

基于网络药理学和分子对接技术探讨化橘红治疗酒精性肝损伤的潜在作用机制

吴潇, 湛攀, 吴灏, 苏薇薇, 王永刚, 李沛波*

中山大学 生命科学学院 广东省中药上市后质量与药效再评价工程技术研究中心 广东省热带亚热带植物资源重点实验室, 广东 广州 510275

摘要: **目的** 利用网络药理学和分子对接技术研究化橘红抗酒精性肝损伤的潜在分子作用机制。 **方法** 在中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 中获取化橘红的有效成分以及成分靶点, 使用 GeneCards、OMIM、TTD 和 DisGenet 数据库获取疾病靶点基因信息, 借助韦恩图选取活性成分靶点以及疾病靶点基因的交集获取化橘红治疗酒精性肝损伤的潜在作用靶点; 利用 STRING 数据库构建蛋白相互作用网络 (PPI), 并采用 Cytoscape 软件得到核心靶点网络图; 最后使用 Metascape 数据库对核心靶点进行基因本体论 (GO) 功能富集和基因百科全书 (KEGG) 分析, 利用 AutoDock Tools 进行活性成分与核心靶点的分子对接验证。 **结果** 得到 10 个有效成分、98 个成分靶点基因和 1 531 个疾病靶点基因, 两者取交集后获取 67 个交集靶点。利用 STRING 数据库和 Cytoscape 软件最终得到肿瘤蛋白 p53 (TP53)、前列腺素内过氧化物酶 2 (PTGS2)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、转录因子 AP-1 (JUN)、蛋白激酶 B1 (AKT1) 5 个核心靶点。GO 分析和 KEGG 分析分别获得过氧化物酶体等 50 条目和脂质、动脉粥样硬化等 20 条信号通路。 **结论** 化橘红可通过多个成分作用于多个靶点发挥抗炎、抑制细胞凋亡等作用, 进而抑制酒精性肝损伤。

关键词: 化橘红; 网络药理学; 分子对接; 酒精性肝损伤; 柚皮素; 川陈皮素

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)02-0300-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.02.007

Potential mechanism of *Citri Grandis Exocarpium* on alcoholic liver injury based on network pharmacology and molecular docking technology

WU Xiao, CHEN Pan, WU Hao, SU Wei-wei, WANG Yong-gang, LI Pei-bo

Guangdong Engineering and Technology Research Center for Quality and Efficacy Re-evaluation of Post-marketed TCM, Guangdong Key Laboratory of Plant Resources, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Abstract: Objective To investigate the potential molecular mechanisms of *Citri Grandis Exocarpium* in treatment of alcoholic liver injury by network pharmacology and molecular docking. **Methods** The active components and component targets of *Citri Grandis Exocarpium* were obtained from the TCMSP, and the gene information of disease target was obtained from GeneCards, OMIM, TTD, and DisGenet databases. The potential targets of *Citri Grandis Exocarpium* in treatment of alcoholic liver injury were obtained by the intersection of active component targets and disease targets selected by Venn diagram. The protein interaction network (PPI) was constructed using STRING database, and Cytoscape software was used to obtain the core target network map. Finally, Metascape database was used for gene ontology (GO) functional enrichment and Gene Encyclopedia (KEGG) analysis of the core target, and AutoDock Tools was used to verify the molecular docking between the active ingredients and the core targets. **Results** 10 active components, 98 component target genes, and 1 531 disease target genes were obtained. 67 intersection targets were obtained after the intersection of the two genes. Five core targets including p53 (TP53), prostaglandin peroxidase 2 (PTGS2), cysteine protease 3 (CASP3), transcription factor AP-1 (JUN), and protein kinase B (AKT1) were obtained by using STRING database and Cytoscape software. GO analysis and KEGG analysis respectively obtained 50 signal pathways such as peroxisome and 20 signal pathways such as lipid and atherosclerosis. **Conclusion** *Citri Grandis Exocarpium* might exhibit anti-inflammatory and anti-apoptosis effects through multiple components acting on multiple targets, thus attenuating alcoholic liver injury.

Key words: *Citri Grandis Exocarpium*; network pharmacology; molecular docking; alcoholic liver injury; naringenin; nobilletin

收稿日期: 2022-11-27

基金项目: 广东省应用型科技研发专项资金项目 (2016B020239003)

作者简介: 吴潇, 女, 本科, 研究方向为生物学。E-mail: wuxiao53@mail2.sysu.edu.cn

*通信作者: 李沛波, 副教授, 博士, 研究方向为中药药理学。E-mail: lipeibo@mail.sysu.edu.cn

酒精性肝损伤是一种由于长期饮酒导致肝脏受损的慢性疾病,具有短期内不易致死,但长期则易转变为酒精性肝炎、酒精性脂肪肝、酒精性肝硬化甚至肝癌等疾病的特点^[1]。肝脏是负责代谢乙醇的主要器官,因此机体摄入酒精后主要影响的器官是肝脏^[2]。随着人们生活水平的变化,酒精的供应量与消耗量增加,导致酒精性肝损伤发病率逐年上升。吉林大学第一医院消化内科临床分析显示,酒精性肝硬化占肝硬化发病总数的比例从 1999 年的 10.8% 上升为 2003 年的 24%^[3]。据中国人民解放军三〇一医院肝病中心数据统计,酒精性肝病住院的患者占该医院肝病住院患者的比例从 2002 年的 1.7% 增加到 2013 年的 4.6%。2002—2010 年我国北方地区肝硬化患者变化趋势分析表明,乙型肝炎后肝硬化的构成比由 81.5% 降至 66.8%,而酒精性肝硬化由 3% 上升至 7.7%,10 年间上升了 2.3 倍^[4],因此进一步加大对酒精性肝损伤的研究以找出安全有效的治疗方法具有十分重要的意义。

