

【实验研究】

整合网络毒理学和网络药理学的合欢皮抗焦虑毒效机制探究

梁雨璐, 张 洁, 李忆红, 解嘉琪, 刘传鑫*, 黄建梅*

北京中医药大学 中药学院, 北京 102400

摘要: 目的 通过整合网络毒理学和网络药理学, 探究合欢皮抗焦虑的治疗机制和导致肾损伤的致毒机制。方法 基于ETCM、TCMID和BATMAN-TCM数据库收集合欢皮化学成分, 并通过文献检索对合欢皮的生物活性成分进行筛选和补充。基于PharmMapper、SwissTargetPrediction、BATMAN-TCM和ETCM数据库获取成分对应靶点; 在CTD和GeneCards数据库中检索得到焦虑症和肾毒性相关靶点, 分别与药物靶点取交集得到药效和毒性共有靶点; 将共有靶点导入STRING数据库进行蛋白互作分析, 在Cytoscape软件进行可视化分析; 采用STRING数据库进行GO生物分析和KEGG通路富集分析。结果 筛选得到生物活性成分共51个, 对应靶点747个, 其与焦虑症和肾毒性交集靶点分别为134、144个, 相关通路分别为173、184条。合欢皮可通过调控cAMP、RAS、MAPK、雌激素、催乳素、甲状腺激素和TNF等信号途径治疗焦虑症; 其肾毒性的产生与BCL2、SOD靶点以及VEGF、MAPK、mTOR、PI3K-Akt、HIF-1、TNF、Toll-like、NOD-like等信号通路关系密切。结论 发现合欢皮抗焦虑成分主要为木脂素及黄酮类化合物, 致毒成分主要为皂苷类化合物。抗焦虑作用可能通过影响神经递质5-HT以及下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴、下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴、下丘脑-垂体-甲状腺(HPT)轴发挥作用, 并通过诱导炎症反应、缺氧状态、异常凋亡、氧化应激反应和自噬失衡产生肾毒性。

关键词: 网络药理学; 网络毒理学; 合欢皮; 焦虑症; 肾毒性

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)07-1411-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.07.008

Toxicity-efficacy mechanism of *Albizia Cortex* on anxiolytic effects by integrating network toxicology and network pharmacology

LIANG Yulu, ZHANG Jie, LI Yihong, XIE Jiaqi, LIU Chuanxin, HUANG Jianmei

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102400, China

Abstract: Objective To explore the anxiolytic effects mechanism and nephrotoxicity mechanism of *Albizia Cortex* by integrating network pharmacology and network toxicology. **Methods** The chemical components of *Albizia Cortex* was collected from ETCM, TCMID and BATMAN-TCM databases. The bioactive constituents of *Albizia Cortex* were screened and supplemented by literature search. The corresponding targets were obtained from PharmMapper, SwissTargetPrediction, BATMAN-TCM and ETCM databases. The anxiety disorder targets and nephrotoxicity targets which were obtained from the CTD and GeneCards databases were intersected with drugs targets separately and introduced into the STRING database to construct the protein interaction network diagram. Visual analysis was carried out in Cytoscape, and GO biological process and KEGG enrichment analysis were carried out in the STRING database. **Results** A total of 51 bioactive compounds were obtained, corresponding to 747 targets. There were 134 cross-targets and 173 related pathways in anxiety, 144 cross-targets and 184 related pathways in nephrotoxicity. The results show that the *Albizia Cortex* could regulate the cAMP, Ras, MAPK, Estrogen, Prolactin, Thyroid hormone and TNF pathways to treat anxiety disorders. Nephrotoxicity is closely related to BCL2, SOD targets and VEGF, MAPK, mTOR, PI3K-Akt, HIF-1, TNF, Toll-like, NOD-like pathways. **Conclusion** The study found that the anxiolytic components of *Albizia Cortex* were mainly lignans and flavonoids, and the toxic components were mainly saponins. The anxiolytic effect probably influenced the 5-HT and HPA, HPG, HPT, and induce

收稿日期: 2020-12-01

第一作者: 梁雨璐, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为抗焦虑中药研究。E-mail: 20200935100@bucm.edu.cn

*通信作者: 刘传鑫, 男, 在读博士研究生, 研究方向为糖尿病及临床用药风险研究。E-mail: 15222003775@163.com

黄建梅, 女, 博士、教授、博士生导师, 研究方向为中药有效成分及体内过程分析。E-mail: huangjm@bucm.edu.cn

nephrotoxicity by inducing inflammation, hypoxia, abnormal apoptosis, oxidative stress and autophagy imbalance.

Key words: network pharmacology; network toxicology; *Albizia Cortex*; anxiety disorders; nephrotoxicity

焦虑症(anxiety disorder, AD)主要分为广泛性焦虑(generalized anxiety disorder, GAD)和惊恐障碍(panic disorder, PD)2种。目前治疗焦虑症的一线药物包括苯二氮草类、选择性5-羟色胺(5-HT)的再摄取抑制剂、去甲肾上腺素等^[1]。苯二氮草类药物治疗效果良好,但其不良反应和后遗症严重,且长期使用会产生耐受性和依赖性^[2]。焦虑症患者的病程往往较长且反复发作,这些抗焦虑药物存在着广泛的不良反应,如乏力、头昏、嗜睡和记忆力减退等,长期使用副作用较大,对患者的工作生活各方面带来负面影响的同时也造成了很大的经济负担^[3]。因此,具有抗焦虑作用的中药具有较大的开发潜力,研究安全、高效、低毒的天然抗焦虑药物具有深远意义。

合欢皮为豆科植物合欢 *Albizia julibrissin* Durazz. 的干燥树皮,其性甘、平,归心、肝、肺经,具有解郁安神、活血消肿等功效,主要用于治疗心神不安,忧郁失眠,肺病,疮肿,跌扑伤痛等疾病^[4]。最早在《神农本草经》^[5]中记载合欢皮具有“令人欢乐无忧”“久服轻身明目得所欲”的功效。熊永豪等^[6]研究发现2.5 g/kg合欢皮水提液对小鼠具有一定的抗焦虑作用,其作用机制与提高小鼠脑 γ -氨基丁酸(GABA),降低脑内谷氨酸(Glu)和5-HT的含量有关。田微^[7]和冯波等^[8]研究发现,合欢皮抗焦虑的主要成分为木脂素类化合物,且合欢皮对脑组织中单胺类神经递质的调节作用相比于氨基酸类、乙酰胆碱神经递质更为显著。这些研究表明合欢皮具有较好的抗焦虑作用,然而合欢皮存在一定的毒性。合欢皮总皂苷口服致毒剂量(7.5 mg/kg)具有肾毒性,促使肾小球细胞凋亡,可能与其降低肾组织的抗氧化能力,改变凋亡相关基因的表达,升高环氧合酶-1(COX-1)的表达有关^[9]。因此,借助网络药理学及网络毒理学,认识合欢皮的药效和毒性物质基础及作用机制,探究其用药的安全范围具有一定的临床意义。

网络药理学是指在系统生物学理论的基础上,通过建立药物-靶点、疾病-靶点之间的关系预测模型,整合两者间的相互作用网络,从而分析药物在各网络模块中与特定节点之间的相互作用,从整体性、系统性的角度去探究药物与潜在靶点之间作用关系的方法^[10]。网络毒理学的方法与网络药理学基本一致,是指构建特定的网络模型以描绘药物的毒理学性质,从而了解药物的毒副作用,预测药物

的毒性成分^[11]。基于以上研究现状,本研究整合网络药理学和网络毒理学,初步阐述了合欢皮抗焦虑的治疗机制和导致肾损伤的致毒机制,旨在找到合欢皮合理用药的范围,在降低肾毒性的同时达到抗焦虑的治疗效果,为临床用药安全性评估提供参考。

1 材料与方法

1.1 合欢皮化学成分的收集

从中医药百科全书数据库(ETCM, <http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/Index/>)、中药综合数据库(TCMID, <http://119.3.41.228:8000/tcmid/>)和BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)中检索合欢皮化学成分,构建合欢皮化学成分数据库。通过文献检索对具有药理作用的化学成分及入血成分进行补充和筛选,得到合欢皮的生物活性成分。

1.2 合欢皮活性成分-靶点库的建立

PharmMapper 数据库^[12](<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)是一个药效团匹配与潜在识别靶点的平台,基于TargetBank、DrugBank、BindingDB和PDTD数据库进行小分子和特异靶点受体之间的相互作用分析。SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)基于Daylight FP2的分子指纹方法,并采用Tanimoto系数定义的相似度度量方法预测生物活性分子靶点。

利用PubChem数据库检索合欢皮活性成分,将化合物的2D结构保存为SDF格式,数据库中未收录的活性成分使用ChemDraw 18.0软件进行绘制,并保存为SDF格式。将SDF格式文件导入PharmMapper数据库中,检索条件中筛选目标设置为“Human Protein Targets Only”,选取每个活性成分排名前100的靶点;在SwissTargetPrediction数据库中导入活性成分的SDF格式文件,自动转化为Canonical SMILES形式,预测活性化合物的潜在靶点,检索条件中物种设置为“Homo sapiens”,剔除可能性为0的靶点,从而剔除没有相关信息的化学成分。导入UniProt(<https://www.uniprot.org/>)中获取靶点标准基因名,并用BATMAN-TCM、ETCM中已有的靶点进行补充,去除重复项,得到合欢皮活性成分-靶点库。

1.3 焦虑症、肾毒性相关靶点库的建立

在比较基因组学毒理数据库Comparative Toxicogenomics Database(CTD, <http://ctdbase.org/>)

中输入关键词“焦虑症(anxiety disorders)”筛选已报道的、与焦虑症相关的,标记有“marker/mechanism”的基因;在 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)中输入关键词“anxiety disorders”,将得到的靶点根据“relevance score”采用中位数法进行筛选。将两个数据库得到的靶点去除重复基因和假阳性基因,得到焦虑症相关靶点。

