

## 基于网络药理学及分子对接的五子衍宗丸治疗肝纤维化作用机制探讨

陈春宇<sup>1</sup>, 纪瑞锋<sup>2\*</sup>

1. 广东药科大学 健康学院, 广东 广州 510310

2. 广东药科大学 中药学院, 广东 广州 510006

**摘要:** **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探讨补肾复方五子衍宗丸治疗肝纤维化的作用机制。**方法** 使用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <http://isp.nwu.edu.cn/tcmspsearch.php>) 数据库预测五子衍宗丸有效成分的靶点并通过 Uniprot 数据库进行靶点名称标准化; 通过 OMIM、Gene Cards、DisGeNET 数据库收集肝纤维化靶点, 通过韦恩图筛选活性成分靶点和疾病靶点基因的交集, 获取五子衍宗丸治疗肝纤维化的潜在靶点; 运用 Cytoscape 3.9.0 构建有效成分-靶点-肝纤维化网络, 预测核心靶点, 构建基于 STRING 平台的蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络; 利用微生信平台进行基因本体 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 使用 AutoDockTools 软件, 结合 PPI 网络及 GO 功能、KEGG 通路分析, 将核心靶点与有效成分进行对接验证。**结果** 获得五子衍宗丸活性成分 84 个, 筛选出有效成分作用靶点 179 个, 肝纤维化靶点 798 个, 五子衍宗丸与肝纤维化交集靶点 81 个, 经拓扑属性分析筛选得到五子衍宗丸 26 个活性成分、37 个治疗肝纤维化关键靶点; 根据“活性成分-靶点-通路”网络图, 预测槲皮素、山柰酚、苦参碱、黄豆黄素为五子衍宗丸作用于肝纤维化的重要活性成分; RAC- $\alpha$  丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL6)、细胞肿瘤抗原 p53 (TP53)、血管内皮生长因子 A (VEGFA) 等为核心靶点。GO 功能富集分析的生物学过程 (BP) 主要与 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、基因表达的正调控等关联; 细胞组分 (CC) 主要与细胞外空间、细胞核等关系密切; 分子功能 (MF) 主要与大分子复合物结合、蛋白激酶活性、RNA 聚合酶 II 核心启动子近端序列特异性 DNA 结合等相关。五子衍宗丸治疗肝纤维化途径主要包括化学致癌-活性氧信号通路、JAK-STAT 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路等。核心成分槲皮素、山柰酚、苦参碱、黄豆黄素与核心作用靶点 AKT1、TNF、IL6、VEGFA、CASP3 等对接结合稳定, 分子对接初步证明关键成分自发地与多个核心蛋白结合, 可对多个关键靶点进行调控。**结论** 通过网络药理学及分子对接初步揭示补肾复方五子衍宗丸影响凋亡过程的正负调控、氧化应激、炎症因子、血管生成等反应过程, 具有多成分、多靶点、多通路等作用特点, 可为临床肝纤维化治疗中重视补肾法提供参考依据。

**关键词:** 五子衍宗丸; 肝纤维化; 网络药理学; 分子对接; 补肾法; 槲皮素; 山柰酚; 苦参碱; 黄豆黄素

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2024) 02-0277-14

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.02.007

## Exploring mechanism of Wuzi Yanzong Pills in treating hepatic fibrosis based on network pharmacology and molecular docking

CHEN Chunyu<sup>1</sup>, JI Ruifeng<sup>2</sup>

1. College of Health Science, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

**Abstract: Objective** The mechanism of the kidney-tonifying formula Wuzi Yanzong Pills was explored in treatment of hepatic fibrosis by means of network pharmacology and molecular docking technology. **Method** The active components of Wuzi Yanzong Pills and its corresponding targets were predicted by Using TCMSP database and the target names were standardized through the Uniprot database. The hepatic fibrosis targets were collected through OMIM, Gene Cards, and DisGeNET databases, the potential targets of Wuzi Yanzong Pills in treatment of liver fibrosis were obtained by the intersection of active component targets and disease targets selected by Venn diagram. Cytoscape 3.9.0 software was used to map the active components-intersection targets-disease

收稿日期: 2023-10-12

基金项目: 广州市科技局基础与应用基础项目(202201010183); 广东省中医药局科研项目(20222112)

第一作者: 陈春宇, 女, 博士, 讲师, 研究方向为中医临床及基础研究。E-mail: chenyyuezi@163.com

\*通信作者: 纪瑞锋, 男, 博士, 讲师, 研究方向为中药网络药理学研究。E-mail: jiruifeng0708@163.com

network and to predict core targets. STRING platform was used to construct a PPI network. Pathway enrichment was analyzed by gene ontology (GO) function and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG); AutoDockTools software was used to dock the core target with active components. **Result** 84 active components of Wuzi Yanzong Pills and 179 potential targets of the active components were obtained, 798 hepatic fibrosis targets and 81 intersection targets between the disease and Wuzi Yanzong Pills were identified. 26 active components and 37 key targets for the treatment of hepatic fibrosis by Wuzi Yanzong Pills were screened by meridian topology analysis. Quercetin, kaempferol, matrine, and glycitein were important active components of Wuzi Yanzong Pills in treating hepatic fibrosis which were predicted by the "active ingredient target pathway" network. The core targets were RAC- $\alpha$  Serine/threonine protein kinase (AKT1), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL6), cell tumor antigen p53 (TP53), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), etc. The biological process of GO functional enrichment analysis were mainly related to the positive regulation of RNA polymerase II promoter transcription and gene expression, the cellular components were closely related to the extracellular space, nucleus, etc., the molecular function was mainly related to the binding of macromolecular complexes, protein kinase activity, and specific DNA binding to the proximal sequence of RNA polymerase II core promoter. The main pathways through which Wuzi Yanzong Pills treated hepatic fibrosis include the chemical carcinogenic reactive oxygen species signaling pathway, JAK-STAT signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, etc. The core components of quercetin, kaempferol, matrine, and glycitein had stable docking and binding with core targets such as AKT1, TNF, IL6, VEGFA, CASP3, etc. Molecular docking had preliminarily demonstrated that key components spontaneously bind to multiple core proteins and can regulate multiple key targets. **Conclusion** The mechanism of the kidney-tonifying formula Wuzi Yanzong Pills in treatment of hepatic fibrosis was preliminarily revealed that it could interfere the the process of apoptosis through positive and negative regulation, oxidative stress, inflammatory factors, angiogenesis, and other response; The kidney tonifying formula Wuzi Yanzong Pills had the characteristics of multiple components, multiple targets, and multiple pathways, which can provide a reference basis for emphasizing the kidney tonifying method in the clinical treatment of hepatic fibrosis.

**Key words:** Wuzi Yanzong Pills; hepatic fibrosis; network pharmacology; molecular docking; kidney tonifying method; quercetin; kaempferol; matrine; glycitein

肝纤维化是一种世界范围内发病率高并严重危害人类身体健康的常见病之一。它是指肝细胞发生坏死或炎症刺激时,肝脏内纤维结缔组织增生与分解失衡,从而在肝内异常沉积的病理过程,是多种慢性肝病的重要病理特征和发展至肝硬化的必经阶段<sup>[1-2]</sup>。祖国医学辨证论治肝纤维化有独特的优势,在肝纤维化的治疗中显示出巨大的潜力。肝损伤至少要持续数月或数年才可引起肝纤维化,一般病程时间较长<sup>[3]</sup>。久病必虚,当发生肝纤维化时,肝细胞的再生能力转而弱于间质的增殖修复能力,说明肝细胞生机不足。久病及肾,会“损及胎元”,虚为百病之源,肾为先天之本,补虚应该先补肾,补肾即能补肝,从肾论治肝纤维化逐渐被重视<sup>[4]</sup>。五子衍宗丸的处方记载于明代张时彻辑著的《摄生众妙方》<sup>[5]</sup>,被誉为“填精补髓、温肾补虚”的补肾经典方。全方组成为枸杞子、菟丝子、覆盆子、五味子、车前子,方中枸杞子、菟丝子补肾、覆盆子滋精,五味子生血,车前子利尿固精,具有明显的补肾生精之功<sup>[6]</sup>。五子衍宗丸可用于肝脏的保护<sup>[7]</sup>。已有研究表明<sup>[8]</sup>,补肾复方五子衍宗丸具有明显的抗肝纤维化作用,能够改善大鼠的一般情况,降低大鼠血液Ⅲ型前胶原(PIIIP)、Ⅳ型胶原(C-Ⅳ)含量,

减少大鼠肝细胞空泡样变性,及大鼠肝组织汇管区胶原纤维的沉积。刘广楠<sup>[9]</sup>发现五子衍宗丸联合复方甘草酸单铵S(佳派)注射液能显著改善肺癌、胃癌、乳腺癌化疗药物性肝损伤的肝功能指标及临床症状。甘肃省甘氏中医世家<sup>[10]</sup>常用补肾方药治疗肝纤维化独具特色,其中用五子衍宗丸治疗肝纤维化每获良效。笔者作为甘氏中医世家第5代传人<sup>[11]</sup>,查阅甘氏中医世家治疗肝脏疾病经验方集,并结合甘氏中医数代临床经验,认为“虚乃积”<sup>[12]</sup>“久病及肾”<sup>[13]</sup>“肝肾同源”<sup>[14]</sup>,从肾论治在肝纤维化的治疗中应有更重要地位。