中药有多成分、多靶点、多作用通路、“标本兼治”的特点^[5]。在改善肝功能水平方面,能够减少氧化应激损伤,调节乙醇和脂质代谢,起到抗炎护肝的作用^[1]。目前,中药解酒作用研究主要集中在葛花、甘草等药材上^[6],有更多用于解酒和酒精性肝损伤治疗的中药材有待深入研究。化橘红为芸香科植物化州柚或柚的未成熟或近成熟的干燥外层果皮,具有化痰止咳、理气宽中之功,主要用于咳嗽痰多、食积伤酒、呕恶痞闷的治疗^[7-8]。研究表明,化橘红能较快地解酒并缓解醉酒过程中产生的不适^[6]。化橘红的水提物能通过调节丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 和抗利尿激素 (ADH) 的水平,改善肝脏脂肪病变和肝细胞凋亡,保护酒精诱导的急性肝损伤^[9]。另外,文献报道毛橘红对慢性酒精性肝损伤有保护作用^[10]。

网络药理学和分子对接技术能很好地从生物分子结构和功能方面对药物与疾病之间的关系进行分析,并预测治疗疾病的机制,因此,为进一步研究化橘红抗酒精性肝损伤的分子机制,本研究采用网络药理学和分子对接方法,对化橘红抗酒精性肝损伤的潜在作用机制进行研究,为其在酒精性肝损伤防治中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 化橘红化学成分信息归纳和筛选

在中药系统药理学数据库与分析平台

(TCMSP, <http://tcmospw.com/tcmosp.php>) 中检索化橘红,得到其基础化学成分信息,然后按照口服利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 的标准筛选出活性成分。

1.2 初步获取化橘红治疗酒精性肝损伤的靶点

在 TCMSP 数据库中收集活性成分的靶点,并对靶点进行去重。通过 Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 获取人源 (Homo sapiens) 的全部蛋白质基因信息,然后利用相关计算方式将药物的目标名称与 Uniprot 中获取的基因标记进行匹配,将无法匹配的靶点舍去,并进一步去重后初步得到名称标准化的靶点。

以 “alcoholic liver injury” 为关键词,分别在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、DisGenet 数据库 (<https://www.disgenet.org/>)、OMIM 数据库 (<https://omim.org/>)、TTD 数据库 (<https://db.idrblab.net/ttd/>) 中进行检索并筛选获取疾病靶点基因信息,将结果合并去重后即得到酒精性肝损伤的相关靶点。最后将疾病靶点与成分靶点信息导入到 Venny (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 中获取两者的交集,即可初步获取潜在作用靶点。

1.3 构建蛋白相互作用 (PPI) 网络

将 1.2 项下获取的潜在作用靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org>) 中,设置物种为 Homo sapiens,即可得到 PPI 网络。最后选择 Export 中的 tsv 文件格式进行下载并保存。将此文件导入 Cytoscape 中进行可视化后得到最终的网络图从而初步获取核心靶点。

1.4 基因本体论 (GO) 功能富集和基因百科全书 (KEGG) 通路分析

将 1.2 项下中得到的药物活性成分靶点和疾病靶点的交集部分导入 Metascape (<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>) 数据库,限定物种为 Homo sapiens,提交之后在 Enrichment 界面分别进行 GO 和 KEGG 分析。

1.5 构建药物活性成分 - 靶点 - 信号通路网络

将 1.3 项下得到的核心靶点、药物活性成分和 1.4 项下所得到的 KEGG 富集信息制作为表格导入 Cytoscape 3.7.2 中,进行相应调节后,使节点的大小能代表度 (degree) 值的大小,最终获取到活性成分 - 靶点 - 信号通路的网络。该网络中 degree 值较高的成分可为后续分子对接验证提供参考。

1.6 获取关键 (Hub) 基因

将 1.3 项下在 STRING 中得到的文件导入 Cytoscape 中, 使用 Cytoscape 中的插件 cytoHubba, 按最大集团中心度 (maximal clique centrality, MCC) 计算方法筛选排名前 10 名的 Hub 基因, 选择其中 degree 值前 5 名作为核心靶点。

1.7 分子对接研究

首先, 在 TCMSP 数据库中获取有效成分的分子结构图并以 mol2 文件格式保存。将分子结构图导入 Autodock Tools 1.4.6 软件中加氢, 使用 grid 功能将其设置为配体后导出为 pdbqt 文件。接着在 PDB (<https://www.rcsb.org>) 数据库中根据分辨率、Macromolecule 筛选单一不含其他杂质、带配体的核心靶点蛋白结构, 保存其 pdb 格式文件。然后在 pymol 软件中将蛋白进行去水分子、去配体等操作; 同时在 Autodock Tools 中加氢后导出 pdbqt 文件。最后, 将所得到的配体小分子和受体大分子一起导入 Autodock Tools 软件中, 计算得到相应的结合能数据。研究表明, 分子对接的结合能越小, 提示活性物质与蛋白质之间结合越牢固, 其数值小于 -4.25 kcal/mol ($1\text{ cal}=4.4\text{ J}$) 时表示活性物质与蛋白质之间有结合活性, 小于 -5.0 kcal/mol 时有较好的结合活性, 小于 -7.0 kcal/mol 时有强烈的结合活性^[11], 因此可以根据结合能计算结果来判断药物有效成分与核心靶点的结合活性。

