylnona-7-dienyl)-3-methyloxiran-2-yl]butan-2-one	16
柚皮素	Naringenin	16
芦荟大黄素-9-蒽酮	Aloe-Emodin-9-Anthrone	15
3,5,7-三羟基黄酮	3,5,7-Trihydroxyflavanone	14
3-O-甲基鞣花酸	3-O-Methylellagic acid	14
N-十二烷基乙醇胺	Lauryldiethanolamine	14
去-O-甲基毛狄泼老素	De-O-Methylsiodiodipodin	14
鞣花酸	Ellagic acid	13
球素查耳酮	Pinostrobin Chalcone	10
根皮素	Phloretin	10
草夹竹桃苷	Androsin	10
邻苯二甲酸二丁酯	Dibutyl phthalate	10
邻苯二甲酸-1-丁酯-2-异丁酯	Butyl isobutyl phthalate	10
芦荟皂草 II	Aloesaponol II	9
原儿茶酸甲酯	Protocatechuic Acid Methyl Ester	7
苔黑酚葡萄糖苷	Orcinol glucoside	7
油酰单乙醇胺	N-Oleylethanolamine	7
4-酮基松脂酚	4-ketopinoresinol	6
没食子酸	Gallic acid	5
白天竺葵苷元	Leucopelargonidin	4
圣草酚	Eriodictyol	4
儿茶素	Catechin	4
表儿茶素	Epicatechin	4
十八碳二烯酰胺	Octadecadienamide	4
十八碳-8-烯酰胺	Octadec-8-enamide	4
路可脂素	Verrucosin	3
茵陈色原酮	Capillarisin	3
松柏醛	Coniferaldehyde	3
5,7,3',4',5'-五羟基黄酮	5,7,3',4',5'-Pentahydroxyflavan	3
5-甲氧基水杨酸	5-Methoxysalicylic acid	3
酸藤子酚	Embelin	3
3,4-二羟基苯甲酸	3,4-Dihydroxybenzoic acid	2
没食子酸甲酯	Methyl gallate	2
月桂基二甲氧化胺	Lauramine oxide	2
2,3-二羟基苯甲酸	2,3-Dihydroxybenzoic Acid	2
4-羟基苯甲酸	4-Hydroxybenzoic acid	2
8-羟基喹啉	8-hydroxyquinoline	2
十六碳酰胺	Hexadecanamide	2
十四烷基二乙醇胺	Tetradecyldiethanolamine	2
十八碳-2-烯酰胺	Octadec-2-enamide	2

系,并分析关联度值,度值越大越可能为关键有效成分。有效成分按度值由大到小排列,前10的成分为:柚皮素查耳酮、桔皮素、6,10,14-三甲基十五碳-5,9-二烯-2,13-二酮、3',4',5',5,7-五甲氧基黄酮、十六碳-10,13-二烯酸乙酯、乔松素、山姜素、4-[3-(4,8-二甲基壬-3,7-二苯基)-3-甲基环氧乙烷-2-基]丁-2-酮、柚皮素、芦荟大黄素-9-蒽酮。

2 PPI 分析结果

将交集靶点进行 PPI 分析,结果显示排名前五的核心靶点为 RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(RAC- α serine/threonine-protein kinase, AKT1)、热休克蛋白 HSP 90- α (heat shock protein hsp 90- α , HSP90AA1)、CXC 趋化因子受体 4(C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4)、酪氨酸蛋白激酶 Lyn(tyrosine-protein kinase Lyn, LYN)以及雄激素受体(androgen receptor, AR)。