本研究通过网络药理学及分子对接预测补肾复方五子衍宗丸的抗肝纤维化作用,筛选五子衍宗丸治疗肝纤维化作用的有效成分,关键作用靶点和通路,对其治疗肝纤维化的可能作用机制进行探索和阐释,为后续运用五子衍宗丸治疗肝纤维化的相关研究提供理论基础,也为临床上运用补肾法治疗肝纤维化提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 五子衍宗丸活性成分及相关靶点筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmspsearch.php>)

检索车前子、覆盆子、枸杞子、菟丝子、五味子的活性成分和潜在靶点,以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) $\geq 0.10$ 为条件筛选活性成分<sup>[15-16]</sup>,通过Uniprot数据库将所得靶点进行标准化处理,得到五子衍宗丸的活性成分和潜在靶点。

### 1.2 肝纤维化相关靶点及药物-疾病共同靶点的获取

利用 OMIM (<https://www.omim.org/>)、Gene Cards (<https://genecards.weizmann.ac.il/v3/>)数据库、DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>)以“Hepatic fibrosis”为检索词条,获取肝纤维化疾病靶点。通过Uniprot数据库将所得靶点进行标准化处理。通过Venny2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny>)构建韦恩图,获得药物-疾病交集靶点,即五子衍宗丸抗肝纤维化的映射靶点。

### 1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

将筛选得到的映射靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)获得靶点 PPI 网络的 TSV 文件,然后导入 Cytoscape 3.9.0 软件中,并利用“Network Analyzer”功能对分析结果进行拓扑属性分析,选取度值(degree)均大于中位数的靶点作为关键靶点,将筛选得到的关键靶点作图分析。

### 1.4 基因本体(GO)功能富集分析和京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

将筛选得到的五子衍宗丸抗肝纤维化的关键靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>),进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析,GO 功能、KEGG 通路分析选取  $P \leq 0.01$  的条目。通过 GO 分析可以了解靶基因在生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组成(CC)上治疗纤维化的具体相关机制,而 KEGG 通路分析主要反映治疗肝纤维化所涉及的通路。筛选排名靠前的基因功能及通路,应用微生信平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>)的柱状图及气泡图进行可视化分析。

### 1.5 药材活性成分-靶点-通路网络的构建

将筛选得到的活性成分、关键靶点和排名前 20 的通路导入 Cytoscape 3.9.0 软件,并根据化合物、靶点以及信号通路之间的连接度,构建复方制剂的“药材活性成分-靶点-通路”可视化网络图。

### 1.6 分子对接方法

**1.6.1 配体小分子的准备** 利用 TCMSP 数据库 (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 下载“1.5”项下得到的核心化合物的 3D 结构的 mol2 文件,将分子结构导入 Autodock Tools 1.5.7 软件中加氢,使用 grid 功能将其设置为配体后导出为 pdbqt 文件。

**1.6.2 受体靶蛋白的准备** 在 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载 PPI 网络中核心靶点的 3D 结构的 pdb 文件。筛选条件为:(1) Organisms 选择为“Homo sapiens”;(2) 筛选条件选择“Resolution: Best to Worst”,选择分辨率较好的蛋白结构;(3) Macromolecule 筛选单一不含其他杂质、带配体的核心靶点蛋白结构;(4) 基于以上条件,同时选择年份较新的蛋白,保存其 pdb 格式文件<sup>[17]</sup>。然后在 pymol 软件中将蛋白进行去水分子、去配体等操作;在 Autodock Tools 中加氢后导出 pdbqt 文件。

**1.6.3 对接过程及结果评价** 利用 AutoDockTools 软件进行分子对接,在 AutoDockTools 中进行活性化合物和核心靶标之间的自动对接,计算得到相应的结合能数据,用 PyMOL 软件对对接结果进行可视化分析。研究表明<sup>[18]</sup>,可根据结合能计算结果预测药物有效成分与核心靶点的结合活性。其数值小于  $-17.782 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  时表示活性物质与蛋白质之间有结合活性,小于  $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  时有较好的结合活性。

## 2 结果

### 2.1 五子衍宗丸活性成分及相关靶点筛选

通过 TCMSP 以 OB $\geq 30\%$  和 DL $\geq 0.10$  为条件筛选,得到五子衍宗丸的 101 个活性成分,排除无对应靶基因的 17 个活性成分,得到五子衍宗丸的 84 个活性成分(表 1)和 179 个潜在靶点。

### 2.2 肝纤维化相关靶点及药物-疾病共同靶点的获取

从 OMIM、Gene Cards、DisGeNET 数据库获取肝纤维化疾病靶点 798 个。通过 Uniprot 数据库将所得靶点进行标准化处理。将筛选的五子衍宗丸预测靶点与肝纤维化疾病靶点取交集,共得到 81 个映射靶点,见图 1。

### 2.3 PPI 网络构建与分析

将筛选得到的 81 个映射靶点导入 STRING 数据库,以 medium confidence $\geq 0.4$  为阈值筛选得到 PPI 网络的 TSV 文件,导入 Cytoscape 3.9.0 软件中,并利用“Network Analyzer”功能对分析结果进行拓扑属性分析,选取度值均大于中位数 36 的靶点作为关键靶点(表 2),将筛选得到的 37 个关键靶点作图,分析蛋白相互作用关系网络(图 2)。

### 2.4 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

将筛选得到的五子衍宗丸抗肝纤维化的 37 个关键靶点导入 DAVID 数据库进行富集分析,以  $P \leq 0.01$  进行筛选,并依据  $P$  值大小升序选择, $P$  值越小,富集越多。GO 功能富集分析可以用于描述

表1 五子衍宗丸活性成分  
Table 1 Active ingredients of Wuzi Yanzong Pills

序号	MOL ID	成分名称	OB/%	DL
1	MOL001735	高车前素(dinatin)	30.97	0.27
2	MOL000359	谷甾醇(sitosterol)	36.91	0.75
3	MOL005869	西托糖苷(daucostero_qt)	36.91	0.75
4	MOL007813	二氢槲皮素(dihydrotricetin)	58.12	0.28
5	MOL007819	羟丙甲酸(hypolaetin)	33.24	0.28
6	MOL007822	梓醇(catalpol_qt)	95.04	0.10
7	MOL007835	兰花糖苷(orobanchoside_qt)	55.99	0.82
8	MOL000098	槲皮素(querctin)	46.43	0.28
9	MOL001002	鞣花酸(ellagic acid)	43.06	0.43
10	MOL001941	欧前胡素(ammidin)	34.55	0.22
11	MOL002851	ZINC05224268	34.43	0.13
12	MOL000358	$\beta$ -谷甾醇(beta-sitosterol)	36.91	0.75
13	MOL000422	山柰酚(kaempferol)	41.88	0.24
14	MOL000612	$\alpha$ -柏木烯[(-)-alpha-cedrene]	55.56	0.10
15	MOL000066	别香树烯(alloaromadredrene)	53.46	0.10
16	MOL000131	亚油酸(EIC)	41.90	0.14
17	MOL001323	$\alpha$ -谷甾醇(sitosterol alpha1)	43.28	0.78
18	MOL003578	环阿屯醇(cycloartenol)	38.69	0.78
19	MOL001494	亚麻油酸乙酯(mandenol)	42.00	0.19
20	MOL001495	亚麻酸乙酯(ethyl linolenate)	46.10	0.20
21	MOL001889	亚油酸甲酯(methyl linolelaidate)	41.93	0.17
22	MOL001979	(3S,5R,10S,13R,14R,17R)-4,4,10,13,14-五甲基-17-[(2R)-6-甲基庚-5-烯-2-基]-2,3,5,6,7,11,12,15,16,17-十氢-1H-环戊[ $\alpha$ ]菲蒽-3-醇(LAN)	42.12	0.75
23	MOL000449	豆甾醇(stigmasterol)	43.83	0.76
24	MOL005406	atropine	45.97	0.19
25	MOL005438	菜油甾醇(campesterol)	37.58	0.71
26	MOL005961	10,13十八碳二烯酸甲酯(10,13-octadecadienoic acid, methyl ester)	41.93	0.17
27	MOL006209	花青苷(cyanin)	47.42	0.76
28	MOL000676	邻苯二甲酸二丁酯(DBP)	64.54	0.13
29	MOL007449	24-亚甲基二苯酚(24-methylidenelophenol)	44.19	0.75
30	MOL000749	亚油酸(linoleic)	41.90	0.14
31	MOL008173	胡萝卜素(daucosterol_qt)	36.91	0.75
32	MOL008400	黄豆黄素(glycitein)	50.48	0.24
33	MOL010234	$\delta$ -胡萝卜素(delta-carotene)	31.80	0.55
34	MOL000878	法尼基丙酮(farnesylacetone)	37.84	0.10
35	MOL000953	胆固醇(CLR)	37.87	0.68
36	MOL009604	14b-孕甾烷(14b-pregnane)	34.78	0.34
37	MOL009617	24-乙基胆甾-22-烯醇(24-ethylcholest-22-enol)	37.09	0.75
38	MOL009618	24-乙基胆甾-5,22-二烯醇(24-ethylcholesta-5,22-dienol)	43.83	0.76
39	MOL009620	24-甲基-31-去甲甾-9(11)-烯醇[24-methyl-31-norlanost-9(11)-enol]	38.00	0.75
40	MOL009621	24-亚甲基-8-烯醇(24-methylenelanost-8-enol)	42.37	0.77
41	MOL009622	岩藻甾醇(fucosterol)	43.78	0.76
42	MOL009633	31-去甲甾-9(11)-烯醇[31-norlanost-9(11)-enol]	38.35	0.72
43	MOL009634	31-去甲苯甾醇(31-norlanosterol)	42.20	0.73