2 结果

2.1 化橘红潜在活性成分的筛选结果

按照筛选标准筛选后得到 10 个有效成分的 181 个有效靶点, 见表 1。

2.2 药物有效成分靶点基因筛选结果

在 Uniprot 中得到 20 395 个人类蛋白质及其基因信息, 将其中无法匹配的靶点输入 Uniprot 中再次进行查找, 经过筛选去重后, 最终得到 98 个有效成分靶点的基因。

2.3 化橘红治疗酒精性肝损伤的潜在作用靶点

在 GeneCards、OMIM、DisGenet 和 TTD 数据库中筛选得到 1 531 个疾病靶点, 将这些疾病靶点与药物活性成分靶点取交集后最终获得 67 个化橘红治疗酒精性肝损伤的潜在作用靶点, 见图 1。

2.4 核心靶点 PPI

将 2.3 项下得到的交集靶点输入 STRING 后可以得到与网络有关的文件, 将文件导入 Cytoscape 中进行可视化, 见图 2。

2.5 GO 富集分析结果

根据 Metascape 数据库的 GO 分析, 可以得到 P 值 <0.05 的条目共有 50 条, 其中细胞组分 (CC)

表 1 化橘红有效成分基本信息

Table 1 Basic information on effective components of Citri Grandis Exocarpium

MOL ID	名称	OB/%	DL
MOL010267	LYC	32.57	0.51
MOL013276	poncirin(枸橼苷)	36.55	0.74
MOL013277	isosinensetin(异橙黄酮)	51.15	0.44
MOL013279	5,7,4'-trimethylapigenin (5,7,4'-三甲氧基黄酮)	39.83	0.30
MOL001798	neohesperidin(新橙皮苷)	71.17	0.27
MOL001803	sinensetin(甜橙黄酮)	50.56	0.45
MOL000358	beta-sitosterol(β -谷甾醇)	36.91	0.75
MOL004328	naringenin(柚皮素)	59.29	0.21
MOL005828	nobiletin(川陈皮素)	61.67	0.52
MOL005849	didymin(香风草苷)	38.55	0.24

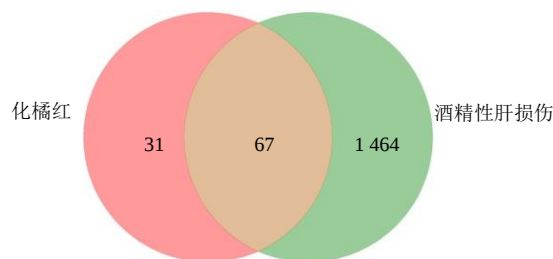


图 1 药物靶点与疾病靶点交集图

Fig. 1 Crossplot of drug targets and disease targets

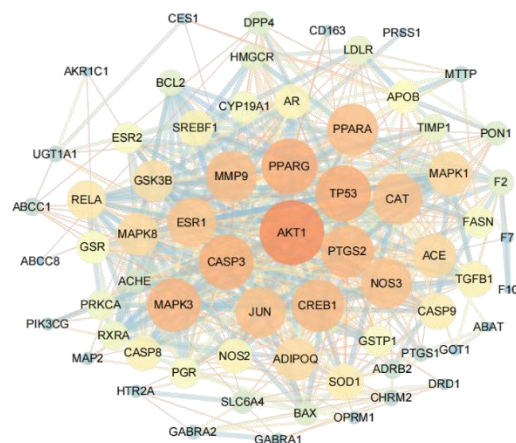


图 2 化橘红治疗酒精性肝损伤潜在作用靶点的 PPI

Fig. 2 PPI diagram of potential targets of Citri Grandis Exocarpium in treatment of alcoholic liver injury

含有 10 条, 分别为内质网腔 (endoplasmic reticulum lumen)、膜筏 (membrane raft)、受体复合 (receptor complex)、过氧化物酶体 (peroxisome) 等; 分子功能 (MF) 有 20 条, 其中包括脂质转运蛋白活性 (lipid transporter activity)、抗氧化活性 (antioxidant activity)、蛋白质同二聚化活性 (protein homodimerization activity); 生物过程 (BP) 有 20

条, 其中含有对类固醇激素的反应 (response to steroid hormone)、类固醇代谢过程 (steroid metabolic process)、对酒精的反应 (response to alcohol) 等。将这些数据进行处理并导入微生信 (http://www.bioinformatics.com.cn/plot_basic_gopathway_enrichment_bubbleplot_081) 中得到结果, 见图 3。