3 GO 与 KEGG 富集分析

利用 Metascape 平台对交集靶点进行 GO 与 KEGG 富集分析。GO 分析显示,在细胞组分层面,交集靶点主要位于膜筏和线粒体膜等结构;在分子功能层面,交集靶点主要涉及磷酸转移酶活性(以醇基为受体)、激酶结合及蛋白酪氨酸激酶活性等功能;在生物学过程层面,交集靶点显著富集于炎症反应、小分子生物合成过程及细胞对脂质的反应等过程,见图1。KEGG 通路富集分析结果显示,交集靶点显著富集于多条通路,图2显示排名前20的通路。其中辅助性T细胞17(T helper 17 cell, Th17)细胞分化和胆汁分泌通路已报道与PSC病理机制高度相关,因此推测赶黄草可能通过调节此通路发挥药效。

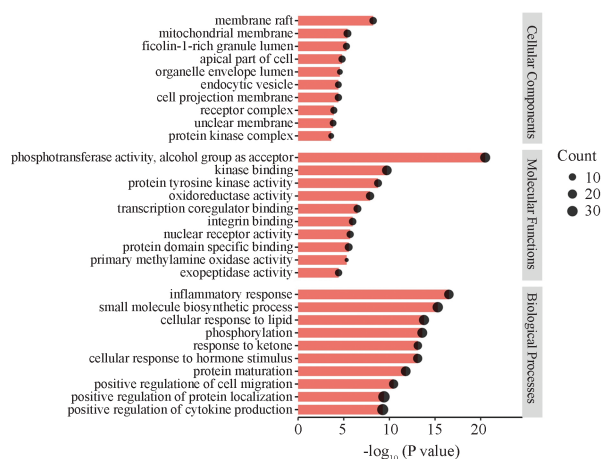


图1 基因本体论(GO)富集分析

Figure 1 Gene ontology (GO) enrichment analysis

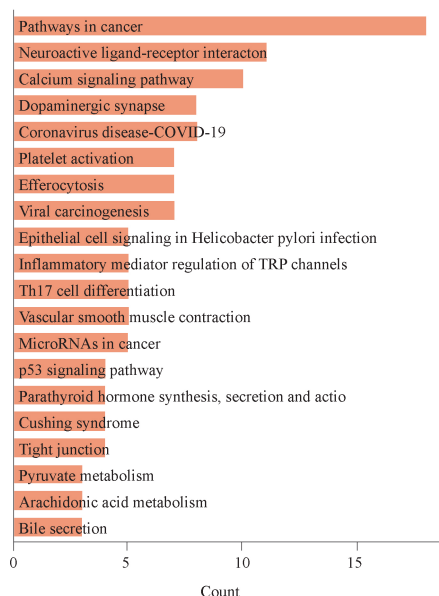


图2 京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析图

Figure 2 Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analysis diagram

4 分子对接结果

分子对接实验选取了根据度值排序前五的关键有效成分(柚皮素查耳酮、桔皮素、6,10,14-三甲基十五碳-5,9-二烯-2,13-二酮、3',4',5',5,7-五甲氧基黄酮、十六碳-10,13-二烯酸乙酯)与PPI网络中排名前五的核心靶点(AKT1、HSP90AA1、CXCR4、LYN、AR)进行。结合能结果见表2。通常认为,结合能低于 $-5.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 表明配体与受体之间结合稳定、活性良好。结果显示,上述所有成分与靶点的结合能均低于该阈值,说明关键有效成分与核心靶点之间具有较好的结合活性与较高的稳定性。为进一步评估对接结果,我们选取了各靶点已知的高活性小分子抑制剂作为阳性对照,包括 AKT1 抑制剂 AZD5363、HSP90AA1 抑制剂 Geldanamycin、CXCR4 抑制剂 AMD3100、LYN 抑制剂 Genistein 及 AR 抑制剂 Flutamide,采用相同方法进行分子对接。阳性对照的结合能分别为:AKT1-AZD5363 为 $-9.4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 、HSP90AA1-Geldanamycin 为 $-7.5 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 、CXCR4-AMD3100 为 $-11.4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 、LYN-Genistein 为 $-7.4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 、AR-Flutamide 为 $-6.7 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。与赶黄草有效成分的对接结果比较发现,柚皮素查耳酮与 AKT1、桔皮素与 HSP90AA1、以及 3',4',5',5,7-五甲氧基黄酮与 AR 的结合能均低于 $-9.0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$,显著优于相应阳性对照。这表明上述三组配体-靶点相互作用在能量上具有明显优势,可能构成赶黄草干预PSC的核心药效物质基