表1 (续)

序号	MOL ID	成分名称	OB/%	DL
44	MOL009635	4, 24-甲基苯酚(4, 24-methylphenol)	37.83	0.75
45	MOL009637	4-[(Z, 1R)-3-(4-甲氧基苯基)-1-乙烯基-2-丙烯基]苯酚(4-[(Z, 1R)-3-(4-methoxyphenyl)-1-vinylprop-2-enyl]phenol)	43.47	0.15
46	MOL009639	4-甲基-7-烯胆烷醇(1ophenol)	38.13	0.71
47	MOL009640	4 $\alpha$ , 14 $\alpha$ , 24-三甲基胆甾甾-8, 24-二烯醇(4 $\alpha$ , 14 $\alpha$ , 24-Trimethylcholesta-8, 24-dienol)	38.91	0.76
48	MOL009641	4 $\alpha$ , 24-二甲基胆甾-7, 24-二烯醇(4 $\alpha$ , 24-dimethylcholesta-7, 24-dienol)	42.65	0.75
49	MOL009642	4 $\alpha$ -甲基-24-乙基胆甾甾-7, 24-二烯醇(4 $\alpha$ -methyl-24-ethylcholesta-7, 24-dienol)	42.30	0.78
50	MOL009644	6-氟吲哚-7-脱氢胆固醇(6-fluoroindole-7-dehydrocholesterol)	43.73	0.72
51	MOL009646	7-O-甲基木犀草素-6-C- $\beta$ -葡萄糖苷(7-O-methyllyuteolin-6-C-beta-glucoside <sub>qt</sub> )	40.77	0.30
52	MOL009650	atropine	42.16	0.19
53	MOL009656	(E, E)-1-乙基十八碳-3, 13-联烯酯[(E, E)-1-ethyl octadeca-3, 13-dienoate]	42.00	0.19
54	MOL009661	野芝麻新苷(ipolamiide <sub>qt</sub> )	139.96	0.12
55	MOL009665	大黄素甲醚-8-O- $\beta$ -D-京尼平苷(phycion-8-O-beta-D-gentiobioside)	43.90	0.62
56	MOL009667	11Z-十六碳烯酸(11Z-hexadecenoic acid)	35.78	0.10
57	MOL009668	莪术呋喃烯酮(zederone)	48.97	0.17
58	MOL009677	羊毛脂-8-烯-8- $\beta$ 醇(lanost-8-en-3beta-ol)	34.23	0.74
59	MOL009678	羊毛脂-8-烯醇(lanost-8-enol)	34.23	0.74
60	MOL009681	钝叶醇(obtusifoliol)	42.55	0.76
61	MOL001558	芝麻素(sesamin)	56.55	0.83
62	MOL000184	NSC63551	39.25	0.76
63	MOL000354	异鼠李素(isorhamnetin)	49.60	0.31
64	MOL005043	campest-5-en-3beta-ol	37.58	0.71
65	MOL005440	异岩藻甾醇(isofucosterol)	43.78	0.76
66	MOL005944	苦参碱(matrine)	63.77	0.25
67	MOL009304	N-甲基金雀花碱(N-methylcytisine)	76.82	0.11
68	MOL001566	白菖烯(calarene)	52.16	0.11
69	MOL002153	桉油烯醇(spathulenol)	82.33	0.12
70	MOL002335	$\beta$ -古芸烯(beta-gurjunene)	51.36	0.10
71	MOL003541	$\alpha$ -长叶蒎烯(alpha-longipinene)	57.47	0.12
72	MOL003546	土青木香酮(aristolone)	45.31	0.13
73	MOL004624	长栲利素A(longikaurin A)	47.72	0.53
74	MOL005317	脱氧三尖杉酯碱(deoxyharringtonine)	39.27	0.81
75	MOL007719	去氧紫草素(arnebin 7)	73.85	0.18
76	MOL008942	1, 1 $\alpha$ , 4, 5, 6, 7, 7 $\alpha$ , 7 $\beta$ -八氢-1, 1, 7, 7 $\alpha$ -四甲基-2H-环丙烷( $\alpha$ )-萘-2-酮[1, 1 $\alpha$ , 4, 5, 6, 7, 7 $\alpha$ , 7 $\beta$ -octahydro-1, 1, 7, 7 $\alpha$ -tetramethyl-2H-cyclopropa ( $\alpha$ )-naphthalen-2-one]	43.91	0.13
77	MOL008956	当归酰戈米辛O(angeloylgomisin O)	31.97	0.85
78	MOL008957	五味子酯乙(schizandrer B)	30.71	0.83
79	MOL008965	二十二碳五烯酸(clupanodonic acid)	44.01	0.15
80	MOL008968	戈米辛A(gomisin-A)	30.69	0.78
81	MOL008974	戈米辛G(gomisin G)	32.68	0.83
82	MOL008978	戈米辛R(gomisin R)	34.84	0.86
83	MOL008992	五味子丙素(wuweizisu C)	46.27	0.84
84	MOL008993	蚕豆酮(wyerone)	79.24	0.13

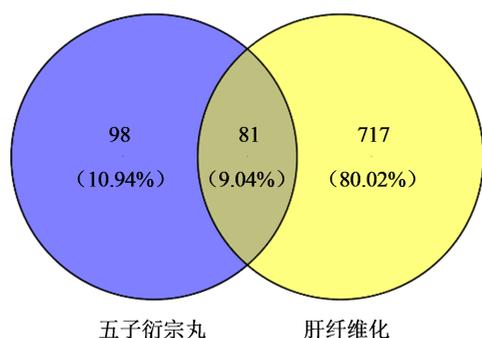


图 1 五子衍宗丸与肝纤维化相关靶点 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of Wuzi Yanzong Pills and hepatic fibrosis related targets

基因靶点在 BP、CC 和 MF 3 个层面的功能。在 GO 富集中,共得到 476 个条目,其中 BP 占 399 个条目,CC 占 19 个条目,MF 占 58 个条目,筛选 BP、CC 和 MF 中的前 10 个条目利用微生信进行绘制,GO 分析图见图 3。结果表明,BP 主要涉及对 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、基因表达的正调控、转录的正调控、凋亡过程的负调控等;CC 主要与细胞外空间、细胞核、胞浆、胞外区等有关;MF 主要与大分子复合物结合、蛋白激酶活性、蛋白激酶结合、转录因子活性、RNA 聚合酶 II 核心启动子近端序列特异性 DNA 结合等有关。