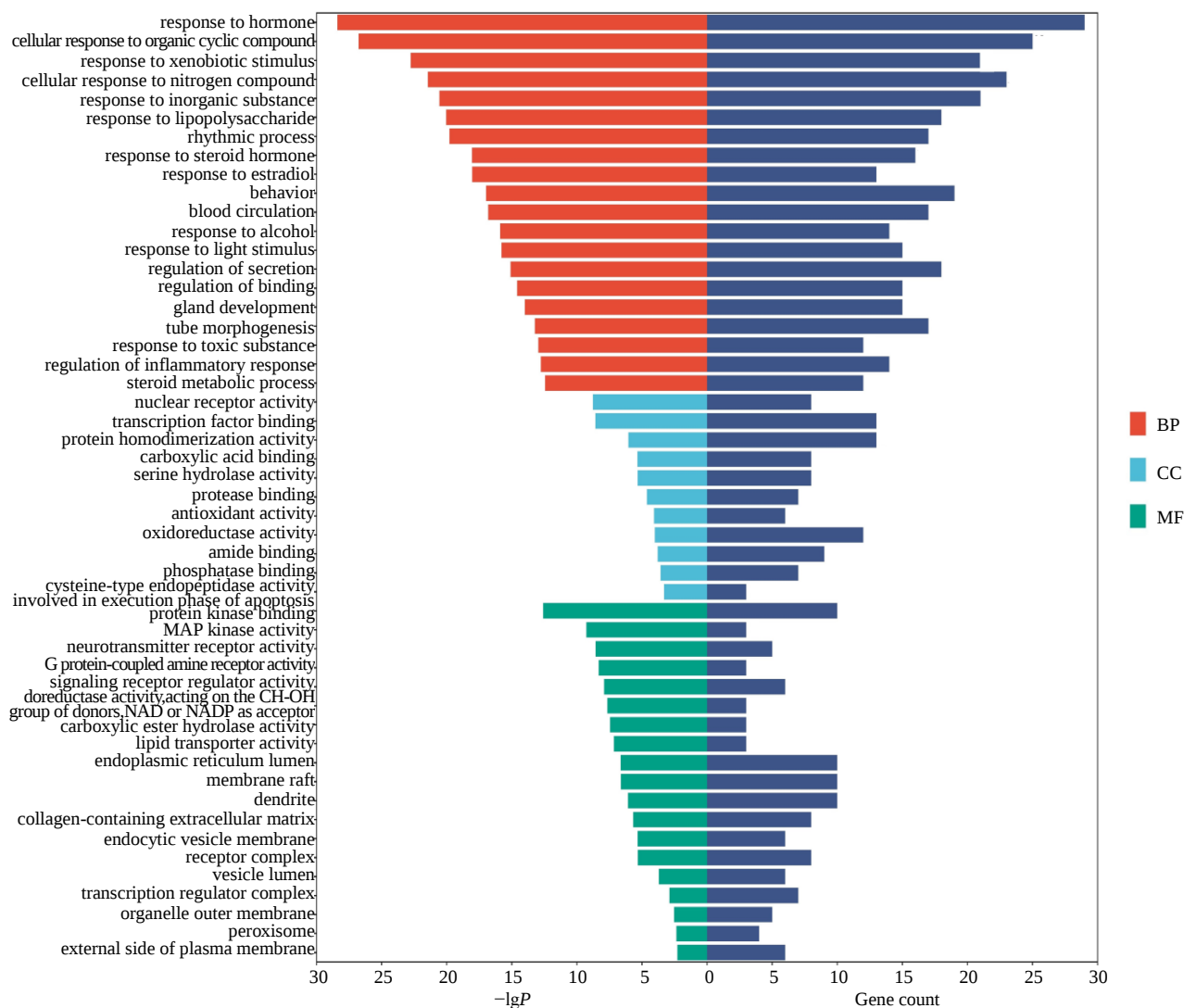


图 3 核心靶点的 GO 分析
Fig. 3 GO analysis of core targets

2.6 KEGG 富集分析结果

在 Metascape 里进行 KEGG 富集分析, 共得到 20 条通路, 其中脂质和动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis) 信号通路、化学致癌 - 受体激活 (chemical carcinogenesis - receptor activation) 信号通路、长寿调节 (longevity regulating pathway) 通路等为主要的富集通路。将 20 条富集通路的相关信息导入到微生信中后得到了 KEGG 富集通路图, 见

图 4。

2.7 药物活性成分 - 靶点 - 通路网络的构建

将药物活性成分、交集靶点基因和 KEGG 富集所得到的通路导入 Cytoscape 中进行网络构建, 该网络图含有 95 个节点, 268 条连线, 见图 5。从图中可知, 药物成分中柚皮素、川陈皮素、 β -谷甾醇、异橙黄酮的 degree 值较高, 可将其视为化橘红作用于酒精性肝损伤的重要活性成分。