础与作用靶点。

表 2 分子对接结合能

Table 2 Molecular docking binding energy

结合能 (kcal · mol ⁻¹)	AKT1	HSP90AA1	CXCR4	LYN	AR
柚皮素查耳酮	-9.7	-8.0	-8.3	-6.6	-8.6
桔皮素	-6.2	-9.2	-8.5	-6.2	-8.6
6,10,14 - 三甲基十五 碳 - 5,9 - 二烯 - 2,13 - 二酮	-8.0	-6.7	-7.0	-6.4	-7.4
3',4',5',5,7 - 五甲氧 基黄酮	-8.2	-8.1	-7.9	-7.1	-9.1
十六碳 - 10,13 - 二烯 酸乙酯	-5.3	-5.6	-5.9	-5.2	-5.4

AKT1: RAC - alpha serine/threonine - protein kinase; HSP90AA1: Heat shock protein hsp 90 - alpha; CXCR4: C - X - C chemokine receptor type 4; LYN: Tyrosine - protein kinase Lyn; AR: Androgen receptor,

讨 论

本研究通过整合 UPLC - MS/MS 入血成分分析、网络药理学与分子对接技术,初步揭示了赶黄草治疗PSC 的潜在物质基础与系统作用机制。结果表明,赶黄草可能通过柚皮素查耳酮作用于 AKT1、桔皮素作用于 HSP90AA1 及 3',4',5',5,7 - 五甲氧基黄酮作用于 AR 等靶点,调控炎症反应、磷酸转移酶活性等生物学过程,并影响胆汁分泌、Th17 细胞分化等多条通路,从而发挥“多成分 - 多靶点 - 多通路”的治疗作用。传统中药的物质基础研究长期面临成分复杂、体内过程不明确的挑战。本研究基于血清药物化学理念,将分析焦点集中于“中药入血成分”。我们共鉴定出 174 个入血成分,并通过类药性筛选及成分 - 靶点网络构建,进一步锁定 47 个潜在活性成分。其中,黄酮类化合物(如柚皮素查耳酮、桔皮素)占据主导地位,这与赶黄草富含黄酮类成分的化学特征以及黄酮类化合物广泛的抗炎、抗氧化、抗纤维化药理活性高度吻合^[12]。

为进一步阐明其作用机制,本研究通过构建 PPI 网络,筛选出 AKT1、HSP90AA1、CXCR4、LYN 及 AR 五个核心靶点。这些靶点构成一个与免疫炎症调节、细胞应激反应及生存信号密切相关的交互网络。AKT1 作为磷脂酰肌醇 3 - 激酶/蛋白激酶 B 信号通路的关键节点,参与调控细胞增殖、凋亡与代谢^[13],其在 PSC 病程中可能介导了胆管上皮细胞的异常增殖与凋亡抵抗。HSP90AA1 作为分子伴侣,对维持包括 AKT 在内的多种信号蛋白的稳定性具有重要作

用,其表达上调与细胞应激及疾病状态密切相关^[14]。CXCR4 参与纤维化的多种病理机制,与 PSC 等纤维化疾病的发病机制紧密相关^[15]。LYN 作为 Src 家族激酶成员,参与免疫受体信号的转导调节,其功能失衡与自身免疫异常存在关联^[16]。此外,AR 近年也被发现在肝脏免疫调节及纤维化过程中具有一定作用^[17]。上述靶点间的相互作用提示,赶黄草可能通过协同调控免疫炎症反应、细胞应激适应及胆管上皮功能,实现对 PSC 复杂病理网络的干预。