在 GeneCards 数据库中 输入 关键词“nephrotoxicity”“renal toxicity”收集和肾毒性相关的基因,将得到的靶点根据“relevance score”采用中位数法进行筛选,得到肾毒性相关靶点。

1.4 合欢皮“活性成分-靶点网络”的构建

在 Draw Venn Diagram (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)中,将药物潜在靶点分别与焦虑症和肾毒性的作用靶点进行映射比对,获取交集靶点,得到合欢皮治疗焦虑症和导致肾毒性的潜在作用靶点。

利用 Cytoscape 软件中的相关分析程序,对合欢皮中生物活性成分和作用靶点特征进行分析,明确网络中较为重要的节点。查阅文献并分析重要节点间的相互作用。

1.5 交互网络的构建和分析

STRING 数据库收录了计算、实验、文献等方法的蛋白相互作用关系,是目前常用的构建蛋白相互作用(PPI)网络的数据库;Cytoscape 3.6.1 软件可用于计算网络中所有节点的拓扑参数,一般可以选取连接度(degree)、中介中心度(betweenness)、接近中心度(closeness)等参数作为核心节点的筛选条件来构建与分析成分-作用靶点网络。网络图中“节点(node)”代表合欢皮中的活性成分和作用靶点,“边(edge)”代表活性成分和作用靶点间的相互

关系。

将共有靶点输入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),限定物种为人源,获取蛋白相互作用关系,将其保存为 TSV 格式文件,导入 Cytoscape 软件进行可视化。

1.6 基因本体论(Gene ontology, GO)生物功能过程和KEGG代谢通路富集分析

GO 是用于描述基因产物功能并且广泛应用于生物信息学领域的一个本体^[13],通过生物途径(Biology Process)、分子功能(Molecular Function)、细胞成分(Cellular Component)3 个角度对基因进行分析。京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)用于从基因组和分子水平信息中了解生物系统的高级功能和效用,以整合和解释基因组测序和其他高通量实验技术得到的大规模数据集。

将上述共有靶点导入 STRING 在线数据库进行 GO 生物分析与 KEGG 通路分析。并根据命中的靶点数目进行排序,筛选排名靠前的生物过程或通路,用 GraphPad Prism 5.0 软件进行绘图。

2 结果

2.1 合欢皮成分的筛选

在 ETCM 数据库中得到合欢皮已报道成分 36 个,TCMID 数据库中 47 个,BATMAN-TCM 数据库中 15 个,去除重复项之后,共收集到 47 个化学成分。同时通过文献检索,对于药理作用明确的化学成分以及入血成分作为候选活性成分,最终筛选得到生物活性成分共 51 个,具体信息见表 1。经 PharmMapper、SwissTargetPrediction、BATMAN-TCM、ETCM 数据库筛选,共获得合欢皮成分对应靶点 747 个。

表 1 合欢皮候选活性成分

Table 1 Candidate active components of *Albizia Cortex*

编号	PubChem CID	化合物	分子式	筛选依据
1	101316870	金合欢皂苷元 b(acacigenin b)	C ₄₀ H ₆₀ O ₇	抗炎 ^[14]
2	11399341	合欢布里苷 b(albibrissinoside b)	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₆	抗氧化 ^[15]
3	6449968	合欢皂苷 J1(julibroside j1)	C ₁₀₁ H ₁₆₀ O ₄₉	对癌细胞有细胞毒性 ^[16]
4	102349745	合欢皂苷 J5(julibroside j5)	C ₁₀₁ H ₁₆₀ O ₄₉	抗血管新生作用 ^[17] 、抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
5	11446277	合欢皂苷 J8(julibroside j8)	C ₁₀₂ H ₁₆₂ O ₄₉	抗血管新生作用 ^[19] 、抑制肿瘤细胞活性 ^[20] 、对癌细胞有细胞毒性 ^[16]
6	22524324	合欢皂苷 J9(julibroside j9)	C ₁₀₁ H ₁₆₀ O ₄₉	对癌细胞有细胞毒性 ^[16]
7	11491910	合欢皂苷 J12(julibroside j12)	C ₁₀₄ H ₁₆₅ NO ₄₉	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
8	11297918	合欢皂苷 J13(julibroside j13)	C ₁₀₄ H ₁₆₅ NO ₄₉	抑制肿瘤细胞活性 ^[18] 、对癌细胞有细胞毒性 ^[21]
9	49831336	合欢皂苷 J16(julibroside j16)	C ₁₀₂ H ₁₆₂ O ₄₈	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
10	11679801	合欢皂苷 J18(julibroside j18)	C ₉₈ H ₁₅₅ NO ₄₆	抑制肿瘤细胞活性 ^[22]
11	3216	合欢皂苷 J19(julibroside j19)	C ₉₈ H ₁₅₅ NO ₄₆	抑制肿瘤细胞活性 ^[22]
12	49831338	合欢皂苷 J21(julibroside j21)	C ₁₀₀ H ₁₅₈ O ₄₉	对癌细胞有细胞毒性 ^[23]

续表1

编号	PubChem CID	化合物	分子式	筛选依据
13	—	合欢皂苷 J22(julibroside j22)	C ₈₇ H ₁₃₉ NO ₄₃	抑制癌细胞增殖 ^[24]
14	—	合欢皂苷 J25(julibroside j25)	C ₈₅ H ₁₃₆ O ₄₃	抑制癌细胞增殖 ^[24]
15	20056072	合欢皂苷 J28(julibroside J28)	C ₁₀₄ H ₁₆₅ NO ₄₈	抗肿瘤 ^[25]
16	44448243	合欢皂苷 J29(julibroside J29)	C ₈₈ H ₁₄₁ NO ₄₃	抗肿瘤 ^[26]
17	44411377	合欢皂苷 J30(julibroside J30)	C ₈₇ H ₁₃₉ NO ₄₃	抗肿瘤 ^[26]
18	44411378	合欢皂苷 J31(julibroside J31)	C ₉₂ H ₁₄₈ O ₄₈	抗肿瘤 ^[26]
19	—	合欢皂苷 J41(julibroside J41)	C ₁₀₃ H ₁₆₃ NO ₄₉	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
20	—	合欢皂苷 J42(julibroside J42)	C ₁₀₃ H ₁₆₃ NO ₄₉	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
21	9942102	合欢皂苷 J43(julibroside J43)	C ₁₀₈ H ₁₇₂ O ₅₃	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
22	—	合欢皂苷 J44(julibroside J44)	C ₁₀₈ H ₁₇₂ O ₅₂	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
23	—	合欢皂苷 J45(julibroside J45)	C ₁₀₈ H ₁₇₂ O ₅₂	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
24	—	合欢皂苷 J46(julibroside J46)	C ₁₀₈ H ₁₇₂ O ₅₂	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
25	442644	juliflorine	C ₄₀ H ₇₅ N ₃ O ₂	抗菌 ^[27] 、解热、细胞毒性 ^[28] 、阿尔茨海默病的候选药物 ^[29]
26	5281646	桑橙酮(macluraxanthone)	C ₂₃ H ₂₂ O ₆	抗胆碱酯酶、抗氧化、抗癌、抗疟疾和抗炎等 ^[30]
27	439260	去甲肾上腺素(noradrenaline)	C ₈ H ₁₁ NO ₃	α受体激动、收缩血管,提升血压、加快心率,兴奋心脏
28	6999736	L-(-)-N-去甲亚美罂粟碱(norarmepavine)	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	解痉 ^[31] 、抗氧化 ^[32]
29	16133892	鞣质(tannins)	C ₇₆ H ₅₂ O ₄₆	抗氧化、降脂、降压等 ^[33]
30	54690394	维生素C(vitamin C)	C ₆ H ₈ O ₆	抗炎、抗病毒、抗自由基氧化,减少心肌耗氧量、增加冠脉血流量和心血输出量、促进心肌糖原转化、预防和修复心肌缺血和损伤、抗心律失常、保护肾脏、协同治疗糖尿病
31	45482321	(-)-丁香树脂酚-4-O-β-D-葡萄糖苷((-)-syringaresinol-4-O-β-D-glucopyranoside)	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	在焦虑症的发病机制中具有神经保护和抗凋亡的作用 ^[34] 以原型成分入血 ^[35] 、抗焦虑 ^[36] 、抗氧化 ^[15]
32	90946965	(7S,8R)-赤式-丁香酚基丙三醇-芥子醇醚-9-O-β-D-葡萄糖苷((7S,8R)-erythro-syringylglycerol-β-O-4'-sinapyl ether-9-O-β-D-glucopyranoside)	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₄	改善脂肪变性、促进人脐静脉内皮细胞的增殖、抗氧化 ^[37]
33	10483388	(+)-南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷((+)-lyoniresinol-9'-O-glucoside)	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₃	改善脂肪变性、促进人脐静脉内皮细胞的增殖、抗氧化 ^[37]
34	10031185	(-)-南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷((-)-lyoniresinol-9'-O-glucoside)	C ₂₈ H ₃₈ O ₁₃	改善脂肪变性、促进人脐静脉内皮细胞的增殖、抗氧化 ^[37]
35	91884923	淫羊藿次苷 E5(icaraside E5)	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	促进人脐静脉内皮细胞的增殖,且无明显的细胞毒性 ^[37]
36	443024	无梗五加苷 B((+)-syringaresinol-O-β-D-glucoside)	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	抑制肿瘤细胞脂滴的生成、抑制脂肪酸合酶 ^[38]
37	192547	秃毛冬青素 I(glaberide I)	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	以原型成分入血 ^[36]
38	71312557	(-)-丁香树脂-4,4'-bis-β-D-葡萄糖苷((-)-syringaresinol-4,4'-bis-O-β-D-glucopyranoside)	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	以原型成分入血、抗焦虑 ^[36]
39	5315944	5,5'-二甲氧基-7-氧代落叶松脂醇(5,5'-dimethoxy-7-oxolariciresinol)	C ₂₂ H ₂₆ O ₉	以原型成分入血 ^[36]
40	11604108	(-)-丁香树脂酚((-)-syringaresinol)	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	以原型成分入血、抗焦虑 ^[36]
41	14237626	2,6-二甲氧基-4-羟基苯酚-1-O-D-吡喃葡萄糖苷(2,6-dimethoxy-4-hydroxyphenol-1-O-D-glucopyranoside)	C ₁₄ H ₂₀ O ₉	抗焦虑入血成分 ^[36]
42	107971	大豆苷(daidzin)	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	抗焦虑入血成分 ^[36]
43	251916371	(-)-丁香树脂酚-4-O-β-D-呋喃糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖((-)-syringaresinol-4-O-β-D-apiofuranosyl-(1→2)-beta-D-glucopyranoside)	C ₃₃ H ₄₄ O ₁₇	抗焦虑 ^[39]
44	—	lebbeckoside C	C ₁₂₄ H ₁₉₆ O ₅₈	对癌细胞有细胞毒活性、抑制人胶质瘤细胞生长 ^[40]
45	5352113	合欢皂苷 I(julibroside I)	C ₁₀₈ H ₁₇₄ O ₅₃	抑制肿瘤细胞活性 ^[18]
46	12309904	异奥卡宁(isookanin)	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	清除自由基 ^[15]
47	5280445	木犀草素(luteolin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	清除自由基 ^[15]
48	5281295	硫黄菊素(sulfuretin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	抗氧化 ^[15] 、对阿尔茨海默病的治疗具有预防和/或治疗的潜力 ^[41] 、抗癌、抗类风湿关节炎、抗炎、抗血小板凝固和抗过敏 ^[42] 、抗伤害性、抗突发性、抗糖尿病活性、抗炎 ^[43]
49	5322065	3',4',7-三羟基黄酮(3',4',7-trihydroxyflavone)	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	抗氧化 ^[44] 、抑制 RANKL 诱导的破骨细胞形成 ^[45] 、抗疟活性 ^[46]
50	196917	julibrin II	C ₂₀ H ₃₁ NO ₁₂	诱发心律失常 ^[47]
51	10102699	合欢皂苷 C1(julibroside C1)	C ₅₃ H ₈₂ O ₂₄	抗焦虑 ^[48]