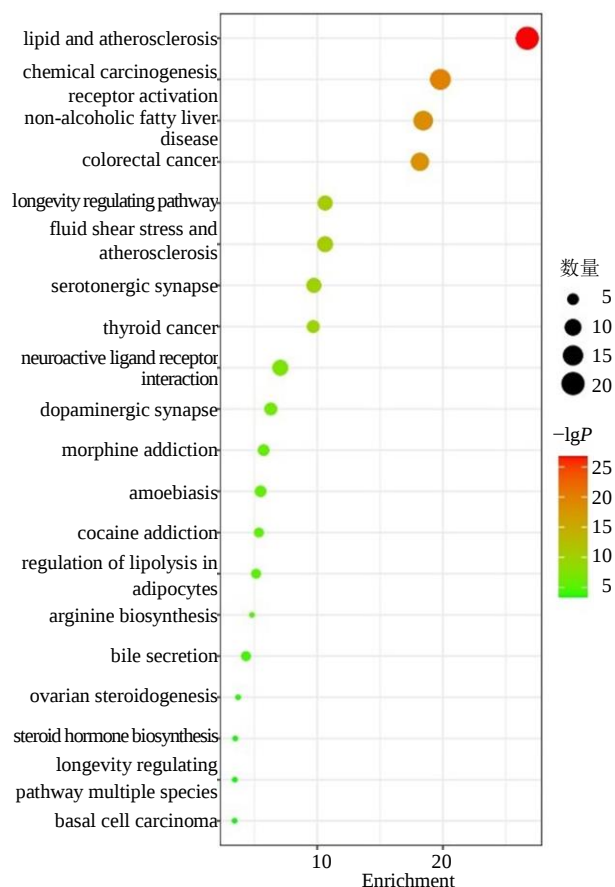


图 4 KEGG 富集通路图

Fig. 4 KEGG enrichment pathway map

2.8 Hub 基因

将 2.4 项下输入 STRING 中后得到的网络导入 Cytoscape 中, 使用 Cytoscape 中的插件 cytoHubba, 按 MCC 计算方法, 筛选排名前 10 名的 Hub 基因作为核心靶点, 见图 6。排名前 10 名的核心靶点中肿瘤蛋白 p53 (TP53)、前列腺素内过氧化物酶 2 (PTGS2)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、转录因子 AP-1 (JUN)、蛋白激酶 B1 (AKT1) 的 degree 值较高, 可将其视为分子对接时的重点验证对象。

2.9 分子对接分析结果

在 PDB 数据库中查找并筛选 TP53、PTGS2、CASP3、AKT1、JUN 的 pdb 形式, 同时在 TCMSP 中查找 2.7 项下得到的重要成分的 mol2 结构后, 根据 1.7 项下的步骤利用 Autodock Tools 1.5.6 得到受体与配体, 即大分子蛋白与小分子, 计算两者之间的结合能大小, 见表 2。此外, 利用 Pymol 将对接结果进行可视化分析, 见图 7。

分子对接可视化结果显示, 化橘红活性成分进入了关键靶点蛋白的活性位点, 且与活性位点处的某些氨基酸残基通过 1~6 个氢键相互作用 (其中 JUN 与 β -谷甾醇, CASP3 与 β -谷甾醇未形成氢键), 这些氨基酸大部分是极性氨基酸, 少部分是非极性氨基酸。其中 5,7,4'-三甲基芹菜素在 47 号位的半胱氨酸处、 β -谷甾醇在 52 号位的脯氨酸处分别通过 1