表 2 关键靶点网络的拓扑学性质

Table 2 Topological properties of key target network

序号	靶点	名称	度值
1	AKT1	RAC- $\alpha$ 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(RAC-alpha serine/threonine-protein kinase)	70
2	TNF	肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor)	68
3	IL6	白细胞介素-6(Interleukin-6)	67
4	TP53	细胞肿瘤抗原 p53(Cellular tumor antigen p53)	66
5	VEGFA	血管内皮生长因子 A(Vascular endothelial growth factor A)	65
6	IL1B	白细胞介素-1 $\beta$ (Interleukin-1 beta)	64
7	CASP3	半胱天冬蛋白酶-3(Caspase-3)	61
8	PTGS2	前列腺素 G/H 合酶 2(Prostaglandin G/H synthase 2)	61
9	CXCL8	白细胞介素-8(Interleukin-8)	59
10	EGFR	表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor)	58
11	EGF	促表皮生长因子(Pro-epidermal growth factor)	58
12	MMP9	基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9)	58
13	HIF1A	缺氧诱导因子 1- $\alpha$ (Hypoxia-inducible factor 1-alpha)	58
14	PPARG	过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)	56
15	CCL2	C-C 基序趋化因子 2(C-C motif chemokine 2)	55
16	MYC	Myc 原癌基因蛋白(Myc proto-oncogene protein)	55
17	NFKBIA	NF- $\kappa$ B 抑制剂 $\alpha$ (NF-kappa-B inhibitor alpha)	51
18	CCND1	G <sub>1</sub> /S-特异性 Cyclin-D1(G <sub>1</sub> /S-specific cyclin-D1)	51
19	IL10	白细胞介素-10(Interleukin-10)	51
20	HMOX1	血红素加氧酶 1(Heme oxygenase 1)	50
21	ICAM1	细胞间黏附分子 1(Intercellular adhesion molecule 1)	49
22	VCAM1	血管细胞黏附蛋白 1(Vascular cell adhesion protein 1)	46
23	PPARA	过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ (Peroxisome proliferator-activated receptor alpha)	44
24	MAPK8	丝裂原活化蛋白激酶 8(Mitogen-activated protein kinase 8)	44
25	CD44	CD44 基因蛋白(CD44 antigen)	44
26	MMP2	72 k Da 的 IV 型胶原酶(72 kDa type IV collagenase)	43
27	IFNG	丙型肝炎干扰素(Interferon gamma)	43
28	CASP8	半胱天冬蛋白酶 8(Caspase-8)	43
29	SERPINE1	纤溶酶原激活物抑制物 1(Plasminogen activator inhibitor 1)	42
30	NOS3	一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase)	41
31	IL2	白细胞介素-2(Interleukin-2)	41
32	IL1A	白细胞介素-1 $\alpha$ (Interleukin-1 alpha)	41
33	CAV1	微囊蛋白-1(Caveolin-1)	40
34	STAT1	信号转导子和转录激活子 1(Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta)	40
35	MAPK14	有丝分裂原激活蛋白激酶 14(Mitogen-activated protein kinase 14)	39
36	IKKBK	核因子 $\kappa$ B 激酶亚基 $\beta$ 抑制剂(Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta)	38
37	SPP1	骨桥蛋白(Osteopontin)	37

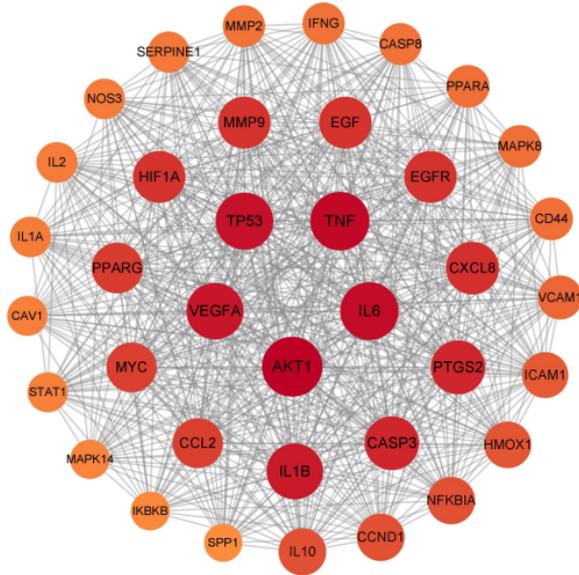


图 2 37 个关键靶蛋白的 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of 37 key target proteins

KEGG 分析可以对蛋白靶点交互网络在各种细胞活动中起的作用做出预测,找出关键蛋白靶点及其所在的作用通路。KEGG 富集分析中,共收集到 132 条主要通路,将前 20 条通路利用微生信进行绘制,KEGG 分析图见图 4。富集到的通路主要涉及癌症通路(Pathways in cancer)、糖尿病并发症中的年龄愤怒信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、流体剪切应力和动脉粥样硬化(Fluid shear stress and atherosclerosis)、脂质和动脉粥样硬化(Lipid and atherosclerosis)、TNF 信号通路(TNF signaling pathway)、IL-17 信号通路(IL-17 signaling pathway)、癌症中的蛋白聚糖(Proteoglycans in cancer)、C 型凝集素受体信号通路(C-type lectin receptor signaling pathway)、MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)、Toll 样受体信号传导通路(Toll-like receptor signaling pathway)、

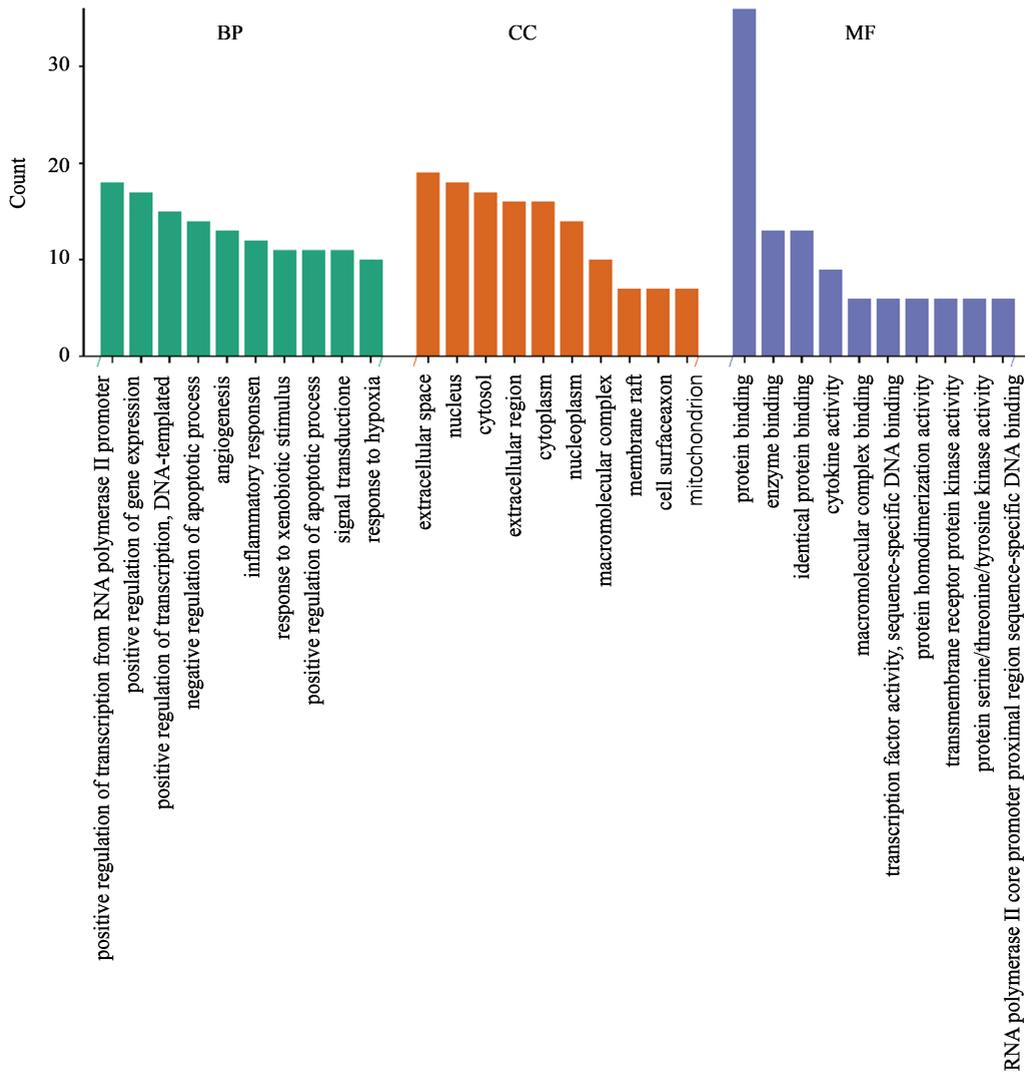


图 3 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis

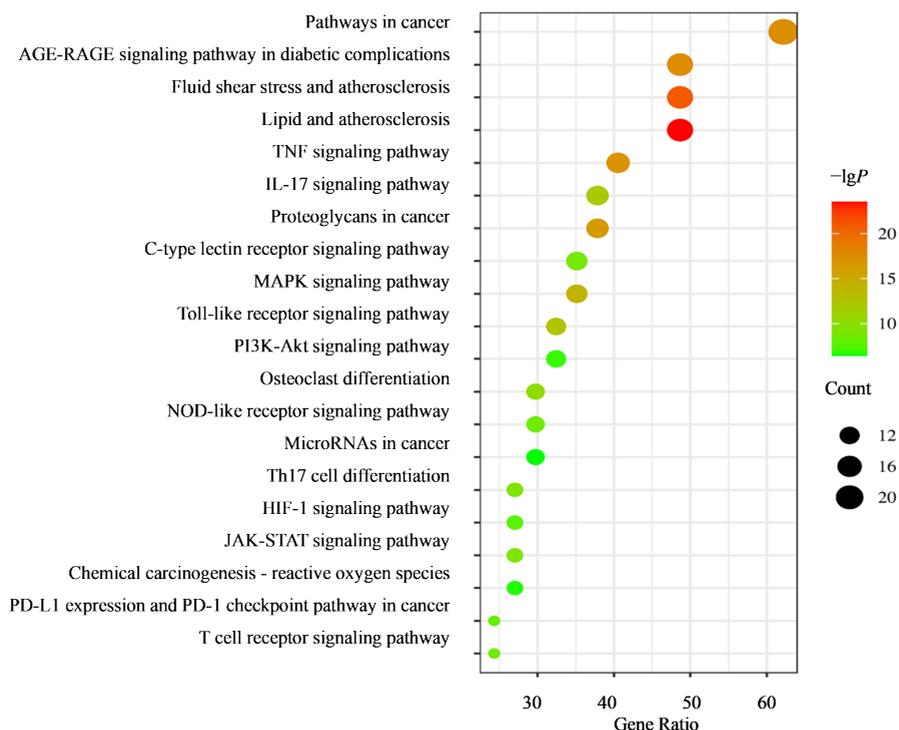


图 4 KEGG 富集分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis

PI3K-Akt 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway)、破骨细胞分化 (Osteoclast differentiation)、NOD 样受体信号通路 (NOD-like receptor signaling pathway)、MicroRNAs 癌症 (MicroRNAs in cancer)、Th17 细胞分化 (Th17 cell differentiation)、HIF-1 信号通路 (HIF-1 signaling pathway)、JAK-STAT 信号通路 (JAK-STAT signaling pathway)、化学致癌-活性氧 (Chemical carcinogenesis-reactive oxygen species)、癌症中 PD-L1 表达和 PD-1 检查点通路 (PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer)、T 细胞受体信号通路 (T cell receptor signaling pathway)。