GO 分析中,“磷酸转移酶活性”和“激酶活性”的显著富集,提示赶黄草活性成分可能主要作用于细胞膜相关信号转导的早期事件,通过影响磷酸化这一关键翻译后修饰过程,广泛调控下游信号级联。这与我们发现的以蛋白激酶(AKT1, LYN)为核心靶点的结果相互印证。同时,“炎症反应”在生物过程中被显著富集,直接指向了 PSC 的核心病理特征。KEGG 通路分析结果呈现了多通路协同的特征。“癌症通路”的富集在中药网络药理学研究中常见,这并非特指抗肿瘤作用,而是反映了所涉及靶点(如 AKT1, CXCR4, AR)在调控细胞周期、凋亡、迁移等基础生命活动中的核心地位,这些过程同样是 PSC 中胆管细胞异常行为的基础。“钙信号通路”是重要的第二信使系统,参与调节免疫细胞活化、细胞收缩及基因表达,其紊乱与多种肝脏疾病相关^[18]。特别值得注意的是,在显著富集的通路中,Th17 细胞分化与胆汁分泌两条通路与 PSC 的病理机制高度相关^[19-21],Th17 细胞介导的自身免疫性炎症是 PSC 胆管损伤的核心环节,而胆汁分泌障碍则是 PSC 临床表现与肝损伤的关键因素。由此我们推测,赶黄草治疗 PSC 的潜在机制,可能主要通过调节上述与疾病直接相关的核心通路,进而干预胆管炎症反应与胆汁淤积过程,从而发挥治疗作用。

如表 2 所示,关键成分与核心靶点展现了优异的结合模式,其中,柚皮素查耳酮 - AKT1、桔皮素 - HSP90AA1 以及 3',4',5',5,7 - 五甲氧基黄酮 - AR 三对相互作用结合能极强(< -9.0 kcal/mol)。对接构象显示,这些成分能通过氢键、疏水作用等多种分子间力,精准地结合在靶蛋白的活性口袋或关键功能区域,从三维结构层面证实了网络预测的可靠性,为上述成分 - 靶点对的药效作用提供了直接的结构生物学依据。本研究亦存在一定局限。首先,入血成分分析采用了混合时间点血清,虽能最大范围捕获成分,但无法获得药代动力学参数,亦可能低估了某些通过代谢活化才产生药效的成分的作用,未来需进行动态血样分析与代谢物鉴定。其次,网络药理学本质

是一种基于大数据关联的预测方法,其结果仍需通过体内外实验进行验证。后续研究将在细胞或动物模型中,验证赶黄草提取物或关键单体成分对 AKT1 磷酸化、炎症因子释放等指标的影响。

综上所述,本研究创新性地将入血成分分析与计算药理学方法相结合,克服了传统网络药理学依赖数据库成分的局限性,构建了更贴近体内真实作用场景的“入血成分-核心靶点-关键通路”多维作用网络,系统性地阐释了赶黄草治疗 PSC 的复杂机制。研究不仅为赶黄草的临床应用提供了科学依据,也为其他中药复方或民族药的现代化研究提供了可借鉴的思路。

参考文献:

- [1] CHAPMAN M H, THORBURN D, HIRSCHFIELD G M, *et al.* British Society of Gastroenterology and UK - PSC guidelines for the diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis [J]. *Gut*, 2019, 68(8): 1356—1378.
- [2] CORNILLET M, GEANON D, BERGQUIST A, *et al.* Immunobiology of primary sclerosing cholangitis [J]. *Hepatology*, 2024, 82(4): 911—926
- [3] MANNS M P, BERGQUIST A, KARLSEN T H, *et al.* Primary sclerosing cholangitis [J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2025, 11(1): 17.
- [4] 吉荣, 张紫珺, 苦阿华, 等. 赶黄草总黄酮对 DDC 诱导的小鼠原发性硬化性胆管炎的保护作用研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2025, 41(15): 2144—2148.
- [5] 陈玥, 吉荣, 张紫珺, 等. 基于网络药理学及分子对接探讨黄药子抗非小细胞肺癌的作用机制 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2025, 41: 561—564.
- [6] LI X, ZHAO W, XIAO M, *et al.* Penthorum chinense Pursh extract attenuates non - alcoholic fatty liver disease by regulating gut microbiota and bile acid metabolism in mice [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 294: 115333. 2022 - 04 - 29 [2025 - 11 - 30]. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115333>.
- [7] DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug - likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42717. 2017 - 03 - 03 [2025 - 11 - 30]. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- [8] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P, *et al.* NCBI GEO: Archive for functional genomics data sets—update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(D1): D991—D995.
- [9] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498—2504.
- [10] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, *et al.* Metascape provides a biologist - oriented resource for the analysis of systems - level datasets [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1523.
- [11] EBERHARDT J, SANTOS - MARTINS D, TILLACK A F, *et al.* AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings [J]. *J Chem Inf Model*, 2021, 61(8): 3891—3898.
- [12] KARIMI - SALES E, MOHADDES G, ALIPOUR M R. Chalcones as putative hepatoprotective agents: Preclinical evidence and molecular mechanisms [J/OL]. *Pharmacol Res*, 2018, 129: 177—187. 2017 - 11 - 23 [2025 - 11 - 30]. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.11.022>.
- [13] BROWNE I M, ANDRÉ F, CHANDARLAPATY S, *et al.* Optimal targeting of PI3K - AKT and mTOR in advanced oestrogen receptor - positive breast cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2024, 25(4): 139—151.
- [14] LI Y, DONG M, QIN H, *et al.* Mulberrin suppresses gastric cancer progression and enhances chemosensitivity to oxaliplatin through HSP90AA1/PI3K/AKT axis [J/OL]. *Phytomedicine*, 2025, 139: 156441. 2025 - 04 - 01 [2025 - 11 - 30]. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2025.156441>.
- [15] WU X, QIAN L, ZHAO H, *et al.* CXCL12/CXCR4: An amazing challenge and opportunity in the fight against fibrosis [J/OL]. *Ageing Res Rev*, 2023, 83: 101809. 2023 - 01 - 01 [2025 - 11 - 30]. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101809>.
- [16] WANG S W, ZHANG Q, LU D, *et al.* GPR84 regulates pulmonary inflammation by modulating neutrophil functions [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(8): 1665—1675.
- [17] NATARAJ K, SCHONFELD M, RODRIGUEZ A, *et al.* Androgen effects on alcohol - induced liver fibrosis are controlled by a notch - dependent epigenetic switch [J/OL]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2024, 19(1): 101414. 2024 - 09 - 28 [2025 - 11 - 30]. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2024.101414>.
- [18] CHE Y, CHEN G, GUO Q, *et al.* Gut microbial metabolite butyrate improves anticancer therapy by regulating intracellular calcium homeostasis [J]. *Hepatology*, 2023, 78(1): 88—102.
- [19] KUDIRA R, YANG Z F, OSUJI I, *et al.* Bile acids engage the SIPR - STAT3 signaling axis to modulate regulatory T cell responses in fibrosing cholangiopathies [J]. *J Hepatol*, 2025, 83(5): 1128—1141.
- [20] POCH T, KRAUSE J, CASAR C, *et al.* Single - cell atlas of hepatic T cells reveals expansion of liver - resident naive - like CD4⁺ T cells in primary sclerosing cholangitis [J]. *J Hepatol*, 2021, 75(2): 414—423.
- [21] CHEN W, CHEN X, GAO F, *et al.* Mesenchymal stem cell - derived extracellular vesicles attenuate periductal fibrosis by inhibiting Th17 differentiation in human liver multilineage organoids and Mdr2 (- / -) mice [J]. *J Nanobiotechnology*, 2025, 23(1): 546.

(本文编辑:崔兰卿 收稿日期 2025 - 12 - 18)