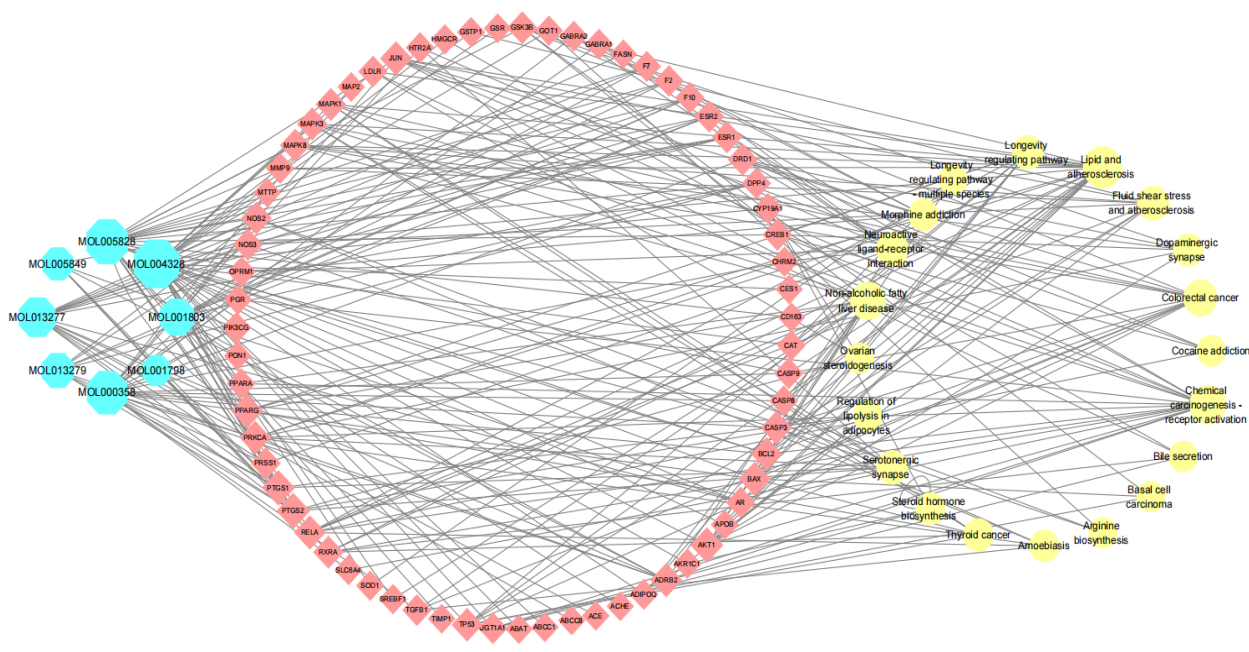


图 5 活性成分-靶点-通路网络图

Fig. 5 Active ingredients-target-pathway network diagram

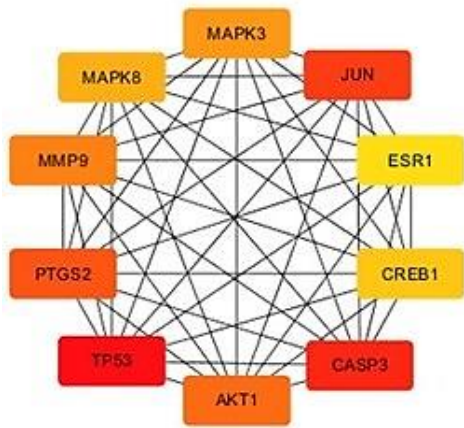


图 6 交集靶点中的 Hub 基因图
Fig. 6 Hub gene map in intersection targets

表 2 核心靶点与活性成分结合能

核心靶点	活性成分	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
JUN	nobiletin	-5.67
	beta-sitosterol	-7.51
PTGS2	naringenin	-5.74
	isosinensetin	-2.79
	5,7,4'-trimethylapigenin	-5.94
	neohesperidin	-1.85
	beta-sitosterol	-6.45
	nobiletin	-3.08
AKT1	didymin	-3.83
	naringenin	-5.41
TP53	naringenin	-5.31
CASP3	naringenin	-5.66
	beta-sitosterol	-7.57