### 2.5 药材活性成分-靶点-通路网络的构建

将关键靶点对应的成分进行筛选并去除重复值,得到 26 个活性成分、37 个关键靶点和排名前 20 通路,导入 Cytoscape 3.9.0 软件,并根据化合物、靶点以及信号通路之间的连接度,构建复方制剂的“活性成分-靶点-通路”可视化网络图,结果见图 5。从图中可知,药物成分中槲皮素、山柰酚、苦参碱、黄豆黄素的度值较高,可视为五子衍宗丸作用于肝纤维化的重要活性成分,同时表明五子衍宗丸复方制剂作用于多个靶点、多个通路发挥抗肝纤维化的作用。

### 2.6 分子对接

受体-配体的结合程度可以通过分子对接

结果中的结合能水平来判断。如果结合能小于  $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,说明目标物与化合物有一定的结合活性,结合能越低,对接效果越好。将核心化合物槲皮素、山柰酚、苦参碱、黄豆黄素与 PPI 网络中得到度值靠前的核心作用靶点 AKT1、TNF、IL6、VEGFA、CASP3、IL1B、CCL2、MAPK14 进行分子对接,部分对接结果见表 3。对接结合能均小于  $-20.92 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,表明化合物与关键核心靶点间均有良好的结合能力;部分化合物对接构象见图 6。

分子对接可视化结果显示,五子衍宗丸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 1~11 个氢键相互作用。其中,黄豆黄素与 MAPK14 的 ILE297、TYR307 残基共形成两个氢键;槲皮素与 CASP3 的 ASP253、SER251、PHE252、GLU248 等 7 个残基共形成 9 个氢键,与 CCL2 的 SER33、THR32、ALA48、GLU50 等 7 个残基共形成 11 个氢键,与 IL6 的 ASP62、THR98、PHE100 等 6 个残基共形成 8 个氢键,与 VEGFA 的 ASP27、PHE29、ASP56 残基共形成 4 个氢键;山柰酚与 TNF 的 TRY151、TYP119、LEU120 残基共形成 5 个氢键,与 AKT1 的 ASP258、TYR176、TYR175 等 6 个残基共形成 10 个氢键;苦参碱与 TNF 的 ALA156、LYS11、SER60、LEU120 残基共形成 5 个氢键。并且,在可视化结果中,化合物与关键靶点

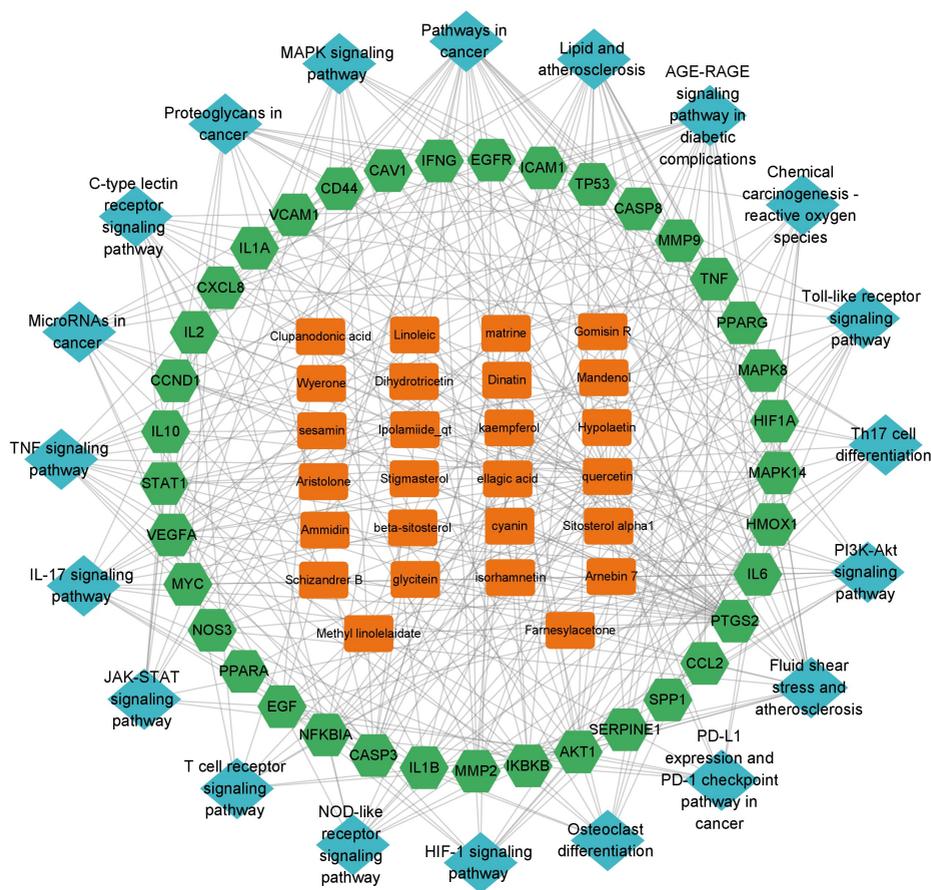


图 5 “药材活性成分-靶点-通路”网络  
Fig. 5 Network of “Ingredients-medicinal materials-targets-pathways”

表 3 核心靶点与活性成分结合能  
Table 3 Binding energy of core targets and active ingredients

靶点名称	靶点 PDB ID	成分	结合能/ (kJ·mol <sup>-1</sup> )
AKT1	7nh5	山柰酚	-32.718 88
		槲皮素	-27.990 96
TNF	7kpa	黄豆黄素	-29.288 00
		山柰酚	-34.225 12
		槲皮素	-32.844 40
IL6	4o9h	苦参碱	-33.848 56
		槲皮素	-28.451 20
		VEGFA	3qtk
CASP3	3dek	黄豆黄素	-23.095 68
		山柰酚	-26.024 48
		槲皮素	-29.706 40
IL1B	6y8m	槲皮素	-25.815 28
CCL2	1don	槲皮素	-25.187 68
MAPK14	8a8m	黄豆黄素	-29.162 48

形成的氢键长度均在 1~3,说明氨基酸与化合物形成的氢键距离较近,结合较为紧密。

以上对接结果显示,核心成分槲皮素、山柰酚、苦参碱、黄豆黄素与核心作用靶点 AKT1、TNF、IL6、VEGFA、CASP3 等对接结合稳定,分子对接初步证明有效成分可自发地与多个核心蛋白结合,可对多个关键靶点进行调控,从而发挥治疗肝纤维化的作用

### 3 讨论

肝纤维化属于中医“肝积”“积聚”“癥瘕”“胁痛”等范畴。肝纤维化从肾论治有以下原因。其一,慢性肝病迁延不愈,转至肝纤维化,病程较长,需要经过数月甚至数年之久,病理改变多数发展缓慢,与其正气不足,抗病力弱有关。中医有“久病必虚”之说,虚者应当补肾以扶助正气。正如张洁古云:“养正邪自除,壮人无积,虚人则有之。故治积者,当先养正则积自除”。李中梓也提出“积之成也,正气不足而后邪气踞之”。其二,肝肾同源,中医认为在生理上,肝肾同居下焦,肝主藏血而肾主