2.2 焦虑症、肾毒性相关靶点的筛选和构建

通过检索 CTD、GeneCards 数据库得到焦虑症相关作用靶点,分别检索得到 53、654 个靶点,删除重复靶点,共计得到 677 个焦虑症相关作用靶点。通过检索 GeneCards 数据库得到肾毒性相关作用靶点 770 个,将得到的药物潜在靶点与疾病靶点进行比对,得到合欢皮成分和焦虑症交集靶点 134 个,得到合欢皮成分和肾毒性交集靶点 144 个。

2.3 蛋白相互作用(PPI)网络构建及分析结果

将活性成分-焦虑症共有靶点输入 STRING 数据库,限定物种为人源,获取蛋白相互作用关系,将其保存为 TSV 格式文件,导入 Cytoscape 软件进行可视化,除去 1 个孤立靶点,共涉及 133 个节点,1 575 条边,蛋白互作的拓扑参数分析数据见表 2,结果见图 1-A。活性成分-肾毒性共有靶点分析结果共涉及 144 个节点,2 209 条边,蛋白互作的拓扑参数分析数据见表 3,结果见图 1-B。

2.4 GO 生物分析与 KEGG 通路分析

在合欢皮抗焦虑的 GO 分析中,生物途径共得 1 879 条 Go-terms,主要涉及“生物质量调控”“对含氧化合物的反应”“对有机物的反应”等相关作用途径;分子功能共捕获 234 个 Go-terms,主要与“信号受体活性”“分子传感器活性”“蛋白质结合”等较为密切;细胞成分共富集得到 163 个 Go-terms,主要参与“细胞膜上的膜筏”“细胞质膜部分”“投射神经元”等相关定位;KEGG 通路分析中发现 173 条相关通路,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、Ras、第二信使

表 2 合欢皮治疗焦虑症蛋白互作的拓扑参数分析

Table 2 Topological parameter analysis of protein interaction of *Albizia Cortex* in treatment of anxiety disorders

序号	基因	连接度	中介中心度	接近中心度	拓扑参数
1	AKT1	79	0.084 7	0.705 9	0.224 4
2	ALB	73	0.072 3	0.687 5	0.219 0
3	IL6	66	0.048 4	0.660 0	0.225 8
4	TP53	61	0.037 6	0.643 9	0.220 1
5	APP	56	0.053 0	0.622 6	0.246 5
6	MAPK1	55	0.047 8	0.616 8	0.239 8
7	TNF	53	0.018 7	0.619 7	0.250 7
8	IGF1	51	0.013 6	0.608 3	0.252 5
9	EGFR	49	0.012 5	0.594 6	0.257 5
10	TH	46	0.015 5	0.584 1	0.278 2
11	STAT3	45	0.031 6	0.578 9	0.257 6
12	ACHE	44	0.020 5	0.576 4	0.261 3
13	ESR1	44	0.011 8	0.584 1	0.270 4
14	IL1B	42	0.012 1	0.581 5	0.280 5
15	DRD2	42	0.016 0	0.569 0	0.247 9

环磷酸腺苷(cAMP)、雌激素、催乳素、甲状腺激素、TNF 等相关通路与合欢皮抗焦虑作用相关,结果见图 2。

致肾毒性的 GO 分析中,生物途径共得到 2 034 条 Go-terms,主要涉及“化学反应”“对有机物的反应”“对含氧化合物的反应”等相关作用途径;分子功能共捕获 223 个 Go-terms,主要与“相同蛋白结合”“催化活性”“蛋白质结合”等较为密切;细胞成分共富集得到 150 个 Go-terms,主要参与“细胞质部

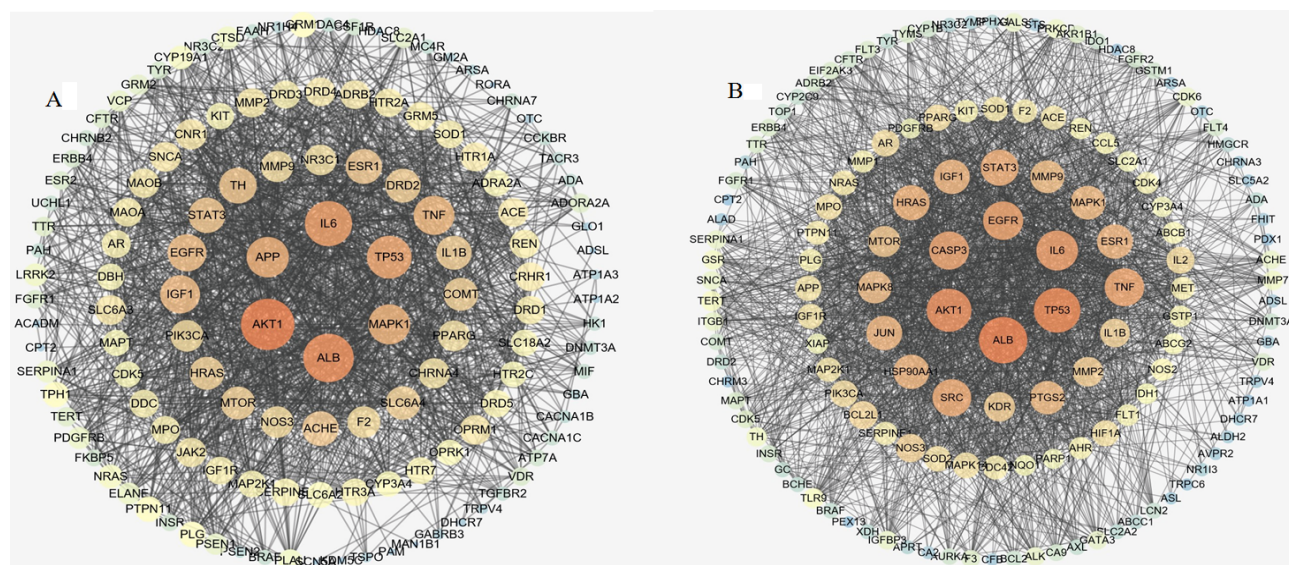


图 1 活性成分-焦虑症(A)、活性成分-肾毒性(B)共有靶点蛋白互作模式图

Fig. 1 Schema of common target protein interactions between active ingredient - anxiety (A) and active ingredient - nephrotoxicity (B)

表3 合欢皮致肾毒性蛋白互作的拓扑参数分析
Table 3 Analysis of topological parameters of interaction of renal toxic proteins induced by *Albizia Cortex*

序号	基因	连接度	中介中心度	接近中心度	拓扑参数
1	ALB	106	0.108 7	0.794 4	0.249 3
2	TP53	101	0.055 7	0.773 0	0.265 5
3	AKT1	96	0.045 5	0.752 6	0.274 2
4	IL6	87	0.038 2	0.718 6	0.282 7
5	EGFR	83	0.030 0	0.704 4	0.286 5
6	CASP3	82	0.018 7	0.697 6	0.303 1
7	TNF	81	0.023 8	0.697 6	0.297 1
8	SRC	79	0.034 1	0.687 5	0.292 3
9	STAT3	76	0.017 1	0.671 4	0.312 5
10	HRAS	73	0.016 3	0.668 2	0.300 1
11	IGF1	71	0.012 3	0.656 0	0.322 1
12	JUN	71	0.013 0	0.662 0	0.322 7
13	HSP90AA1	71	0.023 7	0.662 0	0.298 9
14	ESR1	71	0.021 4	0.659 0	0.313 7
15	MAPK1	69	0.022 2	0.656 0	0.322 7