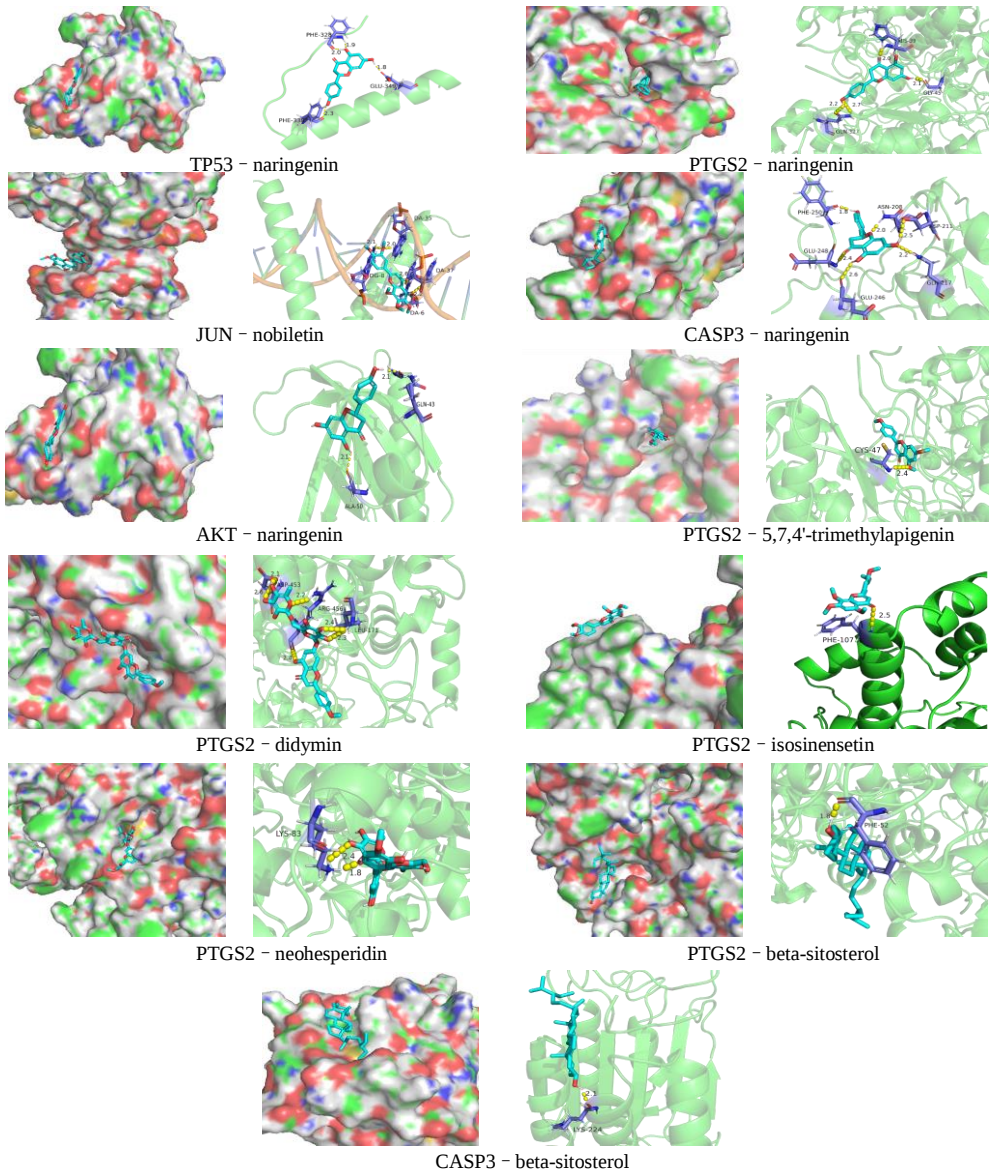


图 7 分子对接结果可视化分析图
Fig. 7 Visual analysis charts of molecular docking results

个氢键与 PTGS2 相互作用；柚皮素与 TP53 的 PHE328、PHE339、GLU349 残基共形成 4 个氢键，与 PTGS2 蛋白的 GLN327、GLY45、HIS39 残基共形成 4 个氢键，与 CASP3 蛋白 ASN208、ASP211、GLU248、GLU246 等残基共形成 6 个氢键，与 AKT1 蛋白的 ALA50、GLN43 残基共形成 2 个氢键；香风草苷、异橙黄酮、新橙皮苷分别与 PTGS2 蛋白的 ASP453 和 ARG456 残基、PHE107 残基、LYS83 残基形成氢键。此外，图 7 可视化结果中，化合物与关键靶点形成的氢键长度都在 1~3，说明氨基酸与化合物形成的氢键距离较近，结合相对较为紧密。

3 讨论

本研究通过网络药理学与分子对接技术，预测了化橘红治疗酒精性肝损伤的潜在作用机制。通过构建 PPI 网络、GO 与 KEGG 分析，筛选出了 degree 值较高的药物活性成分以及 5 个核心靶点，50 条 GO 功能条目，20 条 KEGG 富集通路。

“药物活性成分-靶点-通路”网络显示，柚皮素、川陈皮素、 β -谷甾醇、异橙黄酮是化橘红治疗酒精性肝损伤疾病的活性成分。柚皮素是一种具有抗氧化、抗纤维化、抗炎和抗癌活性的类黄酮，主要通过阻断氧化应激、炎症反应、转化生长因子- β /白细胞抑制因子-3 (TGF- β /Smad3) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) /Smad3 通路发挥抗纤维化作用^[12]，能够降低多种化学物质引起的肝损伤^[13]；另外，有实验表明柚皮素脂质体冻干粉针治疗酒精性肝损伤疗效显著^[14]。Chen 等^[15]的研究表明， β -谷甾醇可抑制血清中由酒精引起的生化环境变化，恢复红细胞的流动性以及抗氧化酶的活性，减少谷胱甘肽消耗，缓解酒精引起的氧化应激反应；川陈皮素与异橙黄酮都属于类黄酮物质，有研究表明，类黄酮能影响酒精损伤的肝细胞中的鞘脂代谢，恢复受损肝细胞中鞘脂转换关键酶和神经酰胺的活性，并稳定肝细胞膜，具有保肝作用^[16]。

Cytoscape 筛选的 Hub 基因结果显示，TP53、PTGS2、CASP3、AKT1、JUN 为化橘红作用的核心靶点。Hussain 等^[17]的研究表明，由饮酒或病毒感染等引起的肝细胞癌与 TP53 的突变有关。PTGS2 是 PTGS 蛋白中的一种，与前列腺素生物合成有关。有研究表明，人体摄入酒精之后，酒精可能降低 Kupffer 细胞中环氧化酶 (COX) -1 含量，并通过细胞因子、内毒素等促炎因子诱导 COX-2 表达，导致酒精性肝损伤的发生^[18]。化橘红中的柚皮素能够降

低 COX-2 的表达，因此可以减少 COX-2 对机体的损伤^[19]。CASP3 在细胞凋亡以及相关疾病中发挥着不可替代的作用^[20]。研究表明，调节 Caspase-3 信号通路，减少 CASP3 的表达能减少肝细胞凋亡，对肝纤维化疾病有一定的治疗效果^[21]。AKT1 属于 AKT 家族成员，参与细胞代谢、凋亡、转录调控多种生理过程。Reyes-Gordillo 等^[22]通过对比不同类型 AKT 激酶在酒精性肝损伤中的作用发现，AKT1 能显著抑制肝星状细胞 (HSC) 和 Kupffer 细胞中炎症因子的产生，同时抑制 HSC 细胞的增殖以及肝纤维化，在酒精性肝癌中起了重要作用。包含 JunB、c-Jun 等成员在内的 JUN 家族与肝脏疾病的产生有一定的关系，有文献表明，c-Jun 的高表达会增加肝硬化以及肝癌的发生率^[23-24]。

KEGG 富集分析后得到的通路结果显示，化橘红主要通过 lipid and atherosclerosis 等通路发挥作用。脂质和动脉粥样硬化通路涉及 NOD 样受体 (NOD-like receptor) 信号通路和磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路，前者可表达 IL-1 β 。研究表明，IL-1 β 的上调是酒精性肝损伤的显著特征^[25]。Zeng 等^[26]的实验结果表明，PI3K/Akt 通路的激活与乙醇诱导的急性脂肪肝有关，且 PI3K/Akt 抑制剂可能具有治疗乙醇诱导脂肪肝的能力。非酒精性脂肪性肝病中的 NF- κ B 通路可表达出与肝脏再生以及肝脏代谢功能有关的 IL-6^[27]，以维持肝细胞稳态。此外，根据 Metascape 数据库 KEGG 分析图，化学致癌-受体激活通路涉及过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR) 信号通路。有研究表明，抑制 PPAR 与 Fmo5 的表达可激活 NF- κ B 信号通路，从而诱导肠道菌群发挥作用以抑制酒精性肝损伤^[28]。由 KEGG 分析的结果可见，化橘红治疗酒精性肝损伤与多条信号通路有关。