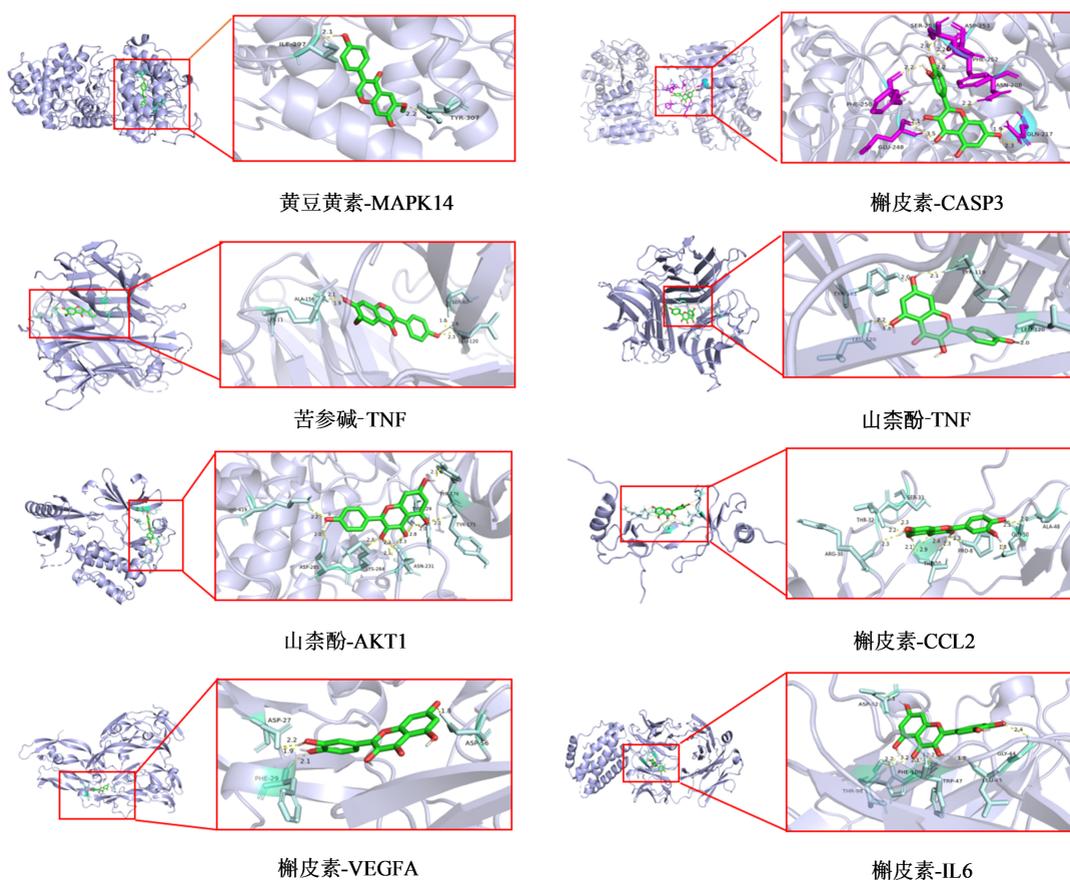


图 6 分子对接部分可视化结果  
Fig. 6 Visualization analysis of molecular docking results

藏精,肝主疏泄而肾主封藏,肝为水之子而肾为木之母<sup>[19]</sup>。在病理上,肝肾相通,一荣俱荣,一损俱损。比如肝血不足与肾精亏损相互影响,导致头昏目眩、耳聋耳鸣、腰膝酸软等肝肾精血两亏的病变。在治疗上,补肾即补肝,肝肾同治是中医治疗肝病的重要治则之一。《类证治裁·卷之首》云:“凡肝阴不足,必得肾水以滋之”。肝病日久,肾中精气被耗,以致肝肾两亏。相关研究表明,补肾养肝法有较好的抗肝纤维化作用,能保护肝细胞,抑制炎症及胶原的合成,促进胶原的分解<sup>[20]</sup>。补肾复方五子衍宗丸是补肾益精的经典复方,具有抗氧化应激、抗凋亡、调节自噬、抗衰老、增强免疫力的作用<sup>[21]</sup>。

本研究 GO 富集分析显示五子衍宗丸对凋亡过程的正负调控、氧化应激、炎症因子、血管生成等的反应过程,作用于细胞核、胞浆、胞外区、细胞质等途径,具有广泛调节作用。KEGG 富集分析结果显示,五子衍宗丸主要作用于化学致癌-活性氧信号通路、JAK-STAT 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路等发挥治疗肝纤维化的作用。

活性氧(ROS)既可以参与肝纤维化发生,

也可通过其他病理过程介导肝纤维化发生发展。现有研究表明肝炎病毒、酒精、脂多糖等均可催化 ROS 产生,并诱导肝细胞凋亡,使其分泌转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等促纤维化分子,通过 TGF- $\beta$ /smad 等信号通路级联反应,造成肝脏氧化应激水平升高,刺激肝星状细胞活化增殖,介导纤维化发生<sup>[22-23]</sup>。肝纤维化时,TGF- $\beta$  通路被激活,TGF- $\beta$ 1 明显增高,而且其增高总是与胶原、Fn(纤维连接蛋白)、蛋白聚糖、PIIIP 等反映肝纤维化指标的增加相伴随<sup>[24]</sup>。研究证实可通过降低 ROS 表达减少炎症反应,进而减轻肝纤维化<sup>[25-26]</sup>。

PI3K-Akt 信号通路可以通过调节肝星状细胞(HSC)的活化以及调节肝窦毛细血管化等作用参与肝纤维化的形成。现有研究证实降低 PI3K、p-Akt 的蛋白表达水平,抑制 TGF- $\beta$  诱导的 HSC 活化,进而发挥抗纤维化的作用<sup>[27-28]</sup>。

JAK/STAT 信号通路是一条由细胞转导刺激的信号通路,在肝纤维化的形成过程中发挥了重要的调控作用,研究证实抑制 JAK1/STAT3 信号通路的转导和激活可延缓肝纤维化的进展<sup>[29-30]</sup>。

MAPK信号转导通路与肝纤维化息息相关,其中c-Jun氨基末端激酶(JNK)参与细胞内的各种应激反应,能够活化HSC细胞的增殖;细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)在HSC的增殖中起到调节作用。研究证实抑制MAPK相关通路的激活可有效改善肝纤维化病变<sup>[31-33]</sup>。

分子对接结果显示五子衍宗丸核心成分槲皮素、山柰酚、苦参碱、黄豆黄素与核心作用靶点AKT1、TNF、IL6、VEGFA、CASP3等对接结合稳定。

槲皮素是一种天然黄酮醇类化合物,存在于五子衍宗丸组方药材菟丝子、覆盆子、枸杞子中,有抑制炎症和氧化应激反应、防止肝损伤、抗肝纤维化等药理作用<sup>[34]</sup>。相关研究显示它能降低核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的表达,同时下调p38 MAPK的水平,使肝组织中胶原蛋白沉积及炎性细胞浸润减少<sup>[35]</sup>。PI3K-Akt信号通路中的AKT1是AKT激酶之一,AKT1可抑制HSC中的细胞增殖,抑制促纤维化标志物及纤维化<sup>[36]</sup>。

山柰酚属于黄酮醇类,为菟丝子主要化学成分,并在覆盆子、枸杞子、车前子中均有分布,具有抗炎、抗氧化、抗肝纤维化的作用。研究显示山柰酚能够抑制HSC激活和胶原蛋白合成,显著下调ALT、AST、层粘连蛋白(LN)和透明质酸(HA)水平,选择性地与ALKS的ATP结合位点结合,以此调节TGF- $\beta$ 1/Smad2/3信号通路,有效地减弱肝纤维化的形成<sup>[37]</sup>。

苦参碱存在于菟丝子中,现代药理学研究证实苦参碱具有抗炎、抗纤维化、抗肿瘤的作用,尤其是抗组织纤维化的作用备受关注<sup>[38]</sup>。陈伟忠<sup>[39]</sup>应用苦参碱防治CCL<sub>4</sub>诱导的大鼠实验性肝纤维化,结果表明苦参碱能显著减轻实验大鼠肝细胞变性、坏死及纤维组织的形成,同时能降低不同实验阶段血清ALT、HA及肝组织Hyp的含量,提示苦参碱能有效保护肝细胞,具有明显的抗肝纤维化的作用。

在肝纤维化的发生发展中,离不开细胞炎症因子的作用。久病必虚,当机体正气减弱,免疫功能降低,最易引发炎症反应<sup>[40]</sup>。TNF、IL6都是重要的炎症因子,又有免疫调节作用<sup>[41]</sup>,可作用于组织细胞,刺激细胞生长,促进细胞外基质(ECM)增生,并能介导肝损伤形成肝纤维化<sup>[42-43]</sup>。PI3K可以通过激活Akt下游的NF- $\kappa$ B信号通路,促进TNF-a、IL-6的分泌,调节HSC的增殖、迁移、增加胶原的表达促进肝纤维化的发生<sup>[44]</sup>。

黄豆黄素是一种大豆异黄酮中的有效成分之

一,存在于枸杞子中,用于研究细胞凋亡和抗氧化。近年来国内外研究发现,大豆异黄酮可去除肝纤维化致病因素,减轻肝细胞损伤,抑制HSC激活,从而干预肝纤维化。相关研究显示大豆异黄酮可下调HSC细胞内 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、血管内皮生长因子(VEGF)以及结缔组织生长因子(CTGF)的表达,具有抗肝纤维化的作用,其机制可能通过早期的保护肝功能和晚期的抑制HSC过度激活从而延缓肝纤维化进展<sup>[45]</sup>。时磊等<sup>[46]</sup>研究发现随着造模时间的延长,模型组大鼠肝脏VEGF mRNA的表达量呈现明显的逐步增加趋势,这也进一步证实了VEGF参与了肝脏损伤后病理血管新生的过程。有关研究指出通过PI3K通路控制VEGFA的表达,从而有效抑制肝窦内皮细胞毛细血管化和新生血管的生成,改善肝纤维化的程度<sup>[47]</sup>。CASP3是Caspase家族负责细胞凋亡执行者之一,其抗纤维化的作用,主要与促进活化的肝星状细胞凋亡有关<sup>[48]</sup>。CASP3敲除的小鼠肝细胞凋亡减少,肝损伤和纤维化程度减轻<sup>[49]</sup>。