分”“细胞质”“胞外区”等相关定位;KEGG通路分析中发现 184 条相关通路,PI3K-Akt、MAPK、HIF-1、FoxO、血管内皮生长因子(VEGF)、TNF、Toll-like、NOD-like、mTOR、Jak-STAT 等相关通路与合欢皮致肾毒性关联密切,结果见图2。

3 讨论

3.1 合欢皮抗焦虑药效物质基础

合欢皮具有抗焦虑作用,其发挥作用的成分主要为木脂素类成分,部分为黄酮类成分。具体为硫黄菊素、木犀草素、维生素C、(-)-丁香树脂酚-4-*O*- β -*D*-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-吡喃葡萄糖、合欢皂苷C1、鞣质等化合物。

硫黄菊素是一种橙酮类化合物,能够通过活性氧(ROS)依赖机制抑制神经元死亡^[41],具有抗氧化和保护神经细胞的作用,能够预防或治疗焦虑症^[49]。木犀草素是一种黄酮类化合物,具有明显的中枢神经系统活性。木犀草素不通过调节GABA_A受体来产生抗焦虑作用^[50],Coleta等^[51]通过体外实验也证明其对苯二氮草受体(BDZ-R)的亲和力较低。然而不能排除木犀草素的代谢物可能在体内表现出更高的BDZ-R亲和力,从而通过GABA能机制产生明显的抗焦虑作用。

2,6-二甲氧基-4-羟基苯酚-1-*O*-*D*-吡喃葡萄糖苷、大豆苷、(-)-丁香树脂酚、(-)-丁香树脂-4,4'-bis- β -*D*-葡萄糖苷均为合欢皮抗焦虑部位的入血成

分^[36],Liu等^[39]证实(-)-丁香树脂酚-4-*O*- β -*D*-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-吡喃葡萄糖具有抗焦虑作用。(-)-丁香树脂酚-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷以原型成分入血^[35],能促进细胞增殖,减少乳酸脱氢酶释放,抑制凋亡,提高线粒体膜电位值,降低细胞内钙浓度,上调环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)、脑源性神经营养因子(BDNF)和Bcl-2,下调Bax和Cyt c蛋白表达水平,降低Caspase-3活性,具有神经保护和抗凋亡的作用,其作用机制与抑制线粒体凋亡途径和激活CREB、BDNF途径有关^[34]。

此外,大剂量的缓释维生素C可以减轻焦虑^[52];合欢皂苷C1可能通过5-HT_{1A}和GABA_A-BDZ-R系统介导起到抗焦虑的作用^[48]。鞣质能够通过调节神经递质减轻GABA拮抗剂引起的焦虑样行为^[53]。

本研究筛选得到的51个活性成分中,上述7个成分已被证实具有抗焦虑作用,这些成分进一步作用于AKT1、ALB、IL6、TP53、APP、MAPK1等核心靶点,从而调节相关通路,起到抗焦虑的作用。另外根据连接度值和共有靶点数量筛选出的其他成分中,异奥卡宁、3',4',7-三羟基黄酮、(-)-丁香树脂酚、大豆苷、(-)-丁香树脂-4,4'-bis- β -*D*-葡萄糖苷、2,6-二甲氧基-4-羟基苯酚-1-*O*-*D*-吡喃葡萄糖苷等成分具有潜在的抗焦虑作用,后续应进行相关的细胞生物学和分子药理学实验。

3.2 合欢皮抗焦虑作用机制分析

焦虑症是一种多因素发病机制的疾病,主要的生化病理机制涉及神经递质、内分泌系统、免疫系统^[54]等方面。神经递质假说主要包括5-HT系统功能亢进、去甲肾上腺素(NE)系统功能亢进、GABA功能不足等,其中5-HT与合欢皮抗焦虑作用关联较大。

5-HT调节焦虑的作用与cAMP信号通路、RAS信号通路和MAPK信号通路关系密切。5-HT(1A)受体是5-HT受体的亚型,它通过开放G蛋白门控内向整流钾通道,负性调节cAMP依赖性信号转导,抑制神经元活动^[55]。研究表明,焦虑的调节是通过细胞内cAMP进行的,cAMP通过串扰激活RAS-MAPK信号通路诱导焦虑产生^[56]。MAPK信号通路涉及到多级蛋白激酶的级联反应,包括细胞外信号调节激酶(ERK)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)^[57]和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)。降低焦虑模型海马的磷酸化ERK^[58],调节JNK/MAPK通路^[59],抑制海马神经元p38 MAPK信号通路^[60]均能达到抗焦虑作用。上述研究表明,合欢皮抗焦虑机

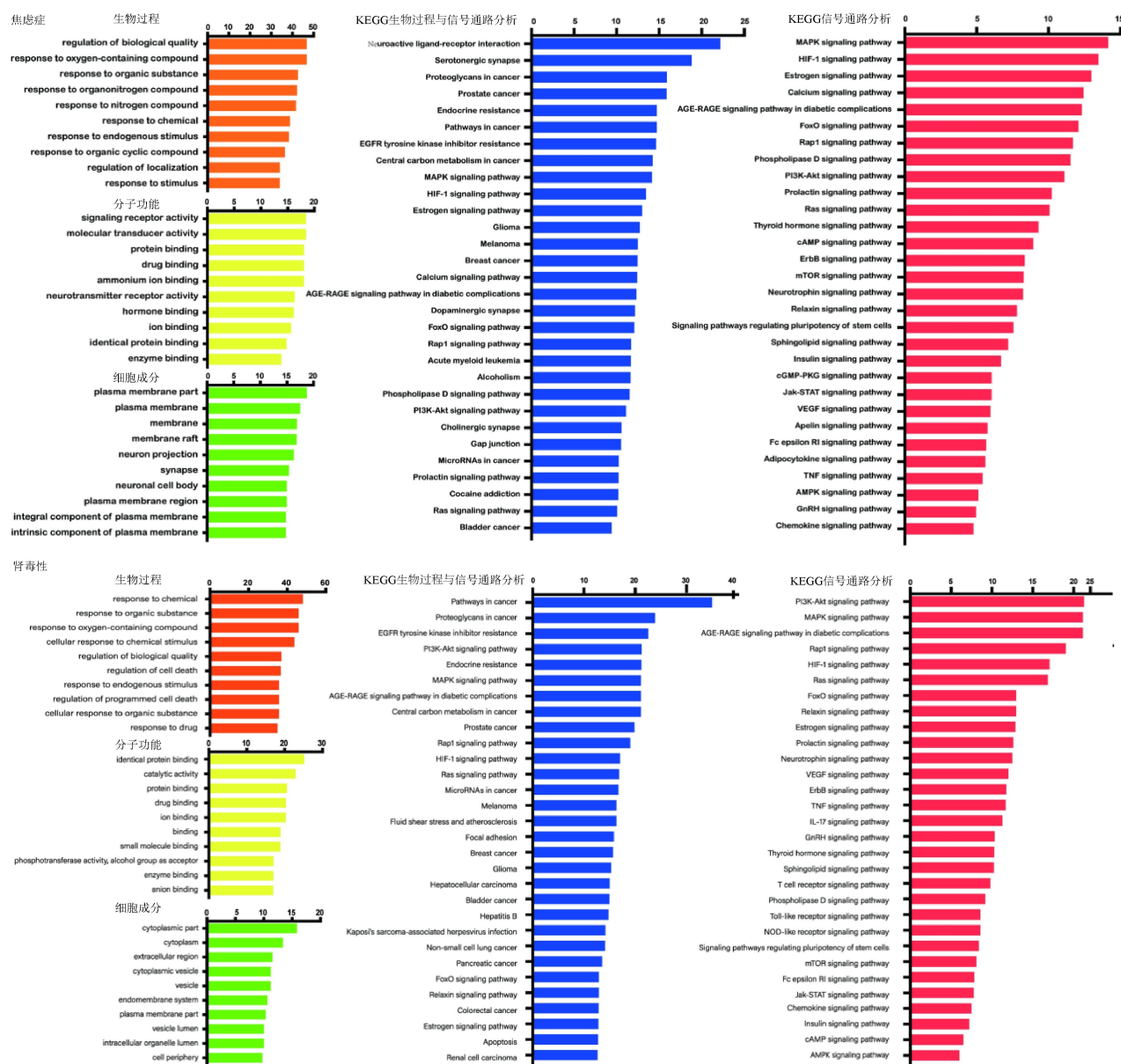


图2 合欢皮相关靶点的GO和KEGG富集分析

Fig. 2 GO and KEGG enrichment analysis of *Albizia Cortex* related targets

制与5-HT及其相关通路关联性较强,且与合欢皮已有文献研究结果基本一致。

合欢皮可能通过调节内分泌系统起到抗焦虑作用。内分泌系统主要涉及下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴、下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴、下丘脑-垂体-甲状腺(HPT)轴。HPA轴被认为是应激的主要媒介,它介导促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)的释放。合欢皮的作用靶点CRHR1是CRH的G蛋白偶联受体,能够促进腺苷酸环化酶的激活,导致细胞内cAMP水平升高,抑制钙通道CACNA1H的活性,起到抗焦虑作用。

HPG轴调节性激素的分泌,严重心理应激会导致HPG轴系统抑制或损伤,从而引起性激素释放失

衡^[61]。雌激素水平的下降以及催乳素(PRL)水平升高都与焦虑的增加有关。雌激素受体(ER)亚型不同,对焦虑影响作用不同,ER α 具有致焦虑作用、ER β 具有抗焦虑作用,G蛋白偶联ER被称为雌激素膜受体GPR30,能够调节焦虑样行为。这些受体亚型主要是通过HPA轴、催产素和5-HT能系统发挥作用^[62]。雌激素缺乏引起的焦虑样行为与炎症有关^[63],雌激素缺乏导致NLRP3炎症小体激活从而导致焦虑,NLRP3炎症小体可能是雌激素缺乏相关情感障碍的潜在治疗靶点^[64]。焦虑症患者的PRL水平升高后激活PRL受体亚型来调节特定的神经回路并调控焦虑状态^[65]。合欢皮可能通过调节雌激素和PRL水平从而治疗焦虑症。