综上所述，化橘红治疗酒精性肝损伤可能与其通过调节 NOD-like receptor、PI3K/Akt、NF- κ B 等信号通路来抑制与酒精性肝损伤有关的炎症因子的生成有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 梁晓晓, 袁林. 中药治疗对酒精性肝损伤的保护机制研究进展 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2021, 5(8): 135-138.
- [2] Rocco A, Compare D, Angrisani D, et al. Alcoholic disease: Liver and beyond [J]. *World J Gastroenterol*,

- 2014, 20(40): 14652-14659.
- [3] 谢艳迪, 魏来. 饮酒及酒精性肝病的流行病学现状 [J]. 肝博士, 2017, 79(6): 24-26.
- [4] 高潇雪, 刘立新. 酒精性肝病流行病学及发病机制研究进展 [J]. 中华消化病与影像杂志: 电子版, 2016, 6(2): 62-65.
- [5] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [6] 葛驰宇, 张君丽, 周敏. 绿豆多肽化橘红复合解酒饮料的解酒作用研究 [J]. 酿酒科技, 2018, 290(8): 53-58.
- [7] 刘影, 庞富. 化橘红有效成分柚皮苷的研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2021, 34(2): 8-10.
- [8] 邓少东, 王莲婧, 林励, 等. 化橘红黄酮类成分 UPLC 与 HPLC 指纹图谱的比较研究 [J]. 中草药, 2013, 44(9): 1195-1198.
- [9] 吴道顺, 王梦晨, 张雪涟, 等. 化橘红水提物对酒精诱导的急性肝损伤保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(19): 42-48.
- [10] 肖凤霞, 林励, 马艳艳, 等. 毛橘红总黄酮对酒精性肝损伤大鼠炎症细胞因子的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2011, 28(4): 396-398.
- [11] 刘鑫, 范卫锋, 戴卫波, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨冬虫夏草抗肿瘤的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(3): 483-492.
- [12] Hernandez-aquino E, Muriel P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(16): 1679-1707.
- [13] Yang J, Wang X Y, Xue J, et al. Protective effect of apigenin on mouse acute liver injury induced by acetaminophen is associated with increment of hepatic glutathione reductase activity [J]. *Food Funct*, 2013, 4(6): 939-943.
- [14] 季鹏, 赵文明. 柚皮素脂质体冻干粉的制备及其药效学评价 [J]. 中国医学科学院学报, 2015, 37(2): 208-214.
- [15] Chen Z, Wu A, Jin H, et al. β -sitosterol attenuates liver injury in a rat model of chronic alcohol intake [J]. *Arch Pharm Res*, 2020, 43(11): 1197-1206.
- [16] Babenko N A, Shakhova E G. Effects of flavonoids on sphingolipid turnover in the toxin-damaged liver and liver cells [J]. *Lipids Health Dis*, 2008, 7: 1.
- [17] Hussain S P, Schwank J, Staib F, et al. TP53 mutations and hepatocellular carcinoma: Insights into the etiology and pathogenesis of liver cancer [J]. *Oncogene*, 2007, 26(15): 2166-2176.
- [18] Meng X, Tang G Y, Zhao C N, et al. Hepatoprotective effects of *Hovenia dulcis* seeds against alcoholic liver injury and related mechanisms investigated via network pharmacology [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(24): 3432-3446.
- [19] Ali R, Shahid A, Ali N, et al. Amelioration of benzo [a] pyrene-induced oxidative stress and pulmonary toxicity by naringenin in wistar rats: A plausible role of COX-2 and NF- κ B [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2017, 36(4): 349-364.
- [20] Lei Q, Huang X, Zheng L, et al. Biosensors for caspase-3: From chemical methodologies to biomedical applications [J]. *Talanta*, 2022, 240: 123198.
- [21] Wang R, Song F, Li S, et al. Salvianolic acid a attenuates CCl₄-induced liver fibrosis by regulating the PI3K/AKT/mTOR, Bcl-2/Bax and caspase-3/cleaved caspase-3 signaling pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 1889-1900.
- [22] Reyes-Gordillo K, Shah R, Arellanes-Robledo J, et al. Akt1 and Akt2 isoforms play distinct roles in regulating the development of inflammation and fibrosis associated with alcoholic liver diseases [J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1337.
- [23] 王磊, 张瑞, 孟艳玲, 等. 转录因子 JunB 在肝癌细胞中的表达、定位及其转录作用研究 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(1): 5-8.
- [24] 杨跃武, 叶志强, 孔庆磊, 等. c-Jun 蛋白在肝细胞癌中的表达及其意义 [J]. 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2015, 4(4): 250-253.
- [25] Petrasek J, Bala S, Csak T, et al. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(10): 3476-3489.
- [26] Zeng T, Zhang C L, Song F Y, et al. PI3K/Akt pathway activation was involved in acute ethanol-induced fatty liver in mice [J]. *Toxicology*, 2012, 296(1-3): 56-66.
- [27] Schmidt-Arras D, Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(6): 1403-1415.
- [28] Kong L, Chen J, Ji X, et al. Alcoholic fatty liver disease inhibited the co-expression of Fmo5 and PPAR α to activate the NF- κ B signaling pathway, thereby reducing liver injury via inducing gut microbiota disturbance [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021. 40(1): 18.

[责任编辑 高源]