基于网络药理学及分子对接技术,初步探究补肾复方五子衍宗丸治疗肝纤维化的潜在作用机制,表明五子衍宗丸具有多成分、多靶点、多通路等作用特点。五子衍宗丸的主要药效成分可通过相关通路保护肝脏细胞,抑制炎症,调节胶原的合成与分解,发挥其抗肝纤维化的作用。肝脏细胞在肝纤维化生理病理中非常重要,调节其衰老和增殖修复能力可能是补肾复方五子衍宗丸发挥抗肝纤维化作用的重要机制。本研究可为进一步药理实验及机制研究提供借鉴,也可临床肝纤维化治疗中重视补肾法提供依据,但本研究具有一定的局限性,需要进一步的实验及临床研究进行探讨和验证。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 赵洪涛,冯凯,任万华,等. HBV慢性无症状携带者临床、肝活检、血清标志物的三年随访动态观察[J]. 中华消化杂志, 1994, 14(2): 80-82.  
Zhao H T, Feng K, Ren W H, et al. Dynamic observation of clinical, liver biopsy and serum markers of chronic asymptomatic HBV carriers in three years' follow-up [J]. Chin J Dig, 1994, 14(2): 80-82.
- [2] 孙振亮,吴哲,贵襄平,等. 复方鳖甲软肝片对肝纤维化大鼠的保护作用及其机制[J]. 云南中医学院学报, 2019, 42(1): 30-32, 58.

- Sun Z L, Wu Z, Gui X P, et al. Protective effect and mechanism of compound Biejia Ruangan Tablet on liver fibrosis in rats [J]. *J Yunnan Univ Tradit Chin Med*, 2019, 42(1): 30-32, 58.
- [3] Schiff E R, Maddrey W C, Sorrell M F. 希夫肝脏病学 [M]. 王福生, 译. 北京: 北京大学医学出版社, 2015. Schiff E R, Maddrey W C, Sorrell M F. *Schiff Hepatology* [M]. Wang F S, Translation. Beijing: Peking University Medical Publishing, 2015.
- [4] 陈春宇, 于峥, 陈小野. 肝纤维化从肾论治探讨 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2017, 23(9): 1211-1213. Chen C Y, Yu Z, Chen X Y. Discussion on treatment of liver fibrosis from kidney [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2017, 23(9): 1211-1213.
- [5] 孔令青, 李鸣镝. 中医方剂"五子衍宗丸"组方的历史源流 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(1): 67-68. Kong L Q, Li M D. The historical origin of the prescription "wuzi Yanzong pill" [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2009, 15(1): 67-68.
- [6] 曾镛霏, 李葵. 五子衍宗丸方义及临床应用 [J]. *江西中医药*, 2014, 45(3): 12-13. Zeng Y F, Li Y. Fangyi and Clinical Application of Wuzi Yanzong Pill [J]. *Jiangxi Tradit Chin Med*, 2014, 45 (3): 12-13.
- [7] 陈迁, 陈孟莉, 叶兆波. 五子衍宗复方总多糖对慢性酒精中毒大鼠肝脏的保护作用 [J]. *药学实践杂志*, 2012, 30(1): 25-28, 31. Chen Q, Chen M L, Ye Z B. Protective effect of total polysaccharides in Wuzi-Yanzong pill on chronic alcohol-induced injury in Rat [J]. *J Pharm Pract*, 2012, 30(1): 25-28, 31.
- [8] 陈春宇, 陈小野, 纪瑞锋. 五子衍宗丸在制备治疗肝纤维化药物中的应用. 中国: CN109985127A [P]. 2019-07-09. Chen C Y, Chen X Y, Ji R F. Application of Wuzi Yanzong Pill in the preparation of drugs for the treatment of liver fibrosis. China: CN109985127A [P]. 2019-07-09.
- [9] 刘广楠. 五子衍宗丸治疗化疗后肝损伤的临床疗效分析 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018. Liu G N. The chonical effect of Wuzi Yanzong pill in the treatment of liver injury after chemotherapy [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2018.
- [10] 陈春宇, 任星宇. 甘文源善守古法治崩漏 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2017, 23(3): 432-433. Chen C Y, Ren X Y. Gan Wenyuan is good at defending the ancient rule of law [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2017, 23(3): 432-433.
- [11] 陈春宇. 甘文源"除旧生新"调经种子学术思想探析 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2016, 22(7): 990-991. Chen C Y. An analysis of Gan Wenyuan's academic thought of "eliminating the old and creating the new" to regulate menstruation seeds [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2016, 22(7): 990-991.
- [12] 许继莹, 李桂珍, 楼妍. 基于网络药理学探讨黄芪治疗肝纤维化的作用机制 [J]. *湖南中医杂志*, 2022, 38(7): 146-152. Xu J Y, Li G Z, Lou Y. Mechanism of action of *Astragalus membranaceus* in treatment of liver fibrosis: A study based on network pharmacology [J]. *Hunan J Tradit Chin Med*, 2022, 38(7): 146-152.
- [13] 侯辰阳. 探析"久病及肾"理论在鼓胀病证治的应用 [J]. *中医临床研究*, 2017, 9(17): 21-22. Hou C Y. Application of the Jiubing Jishen therapy in treating tympanites [J]. *Clin J Chin Med*, 2017, 9(17): 21-22.
- [14] 王俞涵, 陈伟栋, 厉蕙萌, 等. "肝肾同源"理论在非酒精性脂肪性肝病治疗中的应用 [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2023, 33(8): 765-768. Wang Y H, Chen W D, Li H M, et al. Application of the theory of "homology of liver and kidney" in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis*, 2023, 33(8): 765-768.
- [15] 姜金玲, 候骄洋, 姚国栋. 基于网络药理学的黄瑞香抗胃癌作用机制探讨及实验验证 [J]. *药物评价研究*, 2023, 46(1): 24-36. Jiang J L, Hou J Y, Yao G D, et al. Study on mechanism of *Daphne giraldii* against gastric cancer based on network pharmacology and experimental verification [J]. *Drug Eval Res*, 2023, 46(1): 24-36.
- [16] 陆玉婷, 李济顺, 卓燊, 等. 泡桐叶化学成分、药理作用研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. *中成药*, 2023, 45(9): 2997-3008. Lu Y T, Li J S, Zhuo S, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of paulownia leaves and prediction and analysis of their quality markers [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2023, 45(9): 2997-3008.
- [17] Yang X H, Liu H H, Liu J N, et al. Rational selection of the 3D structure of biomacromolecules for molecular docking studies on the mechanism of endocrine disruptor action [J]. *Chem Res Toxicol*, 2016, 29(9): 1565-1570.
- [18] Gaillard T. Evaluation of AutoDock and AutoDock vina on the CASF-2013 benchmark [J]. *J Chem Inf Model*, 2018, 58(8): 1697-1706.
- [19] 孙广仁. 中医基础理论 [M]. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007. Sun G R. *Basic Theory of Traditional Chinese Medicine* [M]. 2nd Ed. Beijing: China Traditional Chinese