HPT轴调节焦虑的作用涉及到甲状腺激素信号通路,甲状腺激素通过甲状腺激素受体(TR) α 和 β 亚型发挥作用,TR基因敲除和转基因TR α 1基因敲除小鼠表现出焦虑样行为,成年期雄性小鼠甲状腺功能减退症产生轻微的焦虑效应^[66]。可以认为合欢皮抗焦虑作用可能通过HPT轴上相关激素发挥作用。

免疫系统的功能紊乱可能是合欢皮抗焦虑机制的一部分。促炎性细胞因子包括白细胞介素1 β (IL-1 β)、白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等,都与临床焦虑症的病因有关^[67],合欢皮可能通过TNF通路起到抗焦虑作用。

上述结果表明,合欢皮与神经递质的相关活动关系密切,这与已有研究结果相符。内分泌系统与免疫系统的相关活动也可能是合欢皮抗焦虑作用机制的一部分,然而尚未有相关实验研究证明这一点,这很可能成为探索合欢皮抗焦虑机制的下一个方向。此外,对于上述讨论中未提及的通路——ErbB信号通路、钙信号通路、HIF-1信号通路、FoxO信号通路、Rap1信号通路、磷脂酶D信号通路、mTOR信号通路、cGMP-PKG信号通路的抗焦虑作用的研究报道较少,后续需进行实验研究,可为今后深入研究抗焦虑作用潜在靶点的分子机制研究提供线索。

3.3 合欢皮致肾损伤毒效物质基础

文献调研发现,合欢皮总皂苷具有毒性,高剂量的合欢皮总皂苷对大鼠血液及循环系统有一定的毒性作用^[68],对小鼠的呼吸系统^[69]、神经系统^[70]和肾^[9]有一定毒性,表现为肾细胞凋亡数目增多,肾小球细胞凋亡数目尤为明显。合欢皮总皂苷对雌性小鼠的卵巢和子宫造成损害^[71],对雄性小鼠具有抗生育作用^[72],具有生殖毒性。合欢皮总皂苷可能为合欢皮中主要毒性物质,但具体的毒性物质尚不明确。

从合欢皮的化学成分并结合目前已有文献发现,合欢皂苷J1、J5、J8、J9、J12、J13、J16、J18、J19、J21、J22、J25、J41-46、I和lebbeckoside C具有肾毒性,这为合欢皮具体致毒成分的研究提供了理论依据。此外,金合欢皂苷元b尚未有相关文献表明其具有毒性,但本研究推测其可能为毒性成分,后续需要进行进一步的毒理学实验验证。

3.4 合欢皮致肾毒性作用机制分析

从肾毒性分子机制角度进行分析,合欢皮致肾毒性与以下靶点和信号通路产生的效应相关。

VEGF信号通路、MAPK信号通路、Toll样受体信号通路、NOD样受体信号通路均与炎症反应相关;PI3K-Akt信号通路、mTOR信号通路参与自噬失衡的产生;HIF-1信号通路和缺氧相关;TNF信号通路、BCL2靶点与凋亡结局的产生有关;Jak-STAT信号通路、FoxO信号通路、SOD靶点与氧化应激反应相关。

抑制VEGF信号及其下游通路是治疗肿瘤的一种常见策略,但相关的肾毒性依然是一个值得关注的问题。VEGF信号通路的关键下游信号通路包括MAPK/ERK1/2、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)和哺乳动物雷帕霉素靶点(mTOR)。抑制RAF/MAPK/ERK与肾小管间质损伤有关,抑制VEGF后,eNOS的减少是内皮损伤的潜在机制^[73]。mTOR是PI3K-Akt信号通路的一部分,抑制mTOR的肾毒性与VEGF信号的减少以及自噬途径的破坏有关。VEGF-A过度表达或还原与多种肾小球疾病相关联,这表明肾脏中VEGF信号通路的调节对肾小球的发育以及在稳态和疾病中维持成熟的肾小球功能至关重要^[74]。除缺血性急性肾功能衰竭之外,缺氧在肾毒性急性肾损伤、放射性造影剂肾病和急性肾小球肾炎的发生中也起着至关重要的作用^[75]。缺氧诱导因子(HIF)-1 α 蛋白是一种已知上调VEGF-A的蛋白质,VEGF-A下调与HIF-1 α 表达的丧失相关,HIF-1 α 表达在组织缺氧增加时发生^[76]。合欢皮总皂苷抑制肿瘤细胞的细胞毒活性可能主要是通过VEGF介导的,其对VEGF的抑制作用可能是导致肾毒性的主要机制,这为后续的研究提供了参考。

Toll样受体(TLR)家族中,与肾毒性相关的重要靶蛋白包括TLR2^[77]、TLR3^[78]、TLR4、TLR9^[79]。其中,TLR4通过影响适应性和先天性免疫反应而触发新月体肾小球肾炎^[80],可通过固有肾细胞产生CXCL1和CXCL2诱导抗体介导的肾小球肾炎^[81]。TLR4在肾实质细胞上可能激活p38 MAPK通路,导致炎性细胞因子(如TNF- α)的增加和肾损伤^[82]。跨膜TNF是肾组织损伤的重要介质,其特征是肾细胞死亡增加和肾小球内皮细胞丢失^[83],TNF已被证明是多种药物引起肾毒性的基础^[84]。NOD样受体(NLR)识别相应配体后,能够促进NLRP3炎症小体的激活,NLRP3过度表达会导致肾损伤加重^[85]。因此,合欢皮可能通过上述信号通路影响免疫系统,从而导致炎症和肾脏损害。

合欢皮可通过影响FoxO-3和Jak-STAT的表达

导致肾毒性。FOXO-3是抑制自噬的PI3K途径的下游靶点,一些预防氧化性肾损伤的药物能够上调FOXO-3基因的表达^[86]。Janus激酶/信号转导与转录激活子(Jak-STAT)在中枢性睡眠呼吸暂停(CSA)诱发的肾毒性中起关键作用^[87]。除此之外,超氧化物歧化酶(SOD)1、SOD2是评估肾毒性的肾功能生物标志物之一^[88];与细胞凋亡关系密切的基因BCL2和BCL2L1在肾小球肾炎中mRNA的表达下降^[89]。以上研究结果与文献报道基本一致,从而初步佐证了本研究的可靠性。

3.5 安全性问题探讨

本研究发现合欢皮中主要抗焦虑成分为木脂素类化合物,主要致肾毒性成分为皂苷类化合物,与文献调研结果相符。由此可见,合欢皮抗焦虑相关成分与毒性相关成分交集较小,通过一定手段减少合欢皮中皂苷类成分保留木脂素类成分,可以有效地避免毒性。从机制角度对比,本研究发现合欢皮治疗焦虑症与导致肾毒性的机制具有较大差异,仅有MAPK信号通路和TNF信号通路重合,这表明在治疗疾病与导致毒性两个方面上,合欢皮从不同角度发挥作用,通过配伍其他中药抑制其中导致肾毒性的作用通路,可能是合欢皮减毒增效的新思路。

《中国药典》记载合欢皮的用量为6~12 g,在《中华本草》中用量为10~15 g,在《全国中草药汇编》中用量为1.5~3.0钱(7.5~15.0 g),治疗心神失眠时合欢皮常与柏子仁、白芍、龙齿、夜交藤配伍,水煎服^[90-91]。合欢皮总皂苷主要为三萜皂苷类成分,提取常采用70%~75%的乙醇进行^[92-93];合欢皮解忧安神的主要活性成分为水溶性木脂素类成分,常使用水提取后再使用正丁醇萃取^[94];或使用50%甲醇进行提取^[95]。2.5 g/kg合欢皮水提液对小鼠有一定的抗焦虑作用^[7],合欢皮水提部位小鼠最大耐受量为1 343.20 g/kg,40%乙醇部位最大耐受量为1 178.58 g/kg,95%乙醇部位最大耐受量为99.94 g/kg(按含生药量计算)^[96],这表明合欢皮的主要致毒成分集中在醇提部位,水提部位的合欢皮低剂量即有较好的治疗效果,且最大耐受量高,安全范围较大。醇提部位的成分主要为合欢皮总皂苷,其对小鼠的最小致毒量为7.5 mg/kg^[97];8 mg/kg剂量下的正丁醇部位对小鼠的肝和肾等无毒性反应,40 mg/kg时会导致器官轻微损伤^[98]。

上述研究表明,醇提合欢皮的抗焦虑效果不佳且毒性较大^[99],临床上常使用水煎煮的方法提取,

不仅一定程度上减少三萜皂苷类成分的溶出,减小肾毒性^[100],且抗焦虑效果良好。合欢皮水提液的最大耐受量远高于治疗剂量,且有效成分和毒性成分不同,溶解度具有差异,水提取的方法能达到减毒增效的作用,故本研究认为使用合欢皮治疗焦虑症时,在合理剂量下使用安全性较高,治疗效果较好。

除此之外,需要注意合欢皮的用药禁忌,由痰热等其他因素引起的心神不安、虚烦失眠等神志异常,须适当配伍,不宜单味药服用;低血压患者不宜大量应用,妊娠期慎用,青年男性不宜大量长期服用。

3.6 本研究不足和局限性

网络药理学和网络毒理学可以快速、全面地初步揭示药物-靶点-通路-疾病间的作用关系网络,从而预测和分析靶点、信号通路和药物的作用机制,能够为后续的实验研究提供思路 and 方向,对中药活性成分和作用机制的研究具有一定的意义,然而本研究依旧存在许多不足和局限性。

首先,本研究纳入的合欢皮成分为目前已有研究证明的活性成分及入血成分,部分尚未研究的成分未纳入,可能存在数据库偏移的情况。PKA、CREB、BDNF和TRKB是合欢皮治疗焦虑症的潜在靶点^[35],本研究中未预测到这些靶点;合欢皮导致肾毒性的机制可能还包括降低肾组织谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,增强环氧化酶(COX-2)的过度表达^[9]等,本研究中未预测到这些靶点,可能是计算的假阴性误差。其次,本研究还需要进行入血成分研究,需要以血清药物化学为导向,对预测结果进行完善和验证。最后,本研究未涉及实验验证,药物在体内的作用机制的确认还需要进一步通过整体动物实验进行验证。

4 结论

本研究结合网络药理学和网络毒理学,初步探索合欢皮抗焦虑成分可能为硫黄菊素、木犀草素、维生素C、(-)-丁香树脂酚-4-O-β-D-呋喃芹糖基-(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖、(-)-丁香树脂酚-4-O-β-D-葡萄糖苷、合欢皂苷C1、鞣质等化合物;导致肾毒性的成分可能为各类合欢皂苷(合欢皂苷J1、J5、J8、J9、J12、J13、J16、J18、J19、J21、J22、J25、J41-46、I和lebbeckoside C)。

合欢皮可能通过调控cAMP、RAS、MAPK和TNF等信号通路以及5-HT神经递质和HPA、HPG、HPT轴相关靶点和途径达到治疗焦虑症的作用,神经内分泌功能紊乱是合欢皮抗焦虑研究的潜在研

究方向;合欢皮肾毒性的产生与BCL2、SOD靶点以及 VEGF、MAPK、mTOR、PI3K-Akt、HIF-1、TNF、Toll-like、NOD-like等信号通路关系密切,通过诱导炎症效应、缺氧状态、异常凋亡、氧化应激反应和自噬失衡发挥效应。

本研究探讨合欢皮的抗焦虑作用及其导致肾毒性的安全性问题,发现合欢皮抗焦虑成分主要为木脂素及黄酮类化合物,主要致肾毒性成分为皂苷类化合物,且治疗和致毒从不同的通路及靶点发挥效应。通过合理用药能够在减少肾毒性的同时达到抗焦虑的治疗效果,为临床用药安全性评估提供参考,也为后续的药效和毒理研究提供支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张宝燕. 广泛性焦虑症的药物治疗现状与进展 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2015, 2(28): 5964-5965.
Zhang B Y. Current status and progress of drug treatment for generalized anxiety disorder [J]. J Clin Med, 2015, 2 (28): 5964-5965.
- [2] 彭琳. 失眠症治疗中镇静催眠类药物不良反应 [J]. 首都医药, 2010, 17(24): 34-35.
Peng L. Adverse reactions of sedative and hypnotic drugs in the treatment of insomnia [J]. Capital Food Med, 2010, 17(24): 34-35.
- [3] 施慎逊. 抗焦虑药在焦虑障碍治疗中的作用和不足 [J]. 中华精神科杂志, 2015, 48(4): 193-195.
Shi S X. The role and deficiency of anti anxiety drugs in the treatment of anxiety disorder [J]. Chin J Psych, 2015, 48(4): 193-195.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [5] 吴普, 孙星衍. 神农本草经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.
Wu P, Sun X Y. *Shen Nong Ben Cao Jing* [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 1982.
- [6] 熊永豪, 冯波, 牛源菲, 等. 合欢皮对小鼠焦虑行为影响及抗焦虑活性部位筛选 [J]. 世界中医药, 2018, 13 (4): 790-793, 798.
Xiong Y H, Feng B, Niu Y, et al. Effect of *Cortex Albizziae* on mice's anxiety-like behavior and antianxiety active site screening [J]. World Chin Med, 2018, 13(4): 790-793, 798.
- [7] 田微. 合欢皮提取物抗焦虑活性筛选及其对脑内神经递质的影响 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2015.
Tian W. Study on anxiolytic effects of the extracts from *Cortex Albizziae* by screening and the influence of neurotransmitters in the brain [D]. Wuhan: Hubei University of Traditional Chinese Medicine, 2015.
- [8] 冯波. 合欢皮对小鼠的抗焦虑作用研究 [D]. 郑州: 河南中医学院, 2014.
Feng B. Anti anxiety effects of Silk tree Albizia Bark in mice [D]. Zhengzhou: Henan College of Traditional Chinese Medicine, 2014.
- [9] 邱丽颖, 李倩, 许天蟾, 等. 合欢皮总皂苷所致小鼠肾毒性及其机制的研究 [J]. 毒理学杂志, 2011, 25(6): 431-434.
Qiu L Y, Li Q, Xu T C, et al. Study of nephrotoxicity and its mechanism of saponin from *Albizia julibrissin* durazz in mice [J]. J Toxicol December, 2011, 25(6): 431-434.
- [10] 陈亚红, 刘传鑫, 何涛, 等. 丹参饮治疗糖尿病心肌病的网络药理学研究 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1164-1174.
Chen Y H, Liu C X, He T, et al. Network pharmacology study on Danshen Decoction in treatment of diabetic cardiomyopathy [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50 (5): 1164-1174.
- [11] 杨雪, 刘传鑫, 袁付丽, 等. 基于网络毒理学商陆致大鼠肾损伤作用机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 4974-4984.
Yang X, Liu C X, Yuan F L, et al. Mechanism of renal injury in rats induced by *Phytolacca* Radix based on network toxicology [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50 (20): 4974-4984.
- [12] Wang X, Shen Y H, Wang S W, et al. PharmMapper 2017 update: a web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45 (W1): W356-W360.
- [13] Martucci D, Masseroli M, Pinciroli F. Gene ontology application to genomic functional annotation, statistical analysis and knowledge mining [J]. Stud Health Technol Inform, 2004, 102: 108-131.
- [14] Ha J Y, Min K R, Kang S H, et al. Suppressive effects of triterpenoids on CINC-1 induction in interleukin-1 β -stimulated rat fibroblast NRK-49F cells [J]. Arch Pharm Res, 1997, 20(3): 234-238.
- [15] Jung M J, Kang S S, Jung Y J, et al. Phenolic glycosides from the stem bark of *Albizia julibrissin* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2004, 52(12): 1501-1503.
- [16] Zou K, Zhao Y, Tu G, et al. Two diastereomeric saponins with cytotoxic activity from *Albizia julibrissin* [J]. Carbohydr Res, 2000, 324(3): 182-188.
- [17] 蔡维维, 杜斌, 刘艳玲, 等. 合欢皮皂苷物质的分离、纯化及其抗血管活性的研究 [J]. 华西药理学杂志, 2016, 31(6): 617-619.

- Cai W W, Du B, Liu Y L, et al. Separation and purification of the saponins from *Albizzia julibrissin* and study on their antiangiogenesis activities [J]. West China J Pharm, 2016, 31(6): 617-619.
- [18] Han Q H, Qian Y, Wang X D, et al. Cytotoxic oleanane triterpenoid saponins from *Albizzia julibrissin* [J]. Fitoterapia, 2017, 121: 183-193.
- [19] Hua H, Feng L, Zhang X P, et al. Anti-angiogenic activity of julibroside J8, a natural product isolated from *Albizzia julibrissin* [J]. Phytomedicine, 2009, 16(8): 703-711.
- [20] Zheng L, Zheng J, Wu L J, et al. Julibroside J8-induced HeLa cell apoptosis through caspase pathway [J]. J Asian Nat Prod Res, 2006, 8(5): 457-465.
- [21] Zou K, Tong W Y, Liang H, et al. Diastereoisomeric saponins from *Albizzia julibrissin* [J]. Carbohydr Res, 2005, 340(7): 1329-1334.
- [22] Zou K, Cui J R, Wang B, et al. A pair of isomeric saponins with cytotoxicity from *Albizzia julibrissin* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2005, 7(6): 783-789.
- [23] Zou K, Zhao Y Y, Zhang R Y. A cytotoxic saponin from *Albizzia julibrissin* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2006, 54(8): 1211-1212.
- [24] 邹 坤, 崔景荣, 冉福香, 等. 合欢皮中两个新八糖苷的分离鉴定和活性研究 [J]. 有机化学, 2005, 25(6): 654-659, 608.
- Zou K, Cui J R, Ran F X, et al. Structures and activity of two novel saponins from *Albizzia julibrissin* [J]. Chin J Org Chem, 2005, 25(6): 654-659, 608
- [25] Roy B, Pramanik K, Mukhopadhyay B. Synthesis of a Tetra- and a trisaccharide related to an anti-tumor saponin "Julibroside J28" from *Albizzia julibrissin* [J]. Glycoconj J, 2008, 25(2): 157-166.
- [26] Zheng L, Zheng J, Zhao Y, et al. Three anti-tumor saponins from *Albizzia julibrissin* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16(10): 2765-2768.
- [27] Gomez A A, Terán Baptista Z P, Mandova T, et al. Antifungal and antimycotoxigenic metabolites from native plants of northwest Argentina: isolation, identification and potential for control of *Aspergillus* species [J]. Nat Prod Res, 2020, 34(22): 3299-3302.
- [28] Aqeel A, Khursheed A K, Viqaruddin A. Toxicological studies of the antimicrobial alkaloid juliflorine [J]. Arzneimittelforschung, 1991, 41(2): 151-154.
- [29] Choudhary M I, Nawaz S A, Zaheer-ul-Haq, et al. Juliflorine: a potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 332(4): 1171-1177.
- [30] Ng I M J, Mah S H, Chua C L L. Immuno-modulatory effects of macluraxanthone on macrophage phenotype and function [J]. Nat Prod Res, 2020: 1-6.
- [31] Martin M L, Diaz M T, Montero M J, et al. Antispasmodic activity of benzyloisoquinoline alkaloids analogous to papaverine [J]. Planta Med, 1993, 59(1): 63-67.
- [32] Morello A, Lipchenca I, Cassels B K, et al. Trypanocidal effect of boldine and related alkaloids upon several strains of *Trypanosoma cruzi* [J]. Comp Biochem Physiol Pharmacol Toxicol Endocrinol, 1994, 107(3): 367-371.
- [33] 刘丰华, 郭惠娟, 王 莉. 维生素C的药理与临床应用 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(3): 89-90.
- Liu F H, Guo H J, Wang L. Pharmacology and clinical application of vitamin C [J]. Asia Pacific traditional medicine, 2010, 6(3): 89-90.
- [34] Yang D S, Wu W Q, Gan G P, et al. (-)-Syringaresinol-4-O- β -D-glucopyranoside from *Cortex Albizziae* inhibits corticosterone-induced PC12 cell apoptosis and relieves the associated dysfunction [J]. Food Chem Toxicol, 2020, 141: 111394.
- [35] 吴婉琴. 合欢皮抗焦虑活性部位作用机理研究及主要活性成分对PC12细胞凋亡的影响 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- Wu W Q. Study on the mechanism of anxiolytic extracts of *Cortex Albizziae* and the effect of the main active ingredient on PC12 cell apoptosis [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2017.
- [36] 范小龙. 合欢皮抗焦虑部位血清药物化学初步研究及其化学成分分离 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016.
- Fan X L. A preliminary study on the serum pharmacochemistry and the chemical composition of the antianxiety extracts from *Cortex Alibizziae* [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2016.
- [37] Shi X L, Li Z J, Cai W W, et al. Chemical constituents from *Albizziae cortex* and their ability to ameliorate steatosis and promote proliferation and anti-oxidation *in vitro* [J]. Molecules, 2019, 24(22): E4041.
- [38] 谭方根, 史学林, 侯 豹, 等. 合欢皮中抑制脂肪酸合酶活性成分的提取分离 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(7): 846-850.
- Tan F G, Shi X L, Hou B. Extraction and separation of active components inhibiting fatty acid synthase from *Albizziae Cortex* [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm, 2019, 30(7): 846-850.
- [39] Liu J, Lv Y W, Shi J L, et al. Anti-anxiety effect of (-)-syringaresinol-4-O- β -D-apiofuranosyl- (1 $\rightarrow$ 2) - β -D-glucopyranoside from *Albizzia julibrissin* Durazz (Leguminosae) [J]. Molecules, 2017, 22(8): 1331.