- Medicine Press, 2007.
- [20] 范宗滂, 蔡慧芬, 吴建成, 等. 中药补肾、养阴方抗肝纤维化的实验研究 [J]. 江苏医药, 1989, 15(5): 234-235, 289.
- Fan Z P, Cai H F, Wu J C, et al. Experimental study on anti-hepatic fibrosis of Bushen and Yangyin prescription [J]. *Jiangsu Med J*, 1989, 15(5): 234-235, 289.
- [21] 黄峰, 吴德玲, 李莉, 等. 五子衍宗丸的药理作用及临床应用研究进展 [J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(5): 89-92.
- Huang F, Wu D L, Li L, et al. Research progress on pharmacological action and clinical application of Wuzi Yanzong Pill [J]. *J Anhui Univ Chin Med*, 2020, 39(5): 89-92.
- [22] Gan D K, Zhang W, Huang C K, et al. Ursolic acid ameliorates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis through the NOXs/ROS pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6799-6813.
- [23] Chung H K, Kim Y K, Park J H, et al. The indole derivative NecroX-7 improves nonalcoholic steatohepatitis in ob/ob mice through suppression of mitochondrial ROS/RNS and inflammation [J]. *Liver Int*, 2015, 35(4): 1341-1353.
- [24] 孙自勤, 权启镇, 于峻基. 转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )与肝纤维化 [J]. 临床肝胆病杂志, 1993, 9(4): 184-186.
- Sun Z Q, Quan Q Z, Yu J J. Transforming growth factor  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) and liver fibrosis [J]. *Chin J Clin Hepatol*, 1993, 9(4): 184-186.
- [25] 闵远骞, 李姗, 刘湘花, 等. 活性氧/活性氮与NF- $\kappa$ B信号通路级联交互在肝纤维化中的作用 [J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(6): 1454-1460.
- Min Y Q, Li S, Liu X H, et al. Research advances in the cascade interaction between reactive oxygen species/reactive nitrogen species and the NF- $\kappa$ B signaling pathway in liver fibrosis [J]. *J Clin Hepatol*, 2023, 39(6): 1454-1460.
- [26] 李浩, 吴勉华, 马艳霞, 等. 中药调控铁死亡抑制肝纤维化的研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2023, 39(6): 587-593.
- Li H, Wu M H, Ma Y X, et al. Research Progress of Traditional Chinese medicine Regulating Ferroptosis to Inhibit Hepatic Fibrosis [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2023, 39(6): 587-593.
- [27] 唐苑, 赵楠, 张晓珣, 等. 青蒿琥酯通过PI3K/Akt/mTOR信号通路改善DDC诱导的胆汁淤积性肝纤维化 [J]. 陆军军医大学学报, 2023, 45(10): 1001-1009.
- Tang W, Zhao N, Zhang X X, et al. Artesunate improves DDC-induced cholestatic liver fibrosis through PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in mice [J]. *J Army Med Univ*, 2023, 45(10): 1001-1009.
- [28] Xiu A Y, Ding Q, Li Z, et al. Doxazosin attenuates liver fibrosis by inhibiting autophagy in hepatic stellate cells via activation of the PI3K/akt/mTOR signaling pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 3643-3659.
- [29] 徐冲, 秦小东, 任丽, 等. 基于JAK1/STAT3信号通路研究高车前素对肝纤维化小鼠的影响 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 6093-6100.
- Xu C, Qin X D, Ren L, et al. Effect of hispidulin on hepatic fibrosis mice based on JAK1/STAT3 signaling pathway [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(19): 6093-6100.
- [30] Zhao J, Qi Y F, Yu Y R. STAT3: A key regulator in liver fibrosis [J]. *Ann Hepatol*, 2021, 21: 100224.
- [31] 徐杰, 钟明利, 王跃峰, 等. 狗肝菜多糖干预MAPK信号通路抑制炎症反应缓解大鼠肝纤维化进程 [J]. 中国药理学通报, 2022, 38(4): 531-537.
- Xu J, Zhong M L, Wang Y F, et al. Study on intervention of DCP on MAPK signaling pathway to inhibit inflammatory response and alleviate progression of liver fibrosis in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2022, 38(4): 531-537.
- [32] 马婷, 邝晓岚, 蔡婉娜, 等. 黄酮类成分抗肝纤维化作用及其机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(13): 4146-4161.
- Ma T, Kuang X L, Cai W N, et al. Research progress on effects of flavonoids against hepatic fibrosis and their mechanisms [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(13): 4146-4161.
- [33] Cai S Y, Wu L J, Yuan S Y, et al. Carvacrol alleviates liver fibrosis by inhibiting TRPM7 and modulating the MAPK signaling pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 898: 173982.
- [34] 许火龙, 聂磊, 李春玉, 等. 槲皮素抗纤维化机制的研究进展 [J]. 微量元素与健康研究, 2021, 38(3): 70-73.
- Xu H L, Nie L, Li C Y, et al. Research progress on anti-fibrosis mechanism of quercetin [J]. *Stud Trace Elem Health*, 2021, 38(3): 70-73.
- [35] Wang R, Zhang H, Wang Y Y, et al. Inhibitory effects of quercetin on the progression of liver fibrosis through the regulation of NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$ , p38 MAPK, and Bcl-2/Bax signaling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 47: 126-133.
- [36] Gordillo K R, Shah R, Tuma P L, et al. Akt1 and Akt2 isoforms play distinct roles in the development of inflammation and fibrosis during alcoholic liver disease [J]. *FASEB J*, 2019, 33(S1): 495-498.
- [37] Xu T F, Huang S, Huang Q R, et al. Kaempferol attenuates liver fibrosis by inhibiting activin receptor-like kinase 5 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 6403-6410.

- [38] 李延玲, 张怀宏. 苦参碱及其衍生物抗肝纤维化效应 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(12): 3248-3250.  
Li Y L, Zhang H H. Anti-hepatic fibrosis effects of matrine and its derivatives [J]. Chin J Gerontol, 2015, 35 (12): 3248-3250.
- [39] 陈伟忠, 朱梁, 张兴容, 等. 苦参碱对大鼠肝星状细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2000, 19 (5): 410-413.  
Chen W Z, Zhu L, Zhang X R, et al. Effect of matrine on experiment rat liver fibrosis [J]. Chin J New Drugs Clin, 2000, 19(5): 410-413.
- [40] 孙墨晗. 当归阿魏酸对肝纤维化中肝星状细胞增殖的抑制作用及对 JAK2、STAT3 表达的影响 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2022.  
Sun M H. The inhibitory effect of angelica ferulic acid on the proliferation of hepatic stellate cells in liver fibrosis and its effect on the expression of JAK2 and STAT3 [D]. Lanzhou: Gansu University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- [41] 缪旋, 詹琪, 聂玉强. 上调核受体 Nur77 抑制 IL6 介导的肝再生早期肝细胞增殖 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25(6): 703-710.  
Miao X, Zhan Q, Nie Y Q. Upregulation of Nur77 inhibits IL6 mediated proliferation of hepatocytes in the early stage of liver regeneration [J]. Mod Dig Interv, 2020, 25(6): 703-710.
- [42] 陈文林, 梁芳, 张云城, 等. 正肝化癉方联合恩替卡韦治疗乙肝肝纤维化疗效及对 IL-6、TNF- $\alpha$  的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(8): 209-212.  
Chen W L, Liang F, Zhang Y C, et al. Effect of Zhenggan Huayu Decoction (正肝化癉方) combined with entecavir on hepatitis B fibrosis and its effect on IL-6 and TNF-A [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2022, 40(8): 209-212.
- [43] 李郁茹, 赵亚芳, 程国良, 等. 荆防颗粒对 CCl<sub>4</sub> 诱导小鼠肝纤维化的治疗作用及其机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(22): 6127-6136.  
Li Y R, Zhao Y F, Cheng G L, et al. Therapeutic effect of Jingfang Granules on CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in mice and its mechanism [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47 (22): 6127-6136.
- [44] 牛艳邦, 王晓玲, 陈晨, 等. 二甲双胍抑制 PI3K-AKT-mTOR 信号通路对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤的影响 [J]. 中国生物制品学杂志, 2021, 34(9): 1062-1068, 1075.  
Niu Y B, Wang X L, Chen C, et al. Effect of inhibition of PI3K-AKT-mTOR signaling pathway by metformin on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Chin J Biol, 2021, 34(9): 1062-1068, 1075.
- [45] 余强, 郭传勇. 大豆异黄酮药理作用及其临床应用 [J]. 世界临床药物, 2018, 39(9): 643-646.  
Yu Q, Guo C Y. Pharmacological effects and clinical applications of soy isoflavones [J]. World Clin Drugs, 2018, 39(9): 643-646.
- [46] 时磊, 刘绍能, 李敏, 等. 芪术颗粒对大鼠肝纤维化形成过程中 VEGF 表达的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(36): 3675-3678.  
Shi L, Liu S N, Li M, et al. Qizhu Granules downregulate the expression of vascular endothelial growth factor in carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats [J]. World Chin J Dig, 2009, 17(36): 3675-3678.
- [47] 周佳林, 饶颖, 刘翔, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨黄芪-丹参药对治疗肝纤维化的作用机制 [J/OL]. 中国新药与临床杂志, 2023: 1-13. (2023-04-14). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1746.R.20230413.1845.002.html>.  
Zhou J L, Rao Y, Liu X, et al. Mechanism of *Astragalus membranaceus-Salvia miltiorrhiza* on treatment of hepatic fibrosis based on network pharmacology and experimental verification [J/OL]. Chin J N Drugs Clin Remedies, 2023: 1-13. (2023-04-14). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1746.R.20230413.1845.002.html>.
- [48] Geng X X, Yang Q, Xie R J, et al. Effect of Danshao Huaxian capsule on the expression of collagen I, III, and caspase-3 in hepatic fibrosis rats [J]. Chin J Integr Med, 2004, 10(4): 289-295.
- [49] 李天星, 张家明, 徐晨曦, 等. 基于网络药理学探讨复方鳖甲软肝片治疗华支睾吸虫感染所致肝纤维化的机制 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2023, 41(4): 510-515.  
Li T X, Zhang J M, Xu C X, et al. Mechanism of a Chinese patent medicine in the treatment of liver fibrosis caused by infection of *Clonorchis sinensis* based on network pharmacology [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2023, 41(4): 510-515.

[责任编辑 刘东博]