- [40] Noté O P, Ngo Mbing J, Kilhoffer M C, et al. Lebbeckoside C, a new triterpenoid saponin from the stem barks of *Albizia lebbeck* inhibits the growth of human glioblastoma cells [J]. Nat Prod Res, 2019, 33 (16): 2292-2299.
- [41] Kwon S H, Ma S X, Hwang J Y, et al. Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling pathway in sulfuretin-induced protection against amyloid beta25-35 neurotoxicity [J]. Neuroscience, 2015, 304: 14-28.
- [42] Jeon W K, Lee J H, Kim H K, et al. Anti-platelet effects of bioactive compounds isolated from the bark of *Rhus verniciflua* Stokes [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 106(1): 62-69.
- [43] Shin S Y, Shin M C, Shin J S, et al. Synthesis of auronones and their inhibitory effects on nitric oxide and PGE2 productions in LPS-induced RAW 264.7 cells [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21(15): 4520-4523.
- [44] Jung M J, Chung H Y, Kang S S, et al. Antioxidant activity from the stem bark of *Albizia julibrissin* [J]. Arch Pharm Res, 2003, 26(6): 458-462.
- [45] Kang J H, Lee J, Moon M, et al. 3',4',7-Trihydroxyflavone inhibits RANKL-induced osteoclast formation via NFATc1 [J]. Pharmazie, 2015, 70(10): 661-667.
- [46] Abdalla M A, Laatsch H. Flavonoids from Sudanese *Albizia zygia* (Leguminosae, subfamily Mimosoideae), a plant with antimalarial potency [J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2012, 9(1): 56-58.
- [47] Higuchi H, Kinjo J, Nohara T. An arrhythmic-inducing glycoside from *Albizia julibrissin* Durazz, IV [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1992, 40(3): 829-831.
- [48] Jung Y H, Ha R R, Kwon S H, et al. Anxiolytic effects of Julibroside C1 isolated from *Albizia julibrissin* in mice [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2013, 44: 184-192.
- [49] Jang C G. Pharmaceutical composition for preventing or treating nervous system disorders comprising sulfuretin or pharmaceutically acceptable salt thereof: US20150031760 [P]. 2015-01-29.
- [50] Raines T, Jones P, Moe N, et al. Investigation of the anxiolytic effects of luteolin, a lemon balm flavonoid in the male Sprague-Dawley rat [J]. AANA J, 2009, 77(1): 33-36.
- [51] Coleta M, Campos M G, Cotrim M D, et al. Assessment of luteolin (3', 4', 5, 7-tetrahydroxyflavone) neuropharmacological activity [J]. Behav Brain Res, 2008, 189(1): 75-82.
- [52] de Oliveira I J, de Souza V V, Motta V, et al. Effects of oral vitamin C supplementation on anxiety in students: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial [J]. Pak J Biol Sci, 2015, 18(1): 11-18.
- [53] Chandrasekhar Y, Phani Kumar G, Navya K, et al. Tannins from *Terminalia chebula* fruits attenuates GABA antagonist-induced anxiety-like behaviour via modulation of neurotransmitters [J]. J Pharm Pharmacol, 2018, 70 (12): 1662-1674.
- [54] 王延丽, 石晋丽, 赵保胜. 焦虑症的发生机制研究进展 [A].//中华中医药学会中药鉴定分会. 中华中医药学会第十届中药鉴定学术会议暨WHO中药材鉴定方法和技术研讨会论文集 [C]. 西安: 中华中医药学会中药鉴定分会: 中华中医药学会, 2010: 62-70.
- Wang Y L, Shi J L, Zhao B S. Research progress on the pathogenesis of anxiety disorder [A].//Chinese medicine identification branch of Chinese Traditional Medicine Association. Proceedings of the 10th Chinese medicine identification academic conference of Chinese Traditional Medicine Association and who Symposium on identification methods and techniques of Chinese herbal medicine [C]. Xian: Chinese medicine identification branch of Chinese Traditional Medicine Association: Chinese Traditional Medicine Association, 2010: 62-70
- [55] Ohno Y. New insight into the therapeutic role of 5-HT1A receptors in central nervous system disorders [J]. Cent Nerv Syst Agents Med Chem, 2010, 10(2): 148-157.
- [56] Lundegaard P R, Anastasaki C, Grant N J, et al. MEK inhibitors reverse cAMP-mediated anxiety in zebrafish [J]. Chem Biol, 2015, 22(10): 1335-1346.
- [57] 赵宏波, 陈家旭, 李 静. 逍遥散与慢性应激焦虑海马 JNK 通路的关系 [J]. 环球中医药, 2013, 6(8): 600-602.
- Zhao H B, Chen J X, Li J. Relationship between Xiaoyaosan and hippocampal JNK pathway of chronic stress anxiety [J]. Global Tradit Chin Med, 2013, 6(8): 600-602.
- [58] 黄叶飞. 电针从心胆论治广泛性焦虑症的临床和 MAPK/ERK 信号通路的研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- Huang Y F. The clinical and signal transduction pathways research of treating generalized anxiety disorder with electroacupuncture from "heart and gallbladder" [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2012.
- [59] 赵宏波. 逍遥散对慢性束缚应激肝郁脾虚证焦虑模型大鼠海马 JNK/MAPK 通路的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- Zhao H B. Effect of Xiaoyaosan on JNK/MAPK pathway in hippocampus of anxiety model rats with chronic restraint stress of liver depression and spleen deficiency syndrome [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2014.

- [60] Han Q Q, Huang H J, Wang Y L, et al. Ghrelin exhibited antidepressant and anxiolytic effect via the p38-MAPK signaling pathway in hippocampus [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psych, 2019, 93: 11-20.
- [61] 赵瑞珍, 李 宁, 李冬梅. 焦虑障碍中医药干预机理研究 [J]. 北京中医药大学学报: 中医临床版, 2012, 19(2): 9-12.
- Zhao R Z, Li N, Li D M. Mechanism of traditional Chinese medicine intervention on anxiety disorder [J]. J Beijing Univ Chin Med, 2012, 19(2): 9-12.
- [62] Borrow A P, Handa R J. Estrogen receptors modulation of anxiety-like behavior [J]. Vitam Horm, 2017, 103: 27-52.
- [63] Liu T Y, Ma Y Y, Zhang R Y, et al. Resveratrol ameliorates estrogen deficiency-induced depression- and anxiety-like behaviors and hippocampal inflammation in mice [J]. Psychopharmacology (Berl), 2019, 236(4): 1385-1399.
- [64] Xu Y J, Sheng H, Bao Q Y, et al. NLRP3 inflammasome activation mediates estrogen deficiency-induced depression- and anxiety-like behavior and hippocampal inflammation in mice [J]. Brain Behav Immun, 2016, 56: 175-186.
- [65] Patil M J, Henry M A, Akopian A N. Prolactin receptor in regulation of neuronal excitability and channels [J]. Channels (Austin), 2014, 8(3): 193-202.
- [66] Buras A, Battle L, Landers E, et al. Thyroid hormones regulate anxiety in the male mouse [J]. Horm Behav, 2014, 65(2): 88-96.
- [67] Gądek-Michalska A, Tadeusz J, Rachwalska P, et al. Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stress-response systems [J]. Pharmacol Rep, 2013, 65(6): 1655-1662.
- [68] 刘 冬, 高越颖, 邱丽颖, 等. 合欢皮总皂苷对大鼠循环系统的影响 [J]. 海峡药学, 2010, 22(2): 28-30.
- Liu D, Gao Y Y, Qiu L Y, et al. Effect caused by total Saponin of *Cortex Albiziae* on the circulation system of Rat [J]. Strait Pharm J, 2010, 22(2): 28-30.
- [69] 康晓星, 高越颖, 余行云, 等. 合欢皮总皂苷对小鼠呼吸系统的毒性及机制研究 [J]. 中药材, 2011, 34(3): 428-431.
- Kang X X, Gao Y Y, Yu X Y, et al. Toxicity and mechanism of total saponins of *Albizia julibrissin* on respiratory system in mice [J]. J Chin Med Mat, 2011, 34(3): 428-431.
- [70] 杜 斌, 蔡维维, 冯 磊, 等. 合欢皮总皂苷对小鼠神经系统的SOD、GSH-PX活性及COX-2、CaN表达的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(11): 2514-2517.
- Du B, Cai W W, Feng L, et al. Effect of total saponins of *Albizia julibrissin* on SOD, GSH-Px activity and COX-2, can expression in nervous system of mice [J]. Chin Tradit Pat Med, 2015, 37(11): 2514-2517.
- [71] Shu Y, Cao M, Yin Z Q, et al. The reproductive toxicity of saponins isolated from *Cortex Albiziae* in female mice [J]. Chin J Nat Med, 2015, 13(2): 119-126.
- [72] 舒 杨, 孙潇雅, 李 平, 等. 合欢皮总皂苷对雄性小鼠的抗生育作用研究 [J]. 四川动物, 2013, 32(5): 746-750, 636.
- Shu Y, Sun X Y, Li P, et al. Anti-fertility effect of *Albizia julibrissin* Durazz Saponins on male mice [J]. Sichuan J Zool, 2013, 32(5): 746-750, 636.
- [73] Feliers D, Chen X Y, Akis N, et al. VEGF regulation of endothelial nitric oxide synthase in glomerular endothelial cells [J]. Kidney Int, 2005, 68(4): 1648-1659.
- [74] Estrada C C, Maldonado A, Mallipattu S K. Therapeutic inhibition of VEGF signaling and associated nephrotoxicities [J]. J Am Soc Nephrol, 2019, 30(2): 187-200.
- [75] Nangaku M, Eckardt K U. Hypoxia and the HIF system in kidney disease [J]. J Mol Med (Berl), 2007, 85(12): 1325-1330.
- [76] Yuan H T, Li X Z, Pitera J E, et al. Peritubular capillary loss after mouse acute nephrotoxicity correlates with down-regulation of vascular endothelial growth factor-A and hypoxia-inducible factor-1 alpha [J]. Am J Pathol, 2003, 163(6): 2289-2301.
- [77] Brown H J, Sacks S H, Robson M G. Toll-like receptor 2 agonists exacerbate accelerated nephrotoxic nephritis [J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(7): 1931-1939.
- [78] Hu X, Chen L H, Li T G, et al. TLR3 is involved in paraquat-induced acute renal injury [J]. Life Sci, 2019, 223: 102-109.
- [79] Summers S A, Steinmetz O M, Gan P Y, et al. Toll-like receptor 2 induces Th17 myeloperoxidase autoimmunity while Toll-like receptor 9 drives Th1 autoimmunity in murine vasculitis [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(4): 1124-1135.
- [80] Giorgini A, Brown H J, Sacks S H, et al. Toll-like receptor 4 stimulation triggers crescentic glomerulonephritis by multiple mechanisms including a direct effect on renal cells [J]. Am J Pathol, 2010, 177(2): 644-653.
- [81] Brown H J, Lock H R, Wolfs T G, et al. Toll-like receptor 4 ligation on intrinsic renal cells contributes to the induction of antibody-mediated glomerulonephritis via CXCL1 and CXCL2 [J]. J Am Soc Nephrol, 2007, 18(6): 1732-1739.
- [82] Zhang B, Ramesh G, Uematsu S, et al. TLR4 signaling mediates inflammation and tissue injury in nephrotoxicity [J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19(5): 923-932.

- [83] Müller M B, Hoppe J M, Bideak A, et al. Exclusive expression of transmembrane TNF aggravates acute glomerulonephritis despite reduced leukocyte infiltration and inflammation [J]. *Kidney Int*, 2019, 95(1): 75-93.
- [84] Benedetti G, Ramaiahgaris S, Herpers B, et al. A screen for apoptotic synergism between clinical relevant nephrotoxicant and the cytokine TNF- α [J]. *Toxicol In Vitro*, 2013, 27(8): 2264-2272.
- [85] Lin X H, Yang F, Huang J, et al. Ameliorate effect of pyrroloquinoline quinone against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity by activating the Nrf2 pathway and inhibiting the NLRP3 pathway [J]. *Life Sci*, 2020, 256: 117901.
- [86] Elmansy R A, Seleem H S, Mahmoud A R, et al. Rebamipide potentially mitigates methotrexate-induced nephrotoxicity via inhibition of oxidative stress and inflammation: a molecular and histochemical study [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2021, 304(3): 647-661.
- [87] Klawitter J, Klawitter J, Schmitz V, et al. Low-salt diet and cyclosporine nephrotoxicity: changes in kidney cell metabolism [J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(11): 5135-5144.
- [88] Khames A, Khalaf M M, Gad A M, et al. Nicorandil combats doxorubicin-induced nephrotoxicity via amendment of TLR4/P38 MAPK/NF- κ B signaling pathway [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 311: 108777.
- [89] Yang B, Johnson T S, Thomas G L, et al. A shift in the Bax/Bcl-2 balance may activate caspase-3 and modulate apoptosis in experimental glomerulonephritis [J]. *Kidney Int*, 2002, 62(4): 1301-1313.
- [90] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1976: 367.
Compilation and organization of national compilation of Chinese herbal medicine. *National Compilation of Chinese Herbal Medicine* [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 1976: 367.
- [91] «浙江药用植物志»编写组. 浙江药用植物志 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1980.
Compilation and compilation of Zhejiang medicinal flora. *Zhejiang Medicinal Flora* [M]. Hangzhou: Zhejiang science and Technology Press, 1980.
- [92] 王巧文, 钱泽秀, 孙红祥. 合欢皮总皂苷提取工艺优化 [J]. *中国兽药杂志*, 2014, 48(7): 19-23.
Wang Q W, Qian Z X, Sun H X. Optimization of extraction procession for total saponins from *Cortex Albizziae* [J]. *Chin J Veter Drug*, 2014, 48(7): 19-23.
- [93] 李 曰. 合欢皮总皂苷抗血管治疗对小鼠肿瘤血供模式及脂合成代谢的影响 [D]. 无锡: 江南大学, 2015.
Li Y. Effects of *Albizia julibrissin* total saponins on the tumor microcirculation and lipid synthesis in mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015.
- [94] 佟文勇, 米 靓, 梁 鸿, 等. 合欢皮化学成分的分离鉴定 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2003, 35(2): 180-183.
Tong W Y, Mi L, Liang H, et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Albizia julibrissin* Durazz [J]. *J Peking Univ: Health Sci*, 2003, 35(2): 180-183.
- [95] 吴婉琴, 俞 雨, 梁 睿, 等. 不同采收期合欢皮中木脂素苷I含量的动态变化 [J]. *中国药师*, 2017, 20(4): 736-738.
Wu W Q, Yu Y, Liang R, et al. Dynamic variation of the content of lignan glycoside I in *Cortex Abizziae* at different harvest period [J]. *China Pharmacist*, 2017, 20(4): 736-738.
- [96] 田 微, 叶小敏, 杨德森, 等. 合欢皮水提物不同部位的急性毒性比较研究 [J]. *湖北中医药大学学报*, 2015, 17(2): 42-45.
Tian W, Ye X M, Yang D S, et al. Comparative acute toxicity research on different parts from water extrats of *Albizza julibrissin* Bark [J]. *J Hubei Univ Chin Med*, 2015, 17(2): 42-45.
- [97] 赵建国, 刘玲艳, 朱颖越, 等. 合欢皮总皂苷急性毒理学研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22(4): 582-586.
Zhao J G, Liu L Y, Zhu Y Y, et al. Research on emergency toxicology of total saponin in *Silktree Albizia Bark* [J]. *Nat Prod Res Develop*, 2010, 22(4): 582-586.
- [98] 侯 豹, 李忠杰, 孙姜楠, 等. 合欢皮正丁醇提取物的毒理学评价 [J]. *实用医药杂志*, 2020, 37(9): 837-841.
Hou B, Li Z J, Sun J N, et al. Toxicological assessment of *Albizia julibrissin* n-butanol extract [J]. *Pract J Med Pharm*, 2020, 37(9): 837-841.
- [99] 方志兴, 田 微, 干国平. 星点设计-效应面法优选合欢皮镇静作用活性部位的提取工艺 [J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(1): 230-232.
Fang Z X, Tian W, Gan G P. Optimizing the extraction process of *Silktree Albizia* bark sedative effect active site with central composite design-response surface method [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2015, 30(1): 230-232.
- [100] 钱 凯, 干国平, 方志兴, 等. 合欢皮水溶性木脂素类化合物的纯化工艺研究 [J]. *时珍国医国药*, 2015, 26(4): 790-792.
Qian K, Gan G P, Fang Z X, et al. Study on purification technology of the Water-Soluble Lignan from *Cortex Albizziae* [J]. *Lishizhen Med Materia Med Res*, 2015, 26(4): 790-792.